

(千葉大学審査学位論文)

UV 照射および低温処理による

アカジソ生理活性物質の高効率生産に関する研究

平成 30 年 1 月提出

千葉大学大学院園芸学研究科
環境園芸学専攻生物資源科学コース

小川 瑛利子

UV 照射および低温処理による

アカジソ生理活性物質の高効率生産に関する研究

目次

第 1 章 序論.....	6
1.1 研究の背景.....	6
1.1.1 国内の生薬原料の需要と供給.....	6
1.1.2 薬用植物の栽培.....	7
1.1.3 アカジソについて.....	7
1.1.3.1 用途と需要.....	7
1.1.3.2 主要な生理活性物質.....	8
1.2 既往の研究.....	14
1.2.1 環境条件がアカジソの生育および生理活性物質に及ぼす影響.....	14
1.2.2 環境ストレス付与による生理活性物質の高含有化.....	14
1.2.3 アカジソの栽培について.....	16
1.3 本研究の目的と論文の構成.....	19
第 2 章 生理活性物質の経日変化.....	20
2.1 緒言.....	20
2.2 材料および方法.....	22
2.2.1 供試材料および栽培方法.....	22
2.2.2 調査対象葉.....	22
2.2.3 トリコーム数および体積の調査.....	22
2.2.4 生理活性物質の分析.....	23
2.3 結果.....	26
2.3.1 生育.....	26
2.3.2 トリコーム.....	26
2.3.3 生理活性物質.....	26
2.4 考察.....	33

2.5 第 2 章のまとめ.....	36
第 3 章 UV が生育および生理活性物質に及ぼす影響	37
3.1 緒言	37
3.2 【試験 3-1】 短期的な UV 照射時期	39
3.2.1 目的.....	39
3.2.2 材料および方法.....	39
3.2.2.1 供試材料および栽培方法.....	39
3.2.2.2 処理区.....	39
3.2.2.3 測定および算定項目	40
3.2.2.4 統計解析	40
3.2.3 結果.....	42
3.2.3.1 生育.....	42
3.2.3.2 トリコーム数.....	42
3.2.3.2 生理活性物質	42
3.2.4 考察.....	50
3.3 【試験 3-2】 長期的な UV 照射	54
3.3.1 目的.....	54
3.3.2 材料および方法.....	54
3.3.2.2 処理区.....	55
3.3.2.3 測定および算定項目	55
3.3.3 結果.....	56
3.3.3.1 生育.....	56
3.3.3.2 生理活性物質	56
3.3.4 考察.....	62
3.4 UV 照射を用いた栽培での生理活性物質生産に必要な消費電力量の試算.....	64
3.4.1 目的.....	64
3.4.2 材料および方法.....	65
3.4.2.1 栽培施設	65
3.4.2.2 収穫方法	66
3.4.2.3 温室 1 棟の年間の総消費電力量.....	66

3.4.2.4 生理活性物質の収量および生産に必要な消費電力量.....	68
3.4.3 結果.....	72
3.4.4 考察.....	74
3.5 第3章のまとめ.....	75
第4章 低培養液温が生育および生理活性物質に及ぼす影響.....	76
4.1 緒言.....	76
4.2 【試験4-1】培養液温.....	78
4.2.1 目的.....	78
4.2.2 材料および方法.....	78
4.2.2.1 供試植物および生育条件.....	78
4.2.2.2 処理区.....	78
4.2.2.3 生育調査.....	79
4.2.3 結果.....	80
4.2.3.1 生育.....	80
4.2.3.2 主要な生理活性物質.....	80
4.2.3.3 蒸散速度.....	81
4.2.4 考察.....	86
4.3 【試験4-2】培養液温処理の期間.....	88
4.3.1 目的.....	88
4.3.2 材料および方法.....	88
4.3.3 結果.....	89
4.3.3.1 生育.....	89
4.3.3.2 生理活性物質.....	89
4.3.4 考察.....	95
4.4 【試験4-3】低培養液温処理中の気温.....	96
4.4.1 目的.....	96
4.4.2 材料および方法.....	96
4.4.3 結果.....	99
4.4.3.1 生育.....	99
4.4.3.2 生理活性物質.....	99

4.4.3.3 蒸散速度および吸水速度.....	100
4.4.4 考察.....	107
4.5 低培養液温処理を用いた栽培での生理活性物質生産に必要な消費電力量の試算	110
4.5.1 目的.....	110
4.5.2 材料および方法.....	111
4.5.2.1 栽培施設、栽培方法および収穫方法.....	111
4.5.2.2 低培養液温処理の消費電力量(W_{LT})の試算.....	111
4.5.3 結果.....	117
4.5.4 考察.....	120
4.6 第4章のまとめ.....	121
第5章 総括.....	123
5.1 本論文の摘要.....	123
5.2 今後の課題および展望.....	126
引用文献.....	127
謝辞.....	142
付録.....	143
1. UV 波長が食用アカジソの生育および生理活性物質濃度に及ぼす影響.....	143
1.1 目的.....	143
1.2 材料および方法.....	143
1.3 結果.....	146
1.3.1 生育・外観.....	146
1.3.2 生理活性物質.....	146
1.4 考察.....	151
2. 気温が食用アカジソの生育および生理活性物質濃度に及ぼす影響.....	153
2.1 目的.....	153
2.2 材料および方法.....	153
2.2.1 供試材料および栽培方法.....	153
2.2.2 処理区.....	153

2.2.3 測定および算定項目	153
2.3 結果	154
2.4 考察	157
3. 培養液温が食用アカジソの生育および生理活性物質濃度に及ぼす影響	158
3.1 目的	158
3.2 材料および方法	158
3.3 結果	159
3.3.1 生育	159
3.3.2 生理活性物質	159
3.4 考察	163
引用文献	164

第 1 章 序論

1.1 研究の背景

1.1.1 国内の生薬原料の需要と供給

高齢化が進む日本では医療費の増大が問題となっている。そのため、自分自身の健康に責任を持ち、軽度な身体の不調は自分で手当するセルフメディケーションの実践が推進されており、2017 年 1 月からはセルフメディケーション税制が施行された(厚生労働省, 2017)。セルフメディケーションには、漢方薬を含む OTC (over-the-counter) 医薬品(一般用医薬品および要指導医薬品)を使用することで医療機関での受診を控えること、健康維持のためにサプリメントなどの健康食品を利用すること、食生活に気を配ることが含まれる(和田ら, 2016)。これらの社会的背景を受け、近年、OTC 医薬品と漢方薬の材料となる生薬の国内生産量は増加する傾向にある(厚生労働省, 2017)。

また、日本では、高齢化によって現代医療だけでは治療し難い、生活習慣病、認知症などが増加しており、漢方薬がそれらの治療に有効であることが示されている(吉松, 2013a)。そのため、セルフメディケーションだけではなく、臨床現場においても漢方薬の使用量は増加している(日本漢方生薬製剤協会, 2017)。実際に、薬事工業生産動態統計調査(厚生労働省, 2017)によると、医療用医薬品として使用される漢方薬および生薬の生産金額は近年増加する傾向にある(Fig. 1.1)。

現在、日本国内で消費される生薬の多くは、海外からの輸入に依存している。輸入生薬の主な供給元は中国であり、2014 年には日本で使用された生薬原料の約 80%が中国からの輸入品であった(日本漢方生薬製剤協会, 2017)。近年、中国では野生植物の乱獲による自然破壊を防止することを目的として開始されたカンゾウとマオウの採取および輸出制限や、政府による生薬原料の投機的買占め、生産者の高齢化による人員不足および人件費の高騰などにより生薬原料の値段が高騰している(姜, 2011)。さらに、中国国内の需要および欧米への輸出量も増加しており、生薬資源の枯渇が危惧されている(末岡, 2012)。そのため、中国から日本への永続的な薬用植物の輸入は困難であると考えられている。

現在、日本では薬用植物の需要を十分に満たすために、薬用植物の国内栽培の促進が強く求められている。しかし、国内栽培では栽培面積の確保や栽培品目の拡大、農業人口の減少・高齢化による人員不足の改善、栽培コストの調整、効率的な栽培法の開発などが課題とされている(武田, 2012)。

1.1.2 薬用植物の栽培

漢方薬の多くは複数の生薬を組み合わせて構成されているため、生薬の一つでも欠けると製造ができない。よって、安定して多品目の生薬を供給することが必要となる。さらに、生薬および生薬製剤、漢方製剤は医薬品として取り扱われるため、薬価基準および品質基準を常に満たす必要がある(指田, 2001)。

一般に、薬用植物に含まれる生理活性物質の構成や濃度は、遺伝的背景、生育環境、収穫時期、加工および保存方法などの要因に大きな影響を受ける(Yoshimatsu, 2012)。そのため、基準を満たし、かつ一定の品質を得るためには、栽培植物に適した環境に保つ必要があると考えられる。さらに、生理活性物質の濃度は乾燥と保存の両過程で低下するため、収穫時に濃度の高い植物体を収穫することが求められる。また、多くの薬用植物では、土耕では連作障害や病害虫が問題になるにもかかわらず、登録農薬は少ない。

このような背景を受け、植物工場における薬用植物の栽培は、1) 自然環境の影響を受けずに安定的な生産が可能、2) 植物種が明確で品質が安定した薬用植物の供給が可能、3) 農薬、土壌汚染や人為的環境かく乱を回避できる、4) 人手がかからない、5) 短期間で収穫可能、6) 野外・水耕栽培に適した優良品種の選抜・育成が短期間で可能、という利点があり、生薬の安全・安心な安定供給に有効である(吉松・乾, 2013)。さらに、植物工場では高度な環境制御を行うことができるため、生理活性物質の濃度を制御することで、用途に合わせた品質の薬用植物を生産することができる。このため、植物工場は薬用植物の栽培の場としての利用が期待されている。

1.1.3 アカジソについて

1.1.3.1 用途と需要

医療用医薬品、OTC 医薬品、サプリメントの材料となる薬用植物のひとつにアカジソ(*Perilla frutescens* L.)がある。アカジソは、シソ科の一年生植物で、古くから薬用の他に、食用または着色に使用されている。アカジソの乾燥葉は、生薬‘ソヨウ’として第 17 改正日本薬局方に登録されている。‘ソヨウ’には、胃、不安神経症、喘息および気管支炎の治療効果や、抗アレルギー作用があり、漢方における配合処方としては香蘇散、柴朴湯、参蘇飲、神秘湯、半夏厚朴湯、茯苓飲合半夏厚朴湯などがある(佐竹ら, 2011)。

2008 年から行われている日本漢方生薬製剤協会の調査(日本生薬漢方製剤協会, 2017)によると、近年、国内の‘ソヨウ’の消費量は増加傾向にある(Fig. 1.2)。また、国立研究開発

法人医薬基盤・健康・栄養研究所で運用している「薬用植物総合情報データベース」および「健康食品」の安全性・有効性情報」に共通して存在する 57 素材について大手健康関連商品オンラインショップにおける健康食品の実態調査を行った結果、製品数で比較すると‘ソヨウ’は 9 位であり(竹林, 2017)、サプリメントを含む健康食品としても使用頻度が高い薬用植物である。

1.1.3.2 主要な生理活性物質

日本のシソは、*Perilla frutescens* L.、*P. citriodora* L.、*P. hirtella* L.、*P. setoyensis* L.の 4 種に分類され、それぞれ独自のモノテルペンまたはフェニルプロパノイドを主成分とする精油を含有している(Sato-Masumoto and Ito, 2014)。日本国内で主に栽培品種として用いられているのは、食用、薬用とも主成分としてモノテルペンを含有する *Perilla frutescens* L.で、主要な構成成分によって C (Citral) 型、EK (Elsholtziaketone) 型、PA (Perillaldehyde) 型、PK (Perillaketone) 型、PL (Perillene) 型、PT (Piperitenone) 型、SF (Shisoflan) 型に分類されている(Tabata, 1997)。また、*Perilla frutescens* L.は、表皮細胞の液胞にアントシアニンを蓄積させるアカジソと、蓄積させないアオジソが存在し(山崎, 2002)、薬用としては PA 型のアカジソが用いられる。

‘ソヨウ’の主要な生理活性物質はペリラルデヒド(perillaldehyde: 以下 PA と略す)およびアントシアニン(anthocyanin: 以下 ANT と略す)であるシソニンである(Fig. 1.3)。PA は香り成分で、中枢神経抑制作用(Sugaya et al., 1981)、抗うつ作用(Ito et al., 2008)、血管拡張作用(Takagi et al., 2005)、抗菌作用(小田ら, 1982a; 小田ら, 1982b)を持つ。ANT はアカジソ葉に大量に含まれている赤色色素であり、抗酸化能を持つ。また、第 17 改正日本薬局方では、‘ソヨウ’の PA 濃度は乾燥重量あたり 0.08%以上であること、葉の両面または裏側が赤色であることが規定されている。薬用に用いるシソは、葉が赤色で、シソ特有の香りである PA が強いものが良品とされている(淵野ら, 2010)。このため、PA と ANT は‘ソヨウ’としての生薬の品質評価に重要な化合物である。

さらに、近年、アカジソ葉に含まれるロズマリン酸(RA) (Sanbongi et al., 2003; Sanbongi et al., 2004)とルテオリン(LU) (Inoue et al., 2002)が抗アレルギーや抗炎症作用を持つことが報告されている(Fig. 1.4)。このため、RA と LU は抗アレルギーのサプリメントに使用される際に重要な化合物として注目されている。

PA はテルペノイドであり、メバロン酸経路またはデオキシキシルローズリン酸経路で生合

成されるイソペンテニルピロリン酸から生合成される (Fig. 1.5)。また、PA は葉の背軸側の表面に存在するトリコームで生合成・蓄積される (吉田ら, 1986)。トリコームは基底細胞、分泌細胞、蓄積空洞から構成され、PA は分泌細胞で生合成され、蓄積空洞に蓄積される。PA を含む精油の含有量はトリコームの密度が高い葉ほど多いことが報告されている (吉田ら, 1987)。他方、RA はフェニルプロパノイド、LU および ANT はフラボノイドであり、いずれもシキミ酸経路で生合成されるフェニルアラニンから生合成される (Fig. 1.6)。

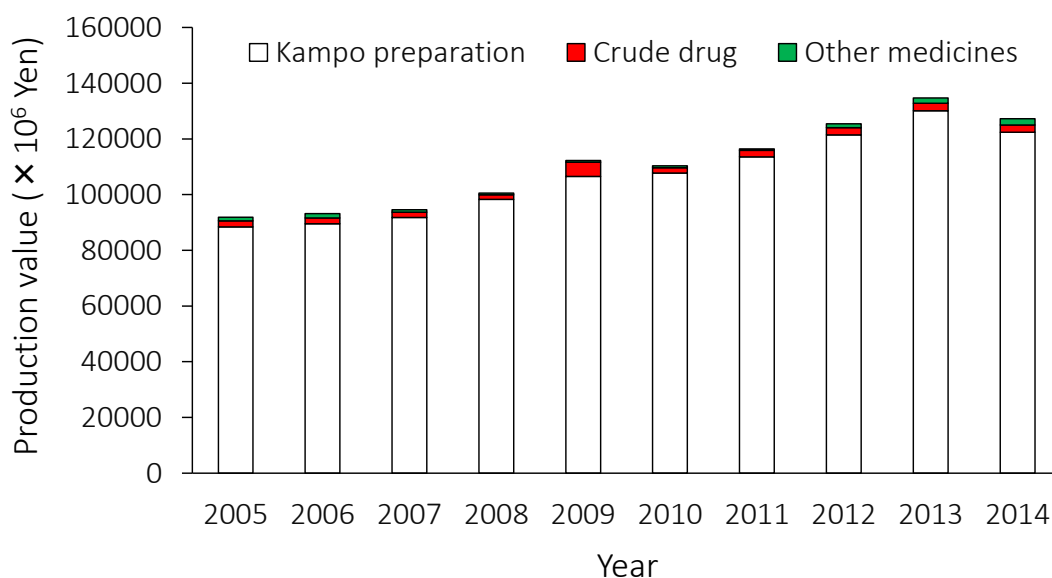


Fig. 1.1 Domestic production value of prescription drug of Kampo preparation, crude drug, and other medicines which are manufactured from a single compound in crude drug (Statistics of Production by Pharmaceutical Industry, Ministry of Health, Labour and Welfare, 2017).

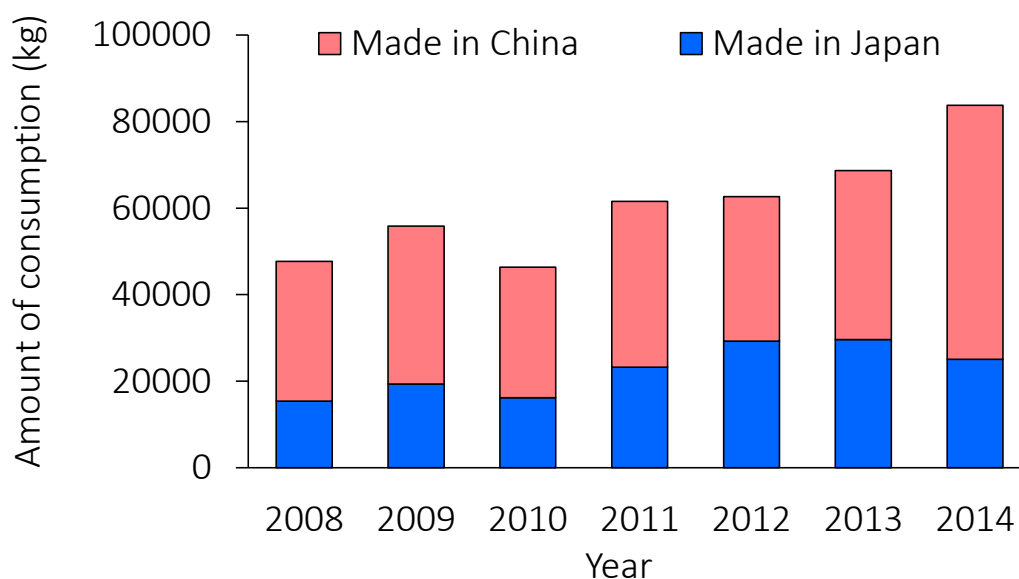
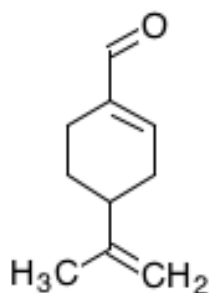
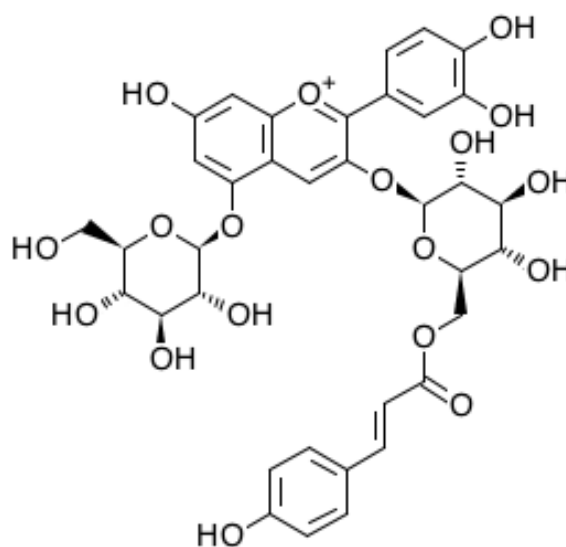


Fig. 1.2 Consumption of 'Soyo' in Japan. The red and blue columns indicate the amount of 'Soyo' produced in China, and Japan, respectively (Reports of investigation about domestic consumption of raw material for a crude drug, Japan Kampo Medicines Manufacturers Association, 2017).

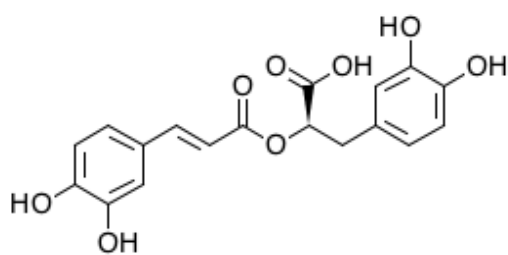


Perillaldehyde (PA)

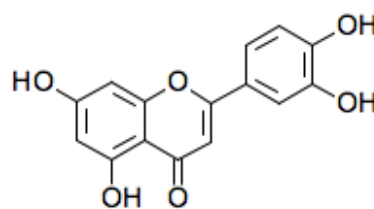


Shisonin; Anthocyanin (ANT)

Fig. 1.3 Structures of perillaldehyde (PA) and shisonin (anthocyanin (ANT)), the main bioactive compounds in 'Soyo'.



Rosmarinic acid (RA)



Luteolin (LU)

Fig. 1.4 Structures of rosmarinic acid (RA) and luteolin (LU), the main bioactive compounds in red perilla.

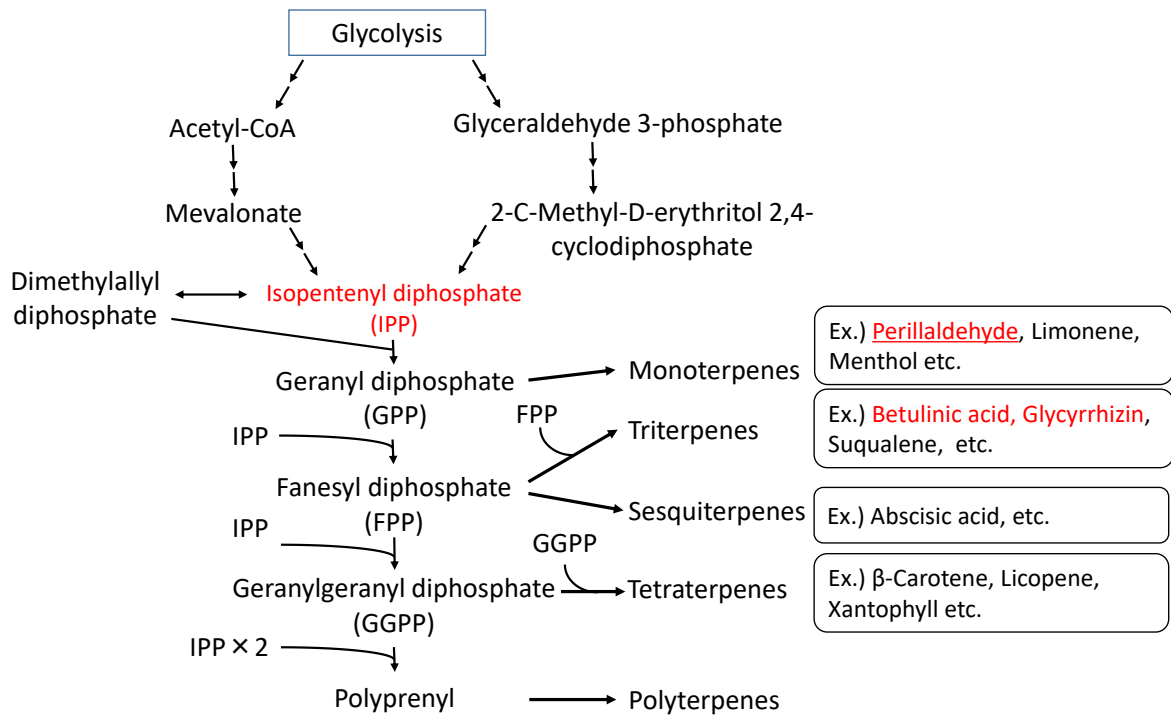


Fig. 1.5 Terpenoid backbone biosynthesis. The red letters are compounds that are mentioned in the introduction (1.1.3.2 and 1.2.2). The underlined compounds are studied in this thesis (Diagram adapted from Sakurai et al., 2008 and KEGG Pathway, 2017).

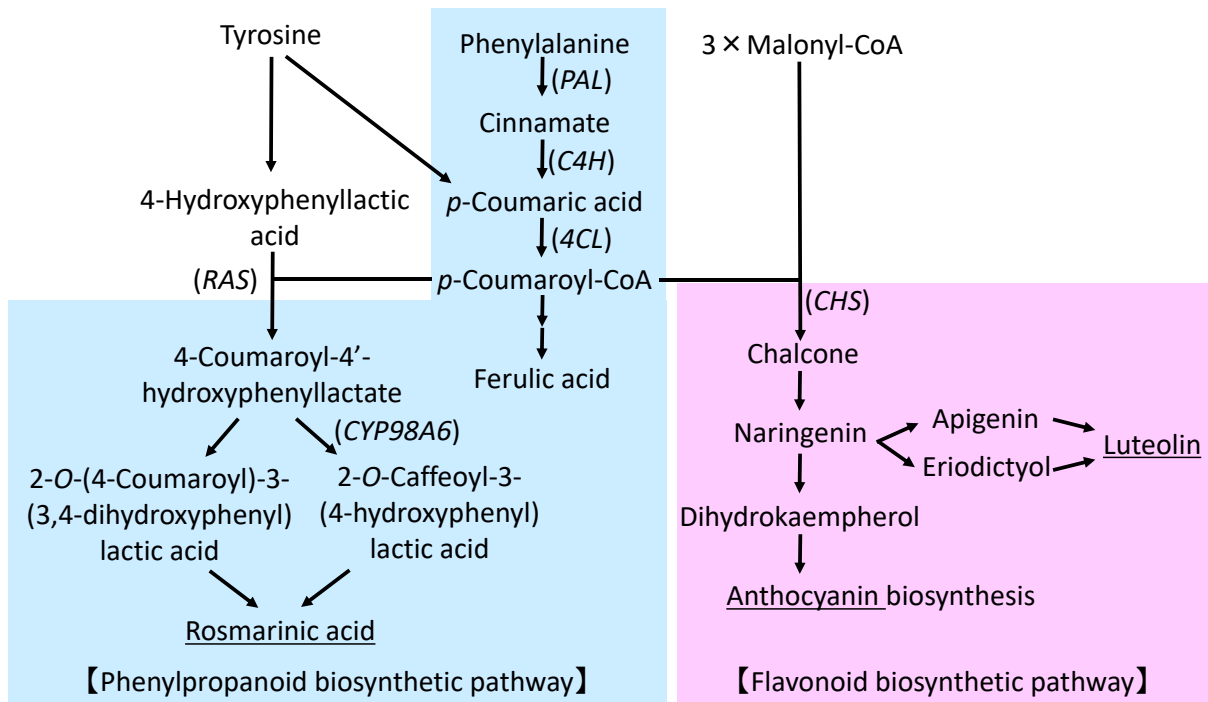


Fig. 1.6 Biosynthetic pathway of rosmarinic acid, luteolin, and anthocyanin. The genes encoding enzyme protein are italicized and parenthesized. The underlined compounds are studied in this thesis (Diagram adopted from Petersen et al., 1993 and KEGG Pathway, 2017).

1.2 既往の研究

1.2.1 環境条件がアカジソの生育および生理活性物質に及ぼす影響

本研究グループの既往の研究では、薬用アカジソを光合成有効光量子束密度 (PPFD) 50、200、400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で栽培した場合、PPFD 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で最も生育が大となったこと、PPFD が低いほど PA 濃度が、高いほど ANT 濃度が増加することを明らかにした (吉田、2008 卒論)。また、食用アカジソでは、個体群の光合成速度を光源の赤青比を変えて測定した場合、赤色光の割合が高いほど促進され (Goto et al., 2013)、栽培中の明期光源を赤色 LED または白色 LED に変えた場合、赤色 LED で白色 LED よりも生育が促進されることが明らかにされている (島野, 2016)。

生理活性物質については、栽培中の明期光源に青色蛍光灯 (FL)、緑色 FL、赤色 FL を用いて薬用アカジソを生育させた場合、成長点から数えて第 3 または第 4 節葉において赤色光の割合が高い条件ほど ANT 濃度が増加し、青色光の割合が高い条件ほど PA 濃度が増加することを明らかにした (Nishimura et al., 2009)。また、薬用アカジソに明期中 (16 h d⁻¹) に 0.21 または 0.88 W m⁻² の UV-B を 21 日間照射した場合、成長点から数えて第 3 または第 4 節葉においての PA 濃度が増加する傾向がみられたが、ANT 濃度は低下することを報告した (Nishimura et al., 2008)。その他にも、食用アカジソを温室内または人工気象室内で 7 週間生育させた場合、人工気象室 (PPFD 360 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 明期 12 h d⁻¹; 気温 23 °C) で生育した株の RA、カフェ酸、ルテオリン-7-O-グルコシドの濃度が温室 (PPFD 289 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; 明期 6.8 h d⁻¹; 気温 23 °C) で栽培した株よりもそれぞれ 7.9、6.6、20 倍になったことが報告されている (Iwai et al., 2010)。また、Lu ら (2017) は、PPFD を 100、200、300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、培養液中の電気伝導度 (EC) を 1.0–3.0 dS m⁻¹ に変え、薬用アカジソを栽培したところ、PPFD および EC が低いほど RA 濃度が増加するものの、PA および ANT 濃度は PPFD および EC に影響を受けないことを報告している。

1.2.2 環境ストレス付与による生理活性物質の高含有化

植物の生理活性物質の濃度を増加させる環境制御の 1 つに環境ストレスの付与がある。例えば、抗酸化能を持つ二次代謝物質の濃度は青色光や UV 照射など短波長の光によって増加することが多く報告されている (Jansen et al., 1998; Rozema et al., 1997)。レタスの ANT は青色光割合の多い光源での栽培 (Li and Kubota, 2009; 庄子ら, 2010) や UV 照射 (Goto et al., 2016; Tsormpatsidis et al., 2008) によって増加することが報告されている。レタスでは、フ

フラボノイド、ポリフェノール、抗酸化能についてもUV割合の多い光源での栽培で増加することが報告されている(García-Macías et al., 2007; Tsormpatsidis et al., 2010)。また、PAの生合成・蓄積の場であるトリコームについてもUVの影響を受けることが知られている。例えば、タバコでは、UV-B照射によってトリコームの形成が促進されることが報告されており(Barnes et al., 1996)、バジルではトリコームの正常な形成にはUV-Bが必要であることが報告されている(Ioannidis et al., 2002)。

さらに、植物の生理活性物質の濃度は低温でも増加することが報告されている。例えば、PAと同様にイソペンテニルピロリン酸から生合成されるテルペン化合物(Fig. 1.5)での事例として、セイヨウオトギリソウの葉のベツリン酸濃度は気温を低くすることで(de Abreu and Mazzaferia, 2005)、ウラルカンゾウの根のグリチルリチン濃度は培養液温度を低くすることで(吉野, 2013 修論)それぞれ増加することが報告されている。他の事例として、フェニルプロパノイドおよびフラボノイド生合成経路の律速段階の酵素であるPAL(フェニルアラニンアンモニアリアーゼ)およびCHS(カルコンシンターゼ)(Fig. 1.6)について、シロイヌナズナ(Leyva et al., 1995)およびトウモロコシ(Christie et al., 1994)では、低気温によってこれらの酵素をコードする遺伝子の発現量の増加がみられることが報告されている。また、トウモロコシ(Pietrini and Masacci, 1998)、ベニタデ(*Polygonum hydropiper* L.) (三浦・岩田, 1983)、レタス(Gazula et al., 2005)のANT濃度は気温を低くすることで増加することが報告されている。さらに、赤系リーフレタスでは、UV-Aを照射しながら培養液温度を気温よりも低くすることで、UV-Aのみを照射するよりもANT濃度が大きくなったことが報告されている(Voipio and Autio, 1994)。

これらの環境ストレスの付与は、短期間の処理で生理活性物質の濃度を増加させることができ、収穫直前の短期間の処理であれば生育が抑制される前に処理を終了させることができる可能性がある。しかし、環境ストレスの付与がアカジソの主要な生理活性物質の濃度や含有量に及ぼす影響については十分な調査が行われておらず、上述したアカジソの主要な生理活性物質であるPA、ANT、RA、LUが環境ストレスに対してどのような挙動を示すのかを同時に調査した例は少ない。また、これまでの研究ではPAとANT濃度を同時に増加またはANTを低下させずにPAを増加させる方法は明らかになっていない。さらに、アカジソについて節位ごとに主要な生理活性物質濃度測定と生育調査を実施した例は少なく、収穫方法を考慮して収穫部位全体の生理活性物質の濃度や含有量を増加させる条件については検討されていない。

1.2.3 アカジソの栽培について

現在、アカジソを含む薬用植物の栽培の多くは露地で行われている。しかし、1.1.2 で述べたように、薬用植物に含まれる生理活性物質の濃度や構成は、生育環境に大きく影響を受けるため、露地栽培では安定して高品質な薬用植物を生産し続けることは難しい。さらに、近年、生薬の安定供給と増加する需要への対応といった経済的な側面から栽培品の流通が増加しており、漢方および生薬製剤の品質保証において残留農薬の管理が重要な課題となっている(杉本ら, 2012)。「ソヨウ」についても第 17 改正日本薬局方において有機塩素系の殺虫剤または農薬である総 BHC(ベンゼンヘキサクロリド)と総 DDT(ジクロロジフェニルトリクロロエタン)の基準が設けられている。

他方、温室および人工光型植物工場では、光、温度、湿度、CO₂濃度、養水分などの環境要因を制御でき、安定した品質の薬用植物を計画・周期的に生産できる。さらに、温室では露地栽培よりも農薬の使用量を大幅に抑制でき、人工光型植物工場では農薬を使用せずに薬用植物の生産を行うことができる。現在、薬用植物の商業生産が温室や人工光型植物工場で行われている例はないが、一部では実用化に向けて研究開発が行われている。例えば、温室ではウラルカンゾウ(吉松, 2013b)、ミシマサイコ(藤井ら, 1994)、スイカズラ(Hikosaka et al., 2017)、人工光型植物工場ではニチニチソウ(Fukuyama et al., 2015; Fukuyama et al., 2017)、セントジョーンズワート(西村ら, 2006)などが挙げられる。

人工光植物工場に限らず、水耕や培地耕などの養液栽培(水耕・培地耕・噴霧耕)を導入している温室では、地上部だけではなく、地下部温度の制御も容易に行うことができる。また、温室での薬用植物の栽培研究では、養液栽培では、土耕栽培よりも生育が促進され、生理活性物質濃度が高いことが報告されている(南ら, 1995; 南ら, 1997; 兼子ら, 2013)。このように、養液栽培を用いることで生育を促進し、収量を増加させることができる可能性がある。

環境要因の中でも、光および温度環境は、光源や冷却・加温装置の設置などにより比較的容易に制御でき、局所的な制御が可能である。実際の商業温室では、主に花成制御や光合成促進、病害や虫害の防除を目的とした補光、冷暖房費の削減と生育促進を目的とした培地や植物の一部(主にイチゴのクラウン)の加温・冷却などが行われている。これらより、本論文で想定する生産施設は、人工光型植物工場に加え、光および温度環境ならびに養液栽培などで根域の温度を制御可能な温室と定義する。

アカジソの収穫方法の例としては、地上部全体を一斉に収穫する方法(以下、全体収穫

(Fig. 1.7 (A))と略す)と、地上部の上位節を繰り返し収穫する方法(以下、一部収穫(Fig. 1.7 (B))と略す)が挙げられる。全体収穫では継続的に播種および育苗し、収穫ごとに新しい株を定植することで、一部収穫では脇芽を伸ばし、同じ株から繰り返し収穫することで、連続収穫が可能であると考えられる。全体収穫では、株を長期間栽培せずに小型の株を繰り返し定植、収穫することも可能である。このため、全体収穫は大型の植物の栽培が難しい人工光植物工場でも適用できる。一部収穫では、収穫後も同じ株から繰り返し脇芽を伸ばして収穫するが、収穫後に光合成を行う葉が残るため、全体収穫よりも脇芽の成長が早まり、収穫の頻度を高くすることができると考えられる。アカジソの露地栽培ではいずれの収穫方法も採用されている例があるが、多くは全体収穫が用いられている。

さらに、温室および人工光型植物工場では、上述したような環境ストレスの付与によって生理活性物質の濃度を増加させることも可能である。ただし、環境ストレスはしばしば植物の生育を抑制するため、収量が低下する可能性がある。商業生産への実用化を考える場合、収量を低下させずに生理活性物質の濃度を増加させることで生理活性物質の効率的生産が達成できると考えられる。このため、環境ストレスの付与を収穫直前の短期間のみ行うなど、生育が抑制されない程度のストレス付与方法を検討する必要がある。

しかし、これまでの環境ストレス研究では、植物体の一部の濃度増加を調査しており、収穫部位全体の濃度増加を調査している例は少なく、収穫部位の生育と生理活性物質濃度への影響を総合的に評価している例は少ない。環境ストレス付与による生理活性物質の効率的生産には、生理活性物質の濃度が増加する節位を把握するだけでは不十分である可能性があり、その場合、生理活性物質の濃度が増加した部位からより効率的に生理活性物質の濃度や含有量が高い葉を収穫できる方法を選択し、それらを組み合わせる必要があると思われる。また、収穫直前のストレス処理によって生理活性物質の効率的生産を達成するには、期間あたり(例えば年間)の収量を低下させないことも重要である。例えば、想定として新しい株を繰り返し収穫する場合には処理終了時(収穫日)の生育が、同じ株から繰り返し収穫する場合には、処理終了時に加えて処理終了後の生育が大きく阻害されない方法を用いることが有効であると考えられる。

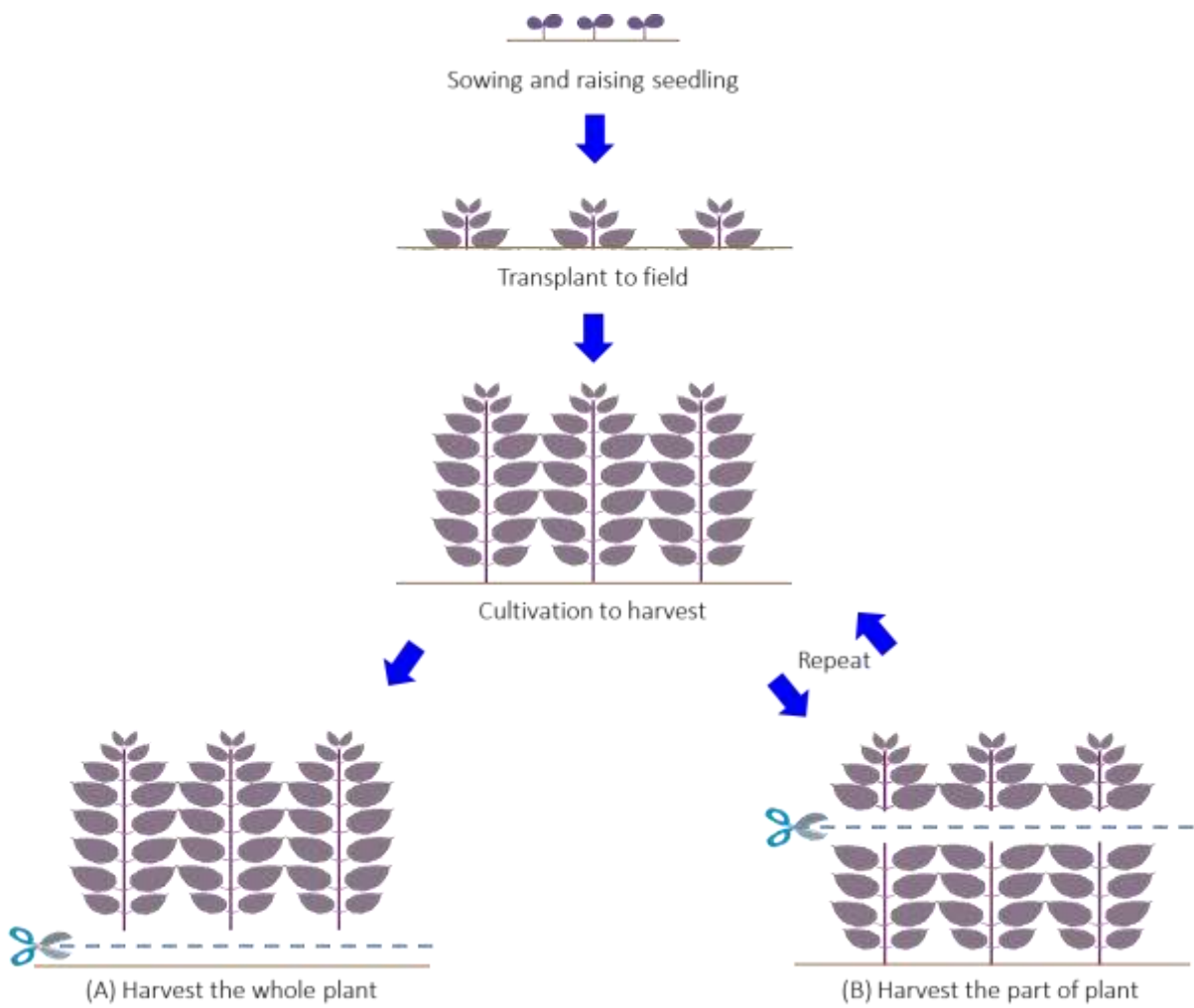


Fig. 1.7 Method adopted for harvesting of red perilla plants in greenhouses or plant factories with artificial light. (A) and (B) indicate harvest method the whole plant, and the part of plant, respectively.

1.3 本研究の目的と論文の構成

本論文では、温室および人工光型植物工場で利用が可能なUV照射および低温処理を用いたアカジソの生理活性物質の効率的な生産方法を検討した。具体的には、アカジソの生育を抑制せずに収穫部位全体の主要な生理活性物質の濃度を増加させる環境条件を明らかにすることを目的として、人工気象室内でのUV照射および低温処理がアカジソの生育および主要な生理活性物質に及ぼす影響を、展開後日数や節位ごとに調査した。

本論文は5章からなる。第1章では、本研究の背景、目的および構成について述べた。第2章では、アカジソの個葉の展開開始からの主要な生理活性物質の濃度および含有量の経日変化と、PAと関連すると考えられるトリコームの形成時期を調査することで、それぞれの生理活性物質の展開後日数に伴う濃度変化、生合成やトリコームの形成が活発に行われている時期を明らかにした。第3章では、第2章で明らかとなったPAの生合成時期およびトリコームの形成時期を参考にして、展開日数が異なる葉への短期的または長期的なUV照射が個葉の生育および主要な生理活性物質の濃度に及ぼす影響を明らかにした。第4章では養液栽培で制御可能な培養液温度、および気温が生育および主要な生理活性物質の濃度に及ぼす影響を明らかにした。最後に、第5章では本研究の総括を行い、アカジソの生理活性物質を効率的に増加させる環境ストレス付与方法を検討した。

第2章 生理活性物質の経日変化

2.1 緒言

アカジソの主要な生理活性物質のひとつである PA の濃度は、葉の展開開始から乾物重の増加に伴い経日的に低下し、ANT については、展開開始後日数によらず一定の濃度を示すことが報告されている(吉田、2009 卒論)。これは、PA と ANT で生合成・蓄積が盛んに行われる時期が異なることを示唆している。

PA は葉裏面にあるトリコーム(Fig. 2.1)で生合成・蓄積され(吉田ら、1968)、葉の裏面のトリコーム密度が高いほど PA を含む精油含有量が多い(吉田ら、1969)。トリコームとは、植物体の表皮細胞の一部で、ある特定の二次代謝成分を蓄積する分泌型と蓄積させない非分泌型に分類される(Werker, 2000)。分泌型のトリコームは、基底細胞、分泌細胞、貯蔵空間から成り、分泌細胞で生合成された成分は貯蔵空間に蓄積される(Fig. 2.2) (Fahn, 2000)。トリコームの形成時期についてはアカジソ個葉では不明であるものの、ニガヨモギでは葉の展開開始初期で完了しており(Ascensão and Pais, 1987)、アサおよびミントでは葉の完全展開まで続く(Maffei et al., 1989; Turner et al., 1980)と報告されている。このため、展開開始後の経日的な PA 濃度の低下の理由としては、PA の生合成または分解速度の低下または増加、トリコームの老化や破裂による蓄積場所の消失、葉の展開開始後に伴うトリコーム密度の低下などが考えられる。

他方、ANT については、表皮細胞で生合成・蓄積されることが知られている(Saito and Yamazaki, 2002)。表皮細胞の体積は、葉の展開によって増加することが予想されるため、PA よりも生合成・蓄積の場に制限が少ないと考えられる。このため ANT は、展開中に継続して生合成が行われることで、展開開始後日数によらず一定濃度となると考えられる。

RA および LU については、蓄積場所が不明であるため、PA や ANT とは異なる挙動を示す可能性がある。しかし、RA および LU については、測定に用いる葉の大きさまたは展開開始からの日数を揃えて濃度および含有量を調査した例はない。このため、これらの生理活性物質が展開開始後に経日的に変化するかは不明であり、生合成や蓄積が盛んに行われる時期についても不明である。

本章では、人工環境下において、アカジソの主要な生理活性物質の濃度、個葉あたりの含有量、トリコーム数の経日変化を調査した。その結果から、それぞれの成分の生合成時期およびトリコームの形成時期を確認し、第3章以降の UV 照射や低温処理の処理区設定や調査対象葉の決定に必要な基礎的知見を得ることを目的とした。

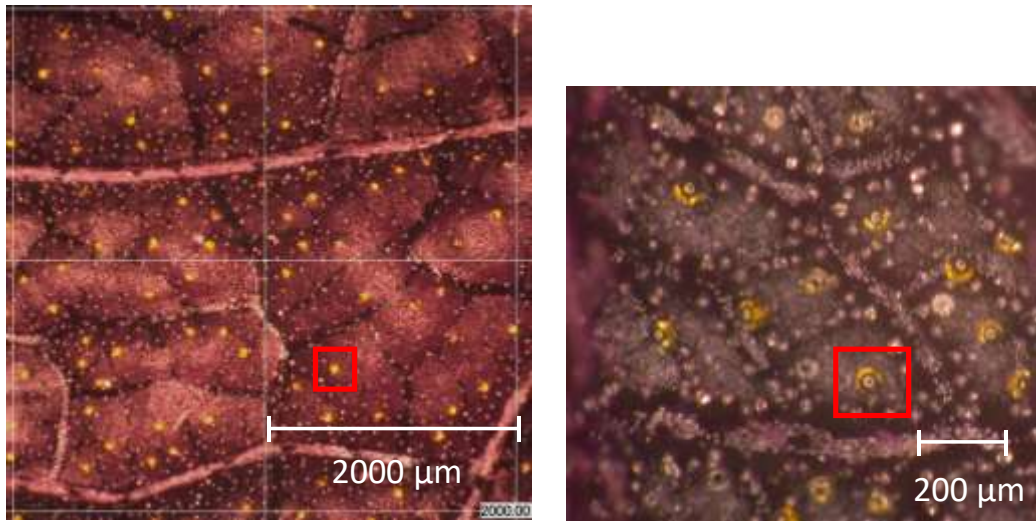


Fig. 2.1 Glandular trichomes present on the adaxial leaf surface of red perilla. Glandular trichomes including perillaldehyde appear as yellow circles (red square).

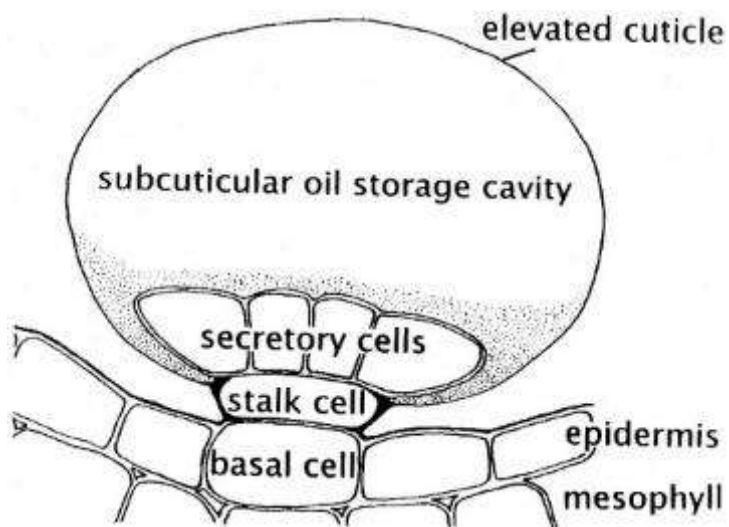


Fig. 2.2 Structure of glandular trichome (adopted from Fahn, 2000).

2.2 材料および方法

2.2.1 供試材料および栽培方法

供試材料は、(独)医薬基盤研究所から分譲を受けたチリメンアカジソ (*Perilla frutescens* L. Britton var. *acuta* Kudo f. *crispa* Makino, 登録番号: 0657-79T) とした。種子を 24 h 水道水に浸漬させ、十分に給水させたウレタンスポンジに播種した。播種面に湿らせた紙タオルおよびラップを被せ、発芽まで 7 日間保湿した。播種後 21 日目に湛液水耕装置 (容量 13.6 L (54.4×38.4×6.5 cm)) に 56 株ずつ移植し、エアポンプを用いてエアレーションを行った (Fig. 2.3 (a) and (b))。明期光源には白色蛍光灯 (FHF32-EX-N-H, パナソニック(株)) を用い、環境条件は Table 2.1 のように設定した。培養液には、OAT ハウス A 処方 1/4 単位 (OAT アグリオ(株)) を用い、コンテナに 10 L 注入し、2 日おきに追液した。培養液の全量更新は 2 週間ごとに行った。

2.2.2 調査対象葉

アカジソ葉は、対生のため 1 節には 2 葉が含まれる。このため、本研究では葉位を節番号で表記した (Fig. 2.3 (c))。さらに、節番号は主枝の基部から数えた。また、本研究では葉身長が 1 cm に達した時点を開発 0 日として展開開始後日数を数えた。

アカジソ基部から第 1、2 節葉の完全展開時の葉面積および乾物重は、第 3 節葉以上の葉と比較して 1/4–1/20 程度であった。また、第 4 節葉期までは、第 5 節葉以降の葉よりも乾物重の増加が緩やかであったため、植物体が十分に成長した後に出葉する葉での生育や生理活性物質濃度の結果と異なると考えられた。このため、完全展開時の乾物重が安定しており、ある程度成熟した植物体から得られる第 5 節葉を調査対象とし、展開開始 (葉長が 1 cm 到達時) から 15 日間、展開開始後日数を揃えて生体重、乾物重、葉面積、比葉面積、トリコーム数、トリコーム体積、生理活性物質の濃度および含有量を調査した。なお、調査には調査開始時に播種後日数が 42–45 日の株を用いた。

2.2.3 トリコーム数および体積の調査

トリコームの調査として、葉の裏側をデジタルマイクロスコープ (VHX-500, KEYENCE(株)) を用いて倍率 50 倍で観察し、1 葉につき 1–10 枚 (展開開始後 0–3 日: 1 枚、展開開始後 6–9 日: 5 枚、展開開始後 12–20 日: 10 枚) 撮影した。得られた画像上でランダムに 4 mm² の範囲を 4 区域選択し、画像解析ソフト Image J (U.S. National Institutes of Health) を用いて

葉面積あたりのトリコームの数(トリコーム密度)、各トリコームの大きさ(トリコーム面積)を測定した。また、トリコーム密度に葉 1 枚あたりの葉面積を乗じて葉 1 枚あたりのトリコーム数を算出した。さらに、トリコームの蓄積空洞(Fig. 2.2)を球型と仮定し、トリコーム面積から 1 個あたりのトリコーム推定体積を算出した。加えて、各トリコームの推定体積に葉 1 枚あたりのトリコーム数を乗じて、葉 1 枚あたりのトリコーム推定総体積を算出した。

2.2.4 生理活性物質の分析

ペリラルデヒド(PA)、ロズマリン酸(RA)、ルテオリン(LU)の分析

PA、RA、LUの抽出方法は、第17改正日本薬局方のソヨウのPAの定量法の抽出工程を参考にした。ただし、抽出回数を3回から2回に減らし、抽出工程に30 minの超音波抽出を追加した。

粉砕した試料を2 mL容のマイクロチューブに0.05–0.10 g測り取り、1 mLのメタノールを加えた。その後30 min、超音波洗浄機(ASU-2, output: 40 W, アズワン(株))内で超音波抽出した。超音波抽出後、微量高速冷却遠心機(MX-305, (株)トミー精工)で遠心分離し(10 min, 4 °C, 20,000 g)、上清を分収した。さらに残渣に0.5 mLメタノールを加えて、同様に抽出、遠心分離を繰り返した。両上清をあわせて2 mL容のマイクロチューブに回収し、遠心分離し(30 min, 4 °C, 20,000 g)、上清をシリンジフィルター(13HP020AN, 孔径: 0.20 µm, 東洋濾紙(株))で濾過し、測定試料とした。

分析には超高速液体クロマトグラフ(UHPLC, Nexera, (株)島津製作所)を用いた。UHPLCでの分析条件は、ミント類の数種のポリフェノールを測定しているKrzyzanowskaら(2011)の分析方法を参考にした。ただし、分析時間を7.5 minから10 minに延長した。検出器としてPDA検出器(SPD-M20A, (株)島津製作所)を用いた。分析カラムとしてUPLC BEH C18カラム(φ1.7 µm, 2.1×50 mm, Waters Corp.)を用い、カラムオーブンは50 °C、流速は0.4 mL min⁻¹に設定した。移動相には、0.5%ギ酸(A液)と0.5%ギ酸-アセトニトリル:水(4:6)(B液)を用い、総分析時間は10 minとして、以下のグラジエント条件で分析を行った: 0 (80% A); 5.1 min (50% A); 6.0 min (0% A); 9.0 min (0% A); 10.0 min (80% A)。検出波長はPA、RA、LUで、それぞれ230、327、347 nmとした。それぞれの生理活性物質のリテンションタイムは、PAが8.0 min、RAが5.7 min、LUが6.2 minであった。

定量は絶対検量線法を用いて行い、検量線の作成にはPA標準品(和光純薬工業(株))、RA標準品(和光純薬工業(株))、LU標準品(Siguma-Aldrich, Co. LLC.)をそれぞれ0.098

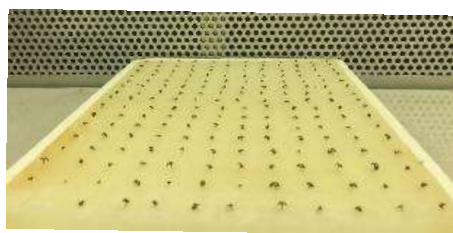
mg mL⁻¹、0.05 mg mL⁻¹、0.26 mg mL⁻¹から10段階に希釈した標準溶液を使用した。

アントシアニン(ANT)の分析

ANTの抽出および分析は、アカジソのANT濃度を測定しているGongら(1997)の方法と同一とした。粉碎した試料を0.02–0.05 g測り取り、1.5 mLの1%塩酸メタノールと共に2.0 mL容のマイクロチューブに入れ、4 °Cで48 h静置し、ANTを抽出した。その後、攪拌し、30 min程度静置し、10倍に希釈した後、分光光度計(V-550, 日本分光(株))を用いて517 nmにおける吸光度を測定した。定量は絶対検量線法を用いて行い、ANT濃度はシアニジン-3-グルコシド当量として算出した。検量線の作成にはシアニジン-3-グルコシド(C3G)標準品(フナコシ(株))を0.025 mg mL⁻¹から8段階に希釈した標準溶液を使用した。

生理活性物質の濃度計算方法

生理活性物質の絶対量が一定であっても、含水率が低下すると生体重あたりの濃度は増加する。含水率は葉の成熟度(展開開始後日数)によって変動する可能性があるため、本研究ではこれらの生理活性物質の乾物重あたりの濃度および葉1枚あたりの含有量で評価した。また、本試験では、生理活性物質の濃度は全て乾物重あたりで示し、トリコームで生合成・蓄積されるPAのみ葉面積あたりの濃度も示した。サンプルの乾物重はサンプルの生体重に同一葉の乾物率を乗じて求め、葉面積はサンプルの乾物重に同一葉の比葉面積を乗じて求めた。また、葉1枚あたりの含有量は、乾物重あたりの濃度に第5節葉の乾物重を乗じて求めた。



(a) 7 days after sowing



(b) 24 days after sowing



(c) 42 days after sowing

Fig. 2.3 The appearance of red perilla plants ((a) and (b)) during cultivation. The investigations of growth and bioactive compounds were started at 36 days after sowing (c). Node number is shown in red.

Table 2.1 Environmental conditions during the cultivation period.

Light period	16 h d ⁻¹
PPFD*	200 μmol m ⁻² s ⁻¹
Air temperature (light/dark)	25/20 ° C
CO ₂ conc.	1000 μmol mol ⁻¹
Relative humidity	70%

*PPFD: photosynthetic photon flux density provided to culture panel.

2.3 結果

2.3.1 生育

第5節葉の乾物重は展開開始後12日まで増加し、展開開始後12から15日にかけての増加は緩やかだった(Fig. 2.4 (a))。葉面積(cm^2)は展開開始後0-3日の間はほとんど増加せず、展開開始後3日から12日にかけて急激に増加し、展開開始後12から15日にかけての増加は緩やかだった(Fig. 2.4 (b))。葉の厚さの指標となる比葉面積($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)は、展開開始後3日のみ顕著に小となり、展開開始後3から12日にかけて緩やかに増加した(Fig. 2.4 (c))。

2.3.2 トリコーム

トリコーム密度(葉面積あたりのトリコーム数)は、展開開始後0日が最大となり、経日的に低下した(Fig. 2.5 (a))。葉1枚あたりのトリコーム数は、展開開始後3-6日において他の期間と比較して急激に増加し、その後は緩やかに増加した(Fig. 2.5 (b))。トリコームを球型と考えて求めた1個あたりのトリコーム推定体積は、経日的に緩やかに増加した(Fig. 2.5 (c))。葉1枚あたりのトリコーム推定総体積は、展開開始後3-9日にかけて急激に増加し、その後は緩やかに増加した(Fig. 2.5 (d))。

2.3.3 生理活性物質

ペリラルデヒド(PA)

乾物重あたりのPA濃度は、展開開始後0、3日で最大となり、その後低下した(Fig. 2.6 (a))。葉面積あたりのPA濃度は、展開開始後3日で最大となり、展開開始後3-12日において緩やかに低下し、展開開始後12-15日では同程度の値となった(Fig. 2.6 (b))。他方、葉1枚あたりのPA含有量は展開開始後12日まで増加し、展開開始後12-15日では同程度の値となった(Fig. 2.6 (c))。

ロズマリン酸(RA)

乾物重あたりのRA濃度は、展開開始後0日から6日にかけて減少し、展開開始後6日から12日にかけて急激に増加した(Fig. 2.7 (a))。RA含有量の経日変化は、乾物重と同様の傾向を示し、展開開始後12日まで増加した(Fig. 2.7 (b))。

ルテオリン(LU)

乾物重あたりの LU 濃度は、展開開始後 0 日で最大となり、展開開始後 12 日まで、乾物重の増加に伴い経日的に低下した(Fig. 2.8 (a))。LU 含有量は、展開開始後 9 日まで増加後、展開開始後 12 日で一度低下し、その後 15 日にかけて増加した(Fig. 2.8 (b))。

アントシアニン(ANT)

乾物重あたりの ANT 濃度は、展開開始後 0-9 日まで増減を繰り返し、展開開始後 12 日以降は一定の値を示した(Fig. 2.9 (a))。ANT 含有量は、乾物重の経日変化と同様の傾向を示し、展開開始後、経日的に増加した(Fig. 2.9 (c))。

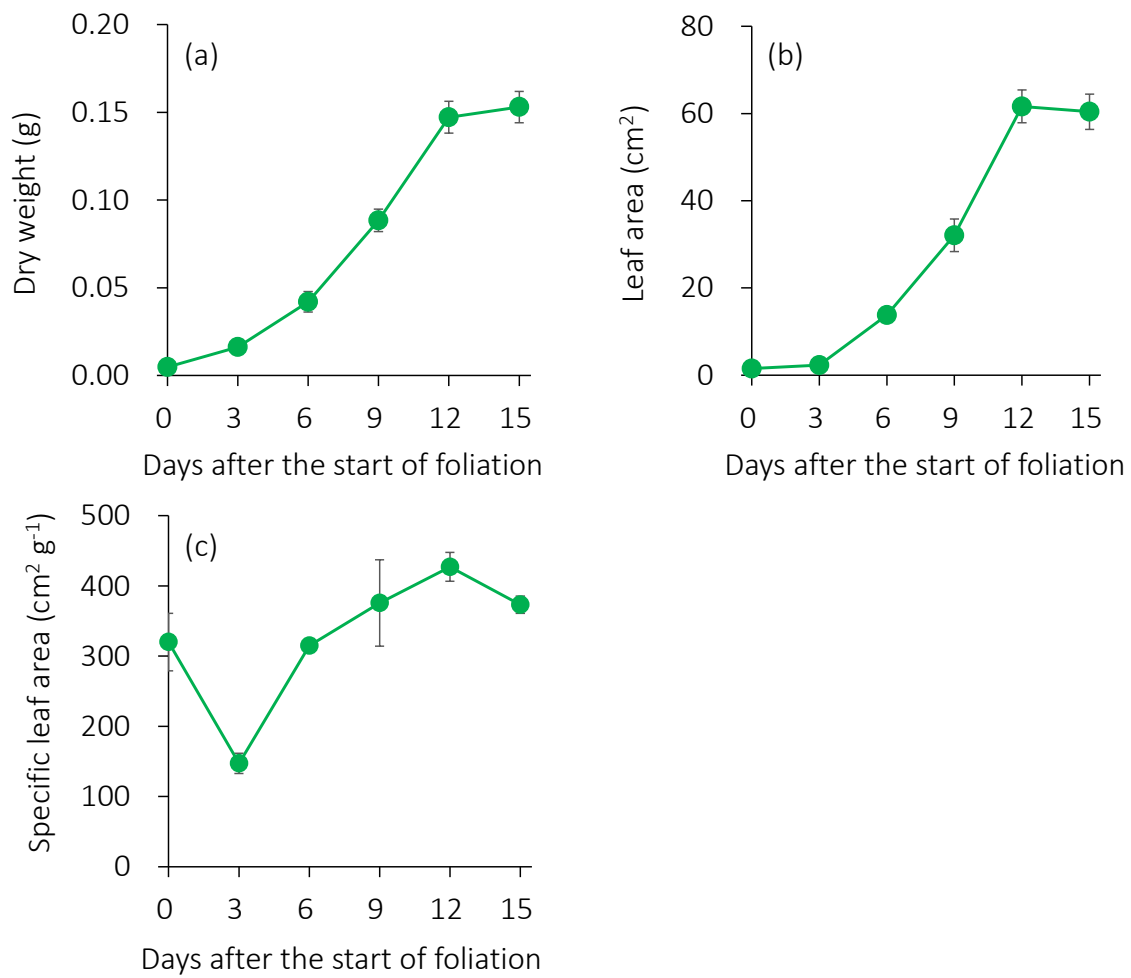


Fig. 2.4 Changes in dry weight (a), leaf area (b), and specific leaf area (c) after the start of foliation at the 5th node counted from the stem base of the main shoot of perilla plants. Vertical bars indicate SE ($n = 5$).

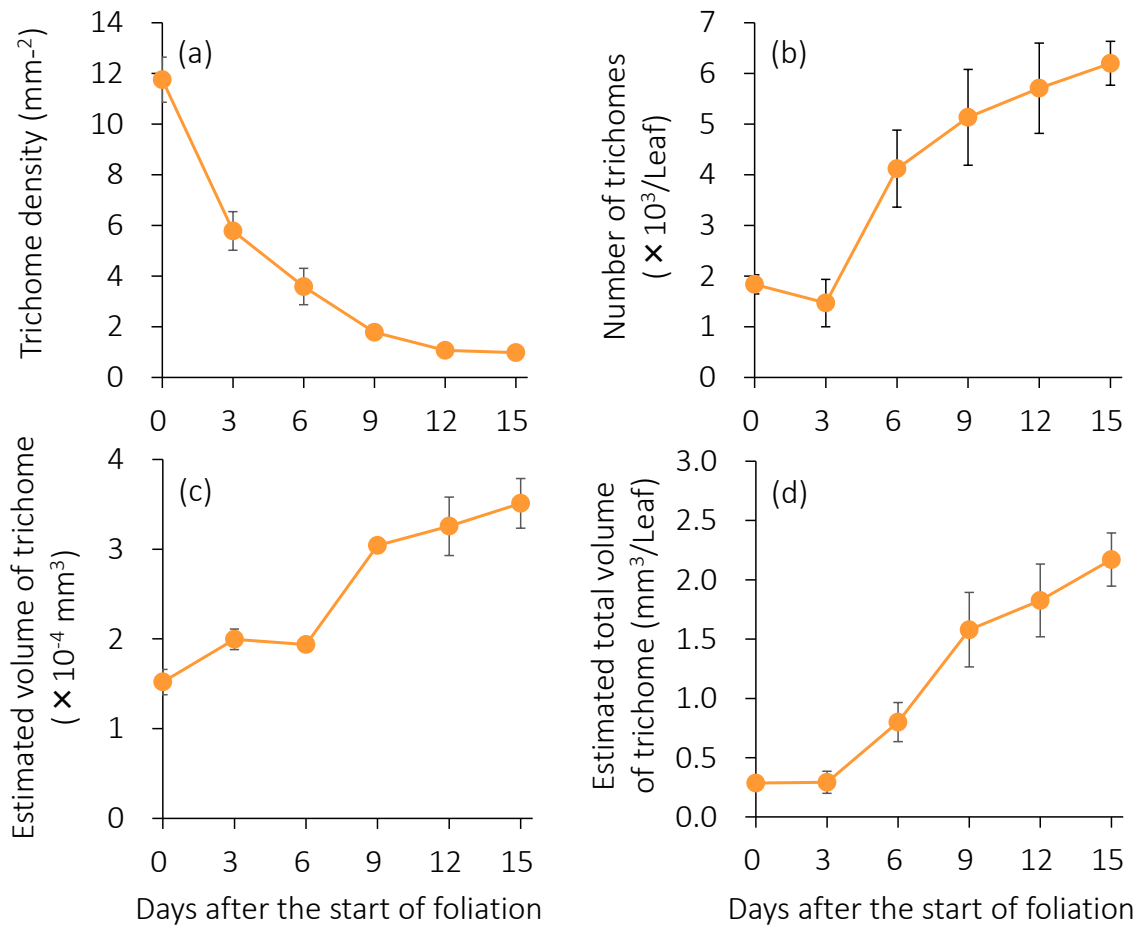


Fig. 2.5 Changes in trichome density (a), number of trichomes per leaf (b), estimated trichome volume (c), and estimated trichome total volume (d) after the start of foliation of leaf at the 5th node counted from the stem base of the main shoot of perilla plants. Trichome density is specific to the number of trichomes. Vertical bars indicate SE ($n = 5$).

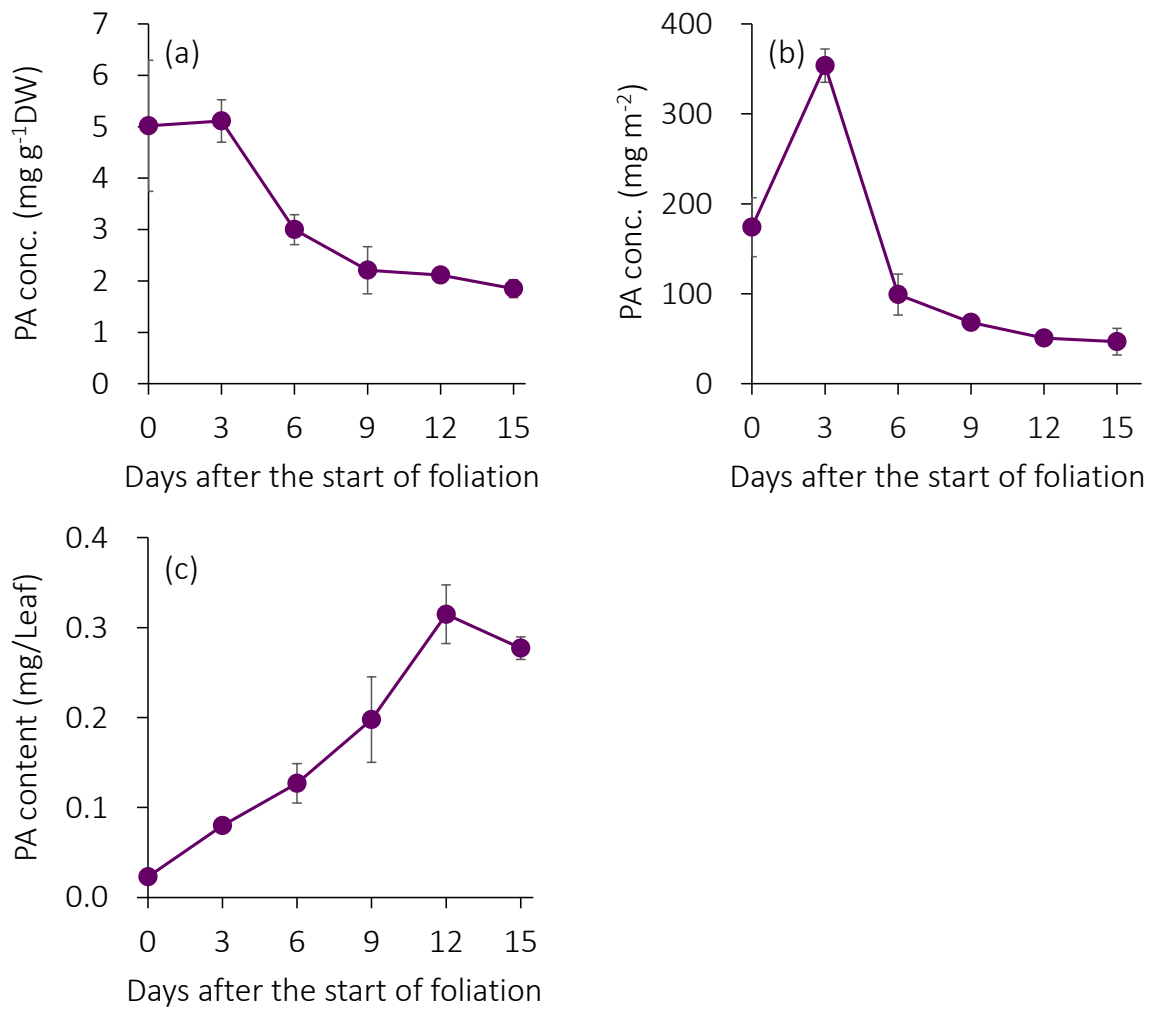


Fig. 2.6 Changes in perillaldehyde (PA) concentration (a, b) and content (c) after the start of foliation of leaf at the 5th node counted from the stem base of the main shoot of perilla plants. Vertical bars indicate SE ($n = 4-5$).

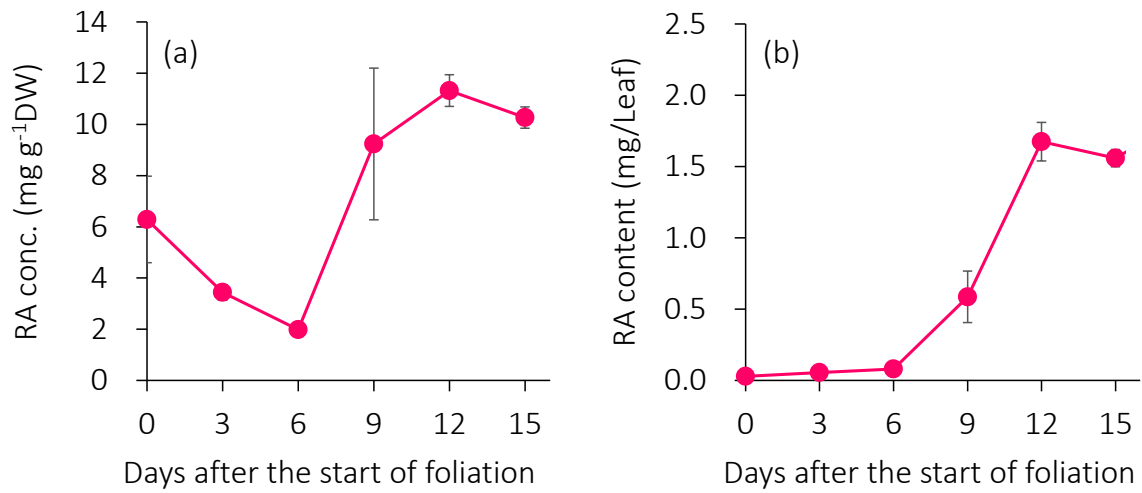


Fig. 2.7 Changes in rosmarinic acid (RA) concentration (a) and content (b) after the start of foliation at the 5th node counted from the stem base of the main shoot of perilla plants. Vertical bars indicate SE ($n = 5$).

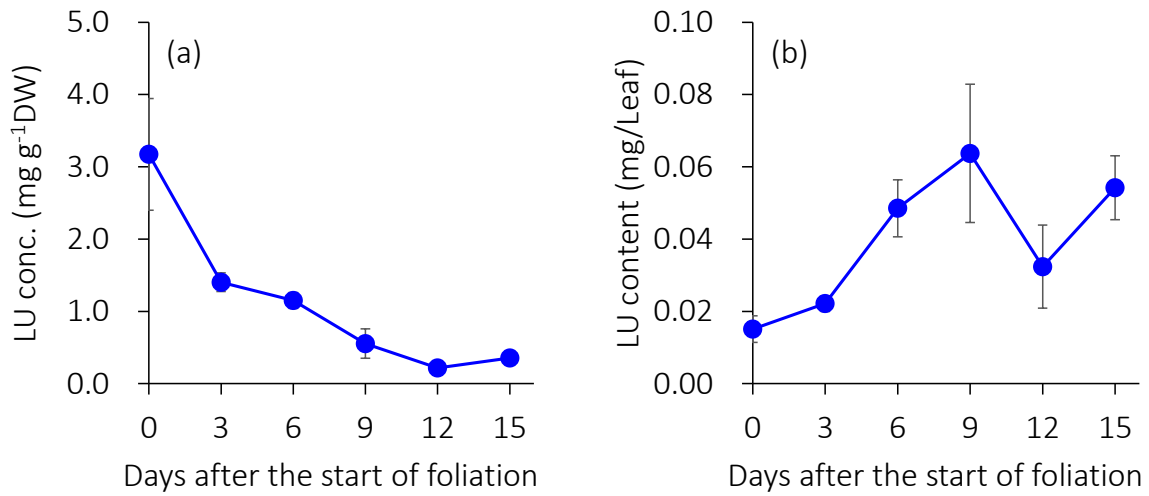


Fig. 2.8 Changes in luteolin (LU) concentration (a) and content (b) after the start of foliation at the 5th node counted from the stem base of the main shoot in perilla plants. Vertical bars indicate SE ($n = 5$).

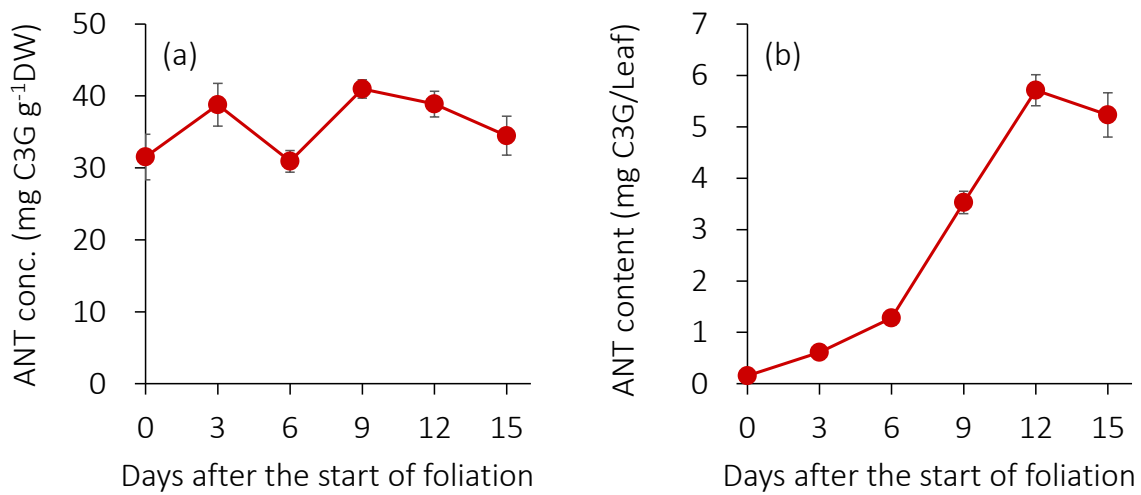


Fig. 2.9 Changes in anthocyanin (ANT) concentration (calculated as cyanidin-3-glucoside (C3G) equivalent) (a) and content (b) after the start of foliation at the 5th node counted from the stem base of the main shoot of perilla plants. Vertical bars indicate SE ($n = 5$).

2.4 考察

第5節葉の乾物重および葉面積は展開開始後12日まで増加し、展開開始後12から15日にかけての増加は緩やかとなったことから、アカジソの葉は12-15日で最大展開となると考えられた。また、比葉面積($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)は展開開始後3日から12日にかけて経日的に増加したことから、経日的に葉の厚さは、展開開始後3日以降、最大展開となる展開開始後12日にかけて薄くなることが示された。

既往の研究では、トリコームの形成時期について、ニガヨモギでは葉の展開初期で完了しており(Ascensão and Pais, 1987)、アサおよびミントでは葉の完全展開開始後まで続く(Turner et al., 1980; Maffei et al., 1989)と報告されている。本試験では、トリコーム密度が展開開始後0日以降は経日的に低下したことから、トリコームは展開初期に多く形成されていることが予想された。また、葉1枚あたりのトリコーム数は、展開開始後3-6日にかけて他の期間と比較して急激に増加し、その後は緩やかに増加した。このため、トリコーム形成は葉の展開初期に限らず展開中も継続していること、中でも展開開始後3から6日で最も活発に行われていることが示された。また、1個あたりのトリコーム推定体積が経日的に緩やかに増加した理由として、トリコーム形成後に徐々にPAなどの精油成分を蓄積しながら増加していくこと、展開初期では形成直後の小さいトリコームが多く存在することなどが考えられた。

PAは、葉の表面(主に裏面)に存在するトリコームで生合成、蓄積され(吉田ら、1968)、トリコーム密度の低下に伴い、PAを含む精油濃度は低下する(吉田ら、1989)。本試験においても乾物重あたりのPA濃度の経日変化は、トリコーム密度の経日変化と同様の傾向を示した。PA濃度が展開開始3日以降、展開日数が小さいほど大となったのは、PAの生合成および蓄積場所であるトリコームの形成が展開初期でより活発に行われていることが理由であると考えられた。葉面積あたりのPA濃度が展開開始後3日で最大となったのは、展開開始後0-3日でほとんど葉面積が拡大しなかったためと考えられた。他方、葉1枚あたりのPA含有量は展開開始後12日まで増加しており、展開中は継続的にPAの生合成、蓄積が行われていたと考えられた。このため、乾物重あたりや葉面積あたりのPA濃度が経日的に低下したのは、葉全体の乾物重、葉面積増加がPA蓄積を上回ったためと考えられた。これらの結果は、薬用アカジソ‘赤芳’を用いてPA濃度および含有量の経日変化を調査した本研究グループの既往の研究(吉田、2009 卒論)と同様の傾向であった。また、本調査結果から、葉1枚あたりのPA含有量の増加時期(展開開始後0-12日)は、葉1枚あたりのトリコーム推定総体積の増加時期と概ね一致することが明らかとなり、トリコーム数およびトリコームの

体積の増加が PA 含有量の増加につながることを示唆された。

生葉では、PA 濃度が高いものが良品とされるため、PA 濃度が高い時期に葉を収穫する必要がある。本調査の結果、乾物重あたりの PA 濃度は展開開始後 0-3 日で高く、その後減少した。しかし、展開開始後 3 日の葉では乾物重が小さいため、それよりも乾物重が大となる展開開始後 6-9 日に PA 濃度を高めて(低下を軽減して)収穫するのが望ましいと考えられた。トリコームの体積増加、PA の生合成および蓄積は完全展開後も継続したと考えられたが、トリコームの形成は展開開始後 3-6 日で活発に行われていたことから、展開開始後 6-9 日の PA 濃度を高めるためには、展開開始後 0-6 日にストレス処理を行い、トリコーム形成を誘導することや、展開中にストレス処理を行い、トリコーム内の PA の生合成を促進する手法を明らかにする必要があると考えられた。

RA は PA のようにトリコームに蓄積されないと考えられるため、トリコームの経日変化との関係はみられなかった。RA 濃度は展開開始後 0-6 日で 9 日以降よりも小となったことから、RA の蓄積量は、展開開始後 0-6 日で少なく、葉が成熟してから生合成量が増加し、展開開始後 9 日以降は一定濃度になったと考えられた。RA 濃度は展開開始後 9 日以降で大となることから、RA 濃度の高い葉を得るためには展開開始後 9 日以降に収穫するのが適当と考えられた。上述のように、PA については、展開開始後 6-9 日の濃度を高めて収穫するのが適当と考えられるため、生葉としての品質を高めるには、展開開始後 6-9 日に RA 濃度を増加させる処理を検討する必要があると考えられた。

LU についても PA のようにトリコームには蓄積されないと考えられるため、トリコームの経日変化との関係はみられなかった。乾物重あたりの LU 濃度は、展開開始後 0 日で最大となり、その後急激に低下した。LU 含有量は、展開開始後 0 から 9 日にかけて経日的に増加したことから、展開開始後 9 日までは生合成・蓄積が行われていると考えられた。しかし、展開開始後 9-15 日では低下する傾向がみられたことから、展開開始後 9 日以降は生合成が行われていない、または生合成よりも分解が多く行われることで蓄積量が低下すると考えられた。このため、LU 濃度が高い葉を得るためには、PA の場合と同様に、展開開始後の濃度低下をストレス処理により軽減することが可能か確認する必要がある。

ANT は、葉の表皮細胞で生合成、蓄積される(Saito and Yamazaki, 2002)。乾物重あたりの ANT 濃度は展開開始後ほぼ一定であり、ANT 含有量は乾物重と同様の傾向を示した。このため、ANT の生合成および蓄積は展開中継続的に行われていると考えられた。また、ANT 濃度は他の主要生理活性物質よりも展開日数による影響を受けないと考えられた。た

だし、既往の研究では環境条件の変化によって ANT 濃度が増減することが報告されている（三浦・岩田, 1983; Leyva et al., 1995; Pietrini and Massacci, 1998）ため、ストレス処理より濃度が増減する可能性がある。このため、ANT 濃度に関しては、その他の生理活性物質の濃度が増加する環境条件における変動を確認する必要があると考えられた。

2.5 第2章のまとめ

UV照射および低温処理などの環境ストレスによるトリコーム形成の誘導およびPA濃度の増加に適したストレス処理時期は、展開開始後0-6日だと考えられた。ただし、トリコーム内のPAの蓄積量が増加する可能性があるため、展開開始後6日以降のストレス処理による効果も確認する必要があると考えられた。さらに、PA濃度が増加することが示された条件が、RA、LU、ANTに及ぼす影響を調査する必要があると考えられた。

第3章 UVが生育および生理活性物質に及ぼす影響

3.1 緒言

UV照射によって濃度が増加する植物の生理活性物質には、ANTやアスコルビン酸など、高い抗酸化能を持つものが多い。例えば、赤系リーフレタスのANT濃度は、14日間UVを照射することで増加することが報告されている(海老澤ら, 2008)。このような抗酸化物質の濃度の増加には、UV照射による細胞内の活性酸素種(Reactive oxygen species: ROS)の急速な増加が引き金として関与していると考えられている。

ROSとは強い反応性で生体物質を酸化する化合物の総称で、スーパーオキシド、過酸化水素、ヒドロキシラジカル、一重項酸素、脂質ラジカルなどが含まれる。通常、ROSは植物の細胞内で種々の代謝経路の副産物として常に生成されているが、それらは同じ細胞内に存在するROS消去機構によって消去されている。植物細胞内のROS消去機構として、生体物質の酸化状態を還元状態に戻す抗酸化酵素(スーパーオキシドジスムターゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、カタラーゼなど)や、ROSに水素原子または電子を与えて還元する抗酸化物質(アスコルビン酸、トコフェロール、カロテン、フラボノイドなど)などが知られている(谷口, 遠藤, 2000)。

シロイヌナズナでは、ROSの大量発生を目的として γ 線を照射すると、抗酸化物質であるANTおよびアスコルビン酸の濃度増加(Nagata et al., 2003)に加え、葉のトリコーム発生、根細胞の伸長および根毛の分化が誘導される(Nagata et al., 1999)ことが報告されている。同論文(Nagata et al., 1999)では、メチルピオローゲン(ROS発生促進剤)の施与でも同様の反応がみられること、 γ 線照射前の抗酸化物質の施与によって上述した反応がみられなくなることから、ROSが抗酸化物質の生合成およびトリコームの形成を誘導していることを示している。さらに、既往の研究では、UV-B照射によってタバコ葉のトリコームの数が増加すること(Barnes et al., 1996)や、バジル葉のトリコーム体積が増加することが報告されている(Ioannidis et al., 2002)。本論文の第2章では、トリコームの数または体積が増加することによってトリコームで生合成および蓄積されるPAの濃度および含有量が増加することが示唆された。これらのことから、UV照射によってトリコームの形成を促進させることでPA濃度を増加させられる可能性があると考えられた。

ところで、既往の研究ではUV照射による二次代謝物質の増加量および生育抑制は、UVの照射強度や波長、照射時間帯によって異なることが報告されている。例えば、モロヘイヤでは、強度を $0.5-1.5 \text{ W m}^{-2}$ に変えたUV-Bを明期(16 h d^{-1})中のみ7日間照射した場合、

UVの強度が大きいほど(積算照射量が多いほど)クロロゲン酸の濃度が大となること(酒井, 2010 卒論)、赤系リーフレタスでは、1.0または3.5 W m⁻²のUVを明期中(16 h d⁻¹)に3日間照射した場合、光源の波長によってANT濃度の増加量が異なること(高橋ら, 2012; 林, 2014 卒論)が報告されている。さらに、ニホンハッカにUV-Bを照射した場合、メントールの濃度は照射時間帯に関わらずUVを照射しない場合よりも大となり、明期よりも暗期に照射した場合に大となることが報告されている(小川, 2014 修論)。

アカジソでは、0.21または0.88 W m⁻²のUV-Bを明期中(16 h)に21日間照射すると子葉から数えて第7-8節葉のPAおよびリモネン濃度が増加する傾向がみられ、ANT濃度が低下したことが報告されているが(Nishimura et al., 2008)、その他の生理活性物質であるRAおよびLUに及ぼす影響は不明である。また、アカジソにUV-Bを明期または暗期に照射した場合、暗期照射でのみ生育が抑制され、暗期照射の方がより大きいダメージを与えたことが報告されている(Ota et al., 2017)。

本章では、短期間の UV 照射が生理活性物質の濃度に及ぼす影響を調査することで、生理活性物質を高蓄積させるのに効果的な短期 UV 照射の時期とその効果が持続する期間を検討した(【試験 3-1】)。また、長期的に UV が生育および生理活性物質の濃度に及ぼす影響を調査した(【試験 3-2】)。これらの結果から、アカジソの効率的生産のための UV 照射方法および収穫方法を提案し、3.4 ではそれらの方法を用いて温室でアカジソの生産を行った場合に、生理活性物質生産に必要な電力コストを試算した。

3.2 【試験 3-1】 短期的な UV 照射時期

3.2.1 目的

食用アカジソについて、ピーク波長の異なる3種類のUV光源(ピーク波長: 290, 310, 338 nm)を用いて、PA濃度を増加させる光源を検討したところ、310 nmにピーク波長をもつ光源を用いて 3.0 W m^{-2} のUVを3日間照射することで、生育抑制や葉の変色を伴わずに展開初期の葉のPA濃度がUV無照射の場合よりも有意に増加することが示された(付録1, Fig. S1.4)。そこで、【試験 3-1】では、3日間のUV照射がRAおよびLU濃度やトリコーム数および体積に及ぼす影響、PA濃度の増加に有効な葉齢の範囲を明らかにするために、310 nmにピーク波長をもつ光源を用いて 3.0 W m^{-2} のUVを展開日数の違う葉に3日間行い、個葉の生育、生理活性物質の濃度・含有量、トリコーム形成に及ぼす影響を調査した。

3.2.2 材料および方法

3.2.2.1 供試材料および栽培方法

供試材料は、(独)医薬基盤研究所から購入したチリメンアカジソ(*Perilla frutescens* L. Britton var. *acuta* Kudo f. *crispa* Makino, 登録番号: 0657-79T)とした。種子を24 h 水道水に浸漬させ、十分に給水させたウレタンスポンジに播種した。播種面に湿らせた紙タオルおよびラップを被せ、7日間白色蛍光灯(FHF32-EX-N-H, パナソニック(株))の下に置いた。播種後21日に湛液水耕装置(容量13.6 L)に56株ずつ移植し、エアポンプを用いてエアレーションを行った。その他の環境条件は、培養液には、OATハウスA処方1/4単位(OATアグリオ(株))を用いた。培養液はコンテナに10 L注入し、2日おきに追液した。培養液の全量更新は2週間ごとに行った。栽培中の光源には白色蛍光灯を用い、環境条件は2.2.1 (Table 2.1)と同様とした。

3.2.2.2 処理区

試験には第5節葉の葉長が1 cmに到達した株を使用した。処理区は、第5節葉の葉長が1 cmに到達した日を展開開始日とし、展開0または3日目から3日間UV照射を行うP0-3区、P3-6区とUVを照射しないControlを設けた。UV光源にはUV蛍光灯(TL20W/01RS, Phillips Co., Inc., ピーク波長: 310 nm)を用いた(Fig. 3.1)。UV強度は第5節葉上で 3 W m^{-2} に調整し、場所による強度の違いが10%以内になるように調節した。試験は2回繰り返し行った。

3.2.2.3 測定および算定項目

測定対象葉および測定項目

測定対象葉は第 5 節葉とし、生体重、乾物重、葉面積、生理活性物質の濃度を調査した。調査は展開開始後 0 日（葉長が 1 cm 到達時）から 3 日ごとに展開開始後 12 日まで行った。また、繰り返し実験の 2 回目では、株全体の部位別の乾物重および葉面積、トリコームの密度および体積を調査した。葉については節ごとに生体重、乾物重、葉面積を調査した。各測定日における調査株は 6 株とし、トリコームの調査方法については 2.2.3、各生理活性物質の分析方法および乾物重あたりの濃度の算定方法については 2.2.4 と同様とした。

3.2.2.4 統計解析

データは全て平均値を掲載した。処理区間の平均値は t 検定または Tukey-Kramer 検定を用いてエクセル統計((株)エスミ)上で比較し、5%または1%水準で有意差検定を行った。

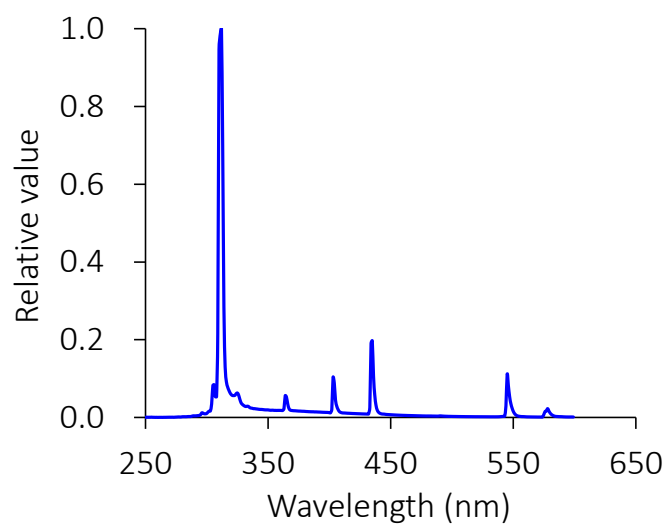


Fig. 3.1 Spectral irradiance of the UV light source (TL20W/01RS, peak wavelength, 310 nm, Phillips Co. Inc., the Netherlands). Relative spectral intensity of each lamp was normalized to 1.0 at 313 nm. The spectral energy distribution was measured by spectroradiometer (USR-45DA, USHIO Co., Ltd., Japan).

3.2.3 結果

3.2.3.1 生育

2 回目の試験のみ調査した、株あたりの総乾物重 (Fig. 3.2 (a)) および総葉面積 (Fig. 3.2 (b)) は全ての項目で UV 照射時期によらず処理区間で同等となった。1 回目および 2 回目の試験で測定した第 5 葉の乾物重 (Fig. 3.3)、葉面積 (Fig. 3.4) は、ともに UV 照射時期や調査日によらず処理区間で同等となった。

3.2.3.2 トリコーム数

UV 照射を行わなかった Control において、葉面積あたりのトリコーム密度は展開開始後 0 日で最大となり、展開開始後 0 から 6 日にかけて急激に低下した (Fig. 3.5 (a))。Control のトリコーム密度の経日変化は、第 2 章での結果と同様となった。UV を照射した P0-3 および P3-6 において、葉面積あたりのトリコーム密度は展開開始後 9 および 12 日で Control よりも大となる傾向がみられた。トリコームの推定体積は展開開始後 3-6 日目では UV 照射区で Control よりも大となる傾向がみられ、展開開始後 9-12 日では Control よりも有意に小となった (Fig. 3.5 (b))。

3.2.3.2 生理活性物質

ペリラルデヒド (PA)

UV-B 照射を行わない場合、PA 濃度は展開開始後 0-3 日で最大となり展開開始後 3 日以降、経日的に低下した (Fig. 3.6)。これは、第 2 章での結果と同様となった。1 回目 (Fig. 3.6 (a))、2 回目 (Fig. 3.6 (b)) の試験とも、P0-3 の UV 照射終了日である展開開始後 3 日の PA 濃度はいずれも P0-3 で Control よりも大となった。P3-6 の UV 照射終了日である展開開始後 6 日の PA 濃度は、1 回目の試験では Control との差はなく、2 回目の試験では P3-6 で Control よりも大となる傾向がみられた。しかし、PA 濃度が増加した 2 回目の試験でも展開開始後 6 日の PA 濃度は Control の展開開始後 3 日よりも低かった。

ロズマリン酸 (RA)

UV 照射を行わない場合、RA 濃度は展開開始後 0-6 日で展開開始後 9 日以降よりも低く、展開開始 6-9 日にかけて増加した (Fig. 3.7)。これは、第 2 章での結果と同様となった。1 回目、2 回目の試験とも、P0-3 の RA 濃度は展開開始後 3-9 日で、P3-6 の RA 濃度

は展開開始後 9 日で Control よりも大となった (Fig. 3.7)。

ルテオリン (LU)

UV 照射を行わない場合、LU 濃度は展開開始後 0 日以降、経日的に低下した。これは、第 2 章での結果と同様となった。1 回目、2 回目の試験とも、展開開始後 6 日の LU 濃度は、UV-B 照射区で Control よりも小となる傾向がみられた (Fig. 3.8)。

アントシアニン

UV 照射を行わない場合、アントシアニン濃度は展開開始後日数によらず一定となった (Fig. 3.9)。これは、第 2 章での結果と同様となった。1 回目、2 回目の試験とも、展開開始後 6 および 12 日の ANT 濃度は UV 照射区で Control よりも小となる傾向が見られ、展開開始後 9 日では Control で UV 照射が大となる傾向が見られた。

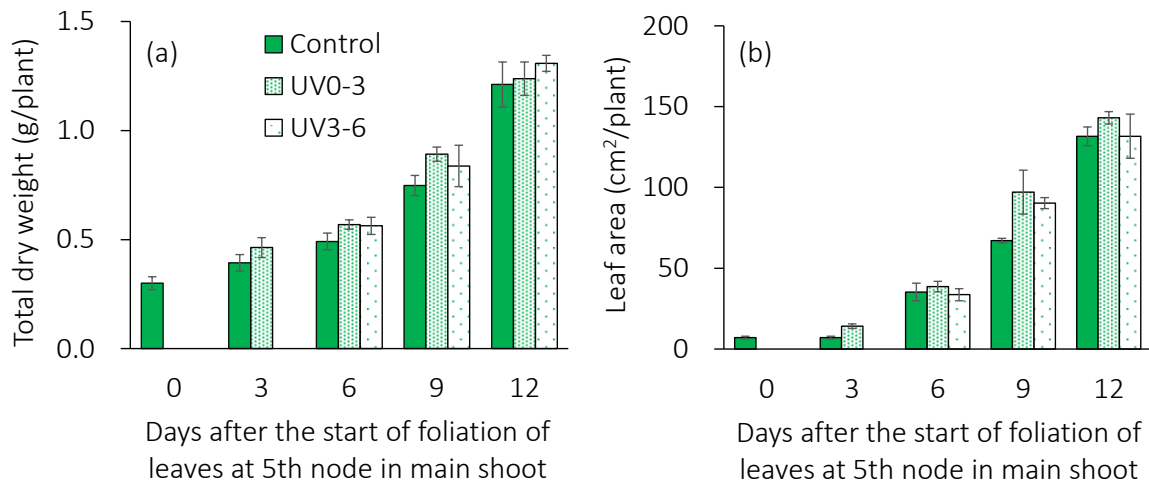


Fig. 3.2 Effects of three day UV irradiation on dry weight (a) and leaf area (b) of whole red perilla plants. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . UV0-3 and UV3-6 indicate the treatment code, in which UV irradiation was carried out at 0-3 and 3-6 days after start of foliation of the leaf at the 5th node, respectively.

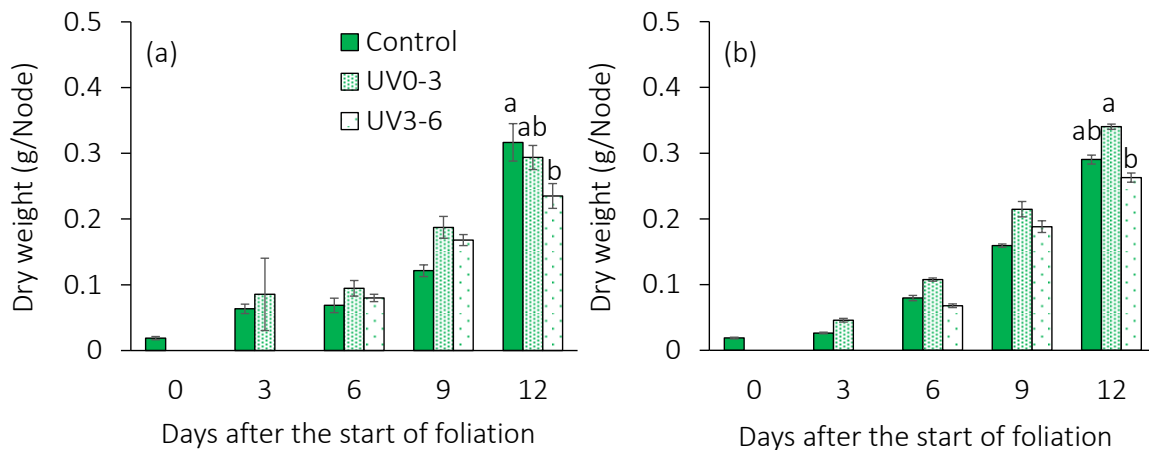


Fig. 3.3 Effects of three day UV irradiation on dry weight of leaves at the 5th node of the main shoot of red perilla plants. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . UV0-3 and UV3-6 indicate the treatment code, in which UV irradiation was carried out at 0-3 and 3-6 days after start of foliation of the leaf at the 5th node, respectively. The measurements were repeated twice; (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

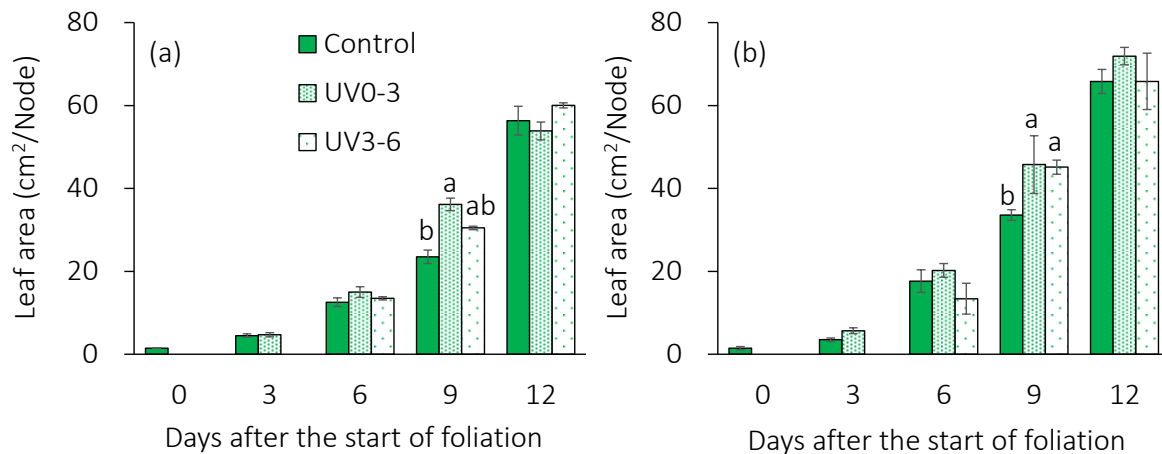


Fig. 3.4 Effects of three day UV irradiation on leaf area of the leaves at the 5th node of the main shoot of red perilla plants. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . UV0-3 and UV3-6 indicate the treatment code, in which UV irradiation was carried out at 0-3 and 3-6 days after start of foliation of the leaf at the 5th node, respectively. The measurements were repeated twice; (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

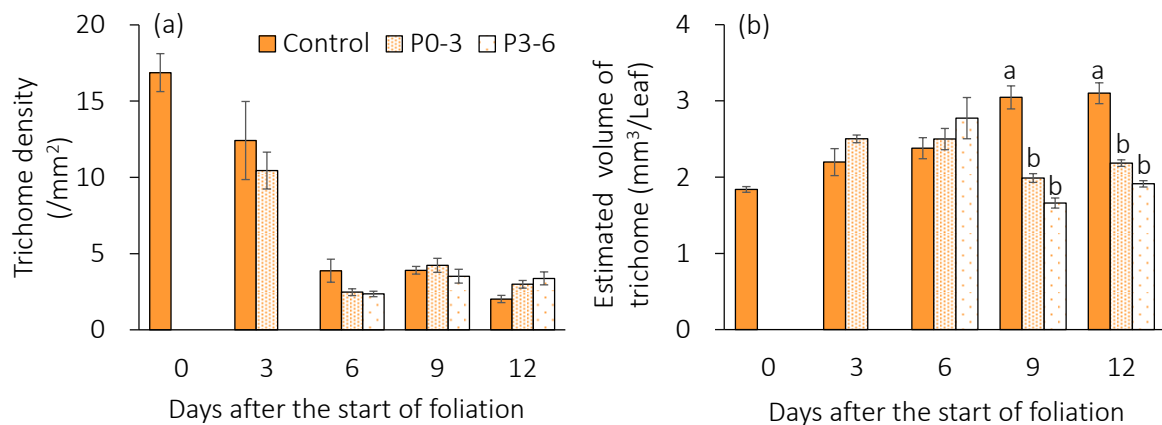


Fig. 3.5 Effects of three day UV irradiation on trichome density (a) and estimated trichome volume of leaves at the 5th node of the main shoot of red perilla plants. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . UV0-3 and UV3-6 indicate the treatment code, in which UV irradiation was carried out at 0-3 and 3-6 days after start of foliation of the leaf at the 5th node, respectively. The measurements were repeated twice; (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

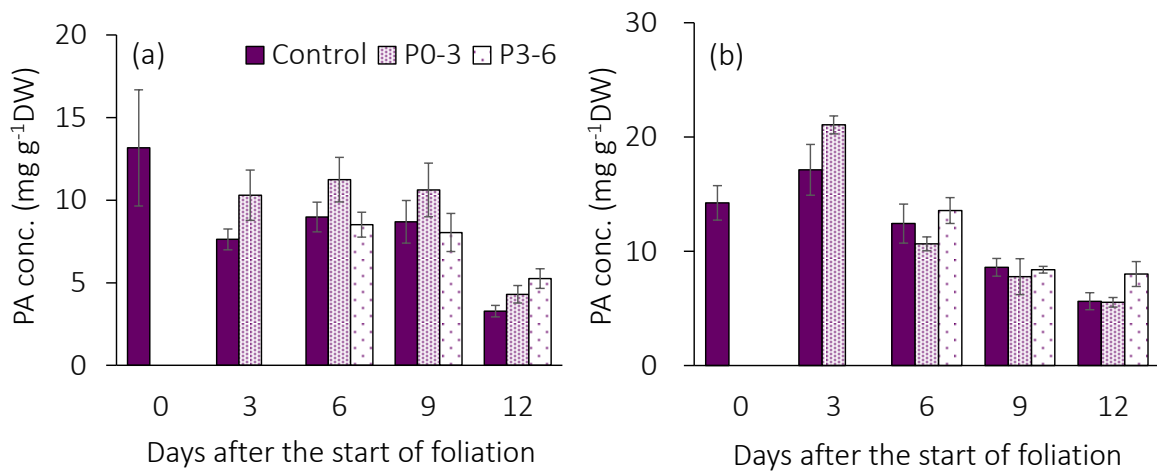


Fig. 3.6 Effects of three day UV irradiation on perillaldehyde (PA) concentration in leaves at the 5th node of red perilla plants. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . UV0-3 and UV3-6 indicate the treatment code, in which UV irradiation was carried out at 0-3 and 3-6 days after start of foliation of the leaf at the 5th node, respectively. The measurements were repeated twice; (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

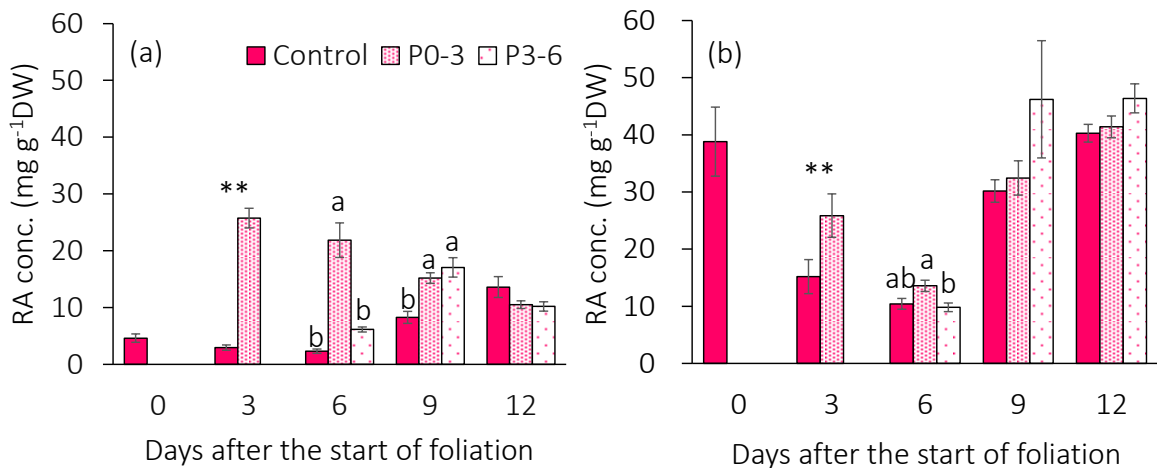


Fig. 3.7 Effects of three day UV irradiation on rosmarinic acid (RA) concentration in leaves at the 5th node of the main shoot of red perilla plants. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . UV0-3 and UV3-6 indicate the treatment code, in which UV irradiation was carried out at 0-3 and 3-6 days after start of foliation of the leaf at the 5th node, respectively. The measurements were repeated twice; (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). ** indicate significant differences at the $P < 0.01$ level with t -test between Control and P0-3. Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

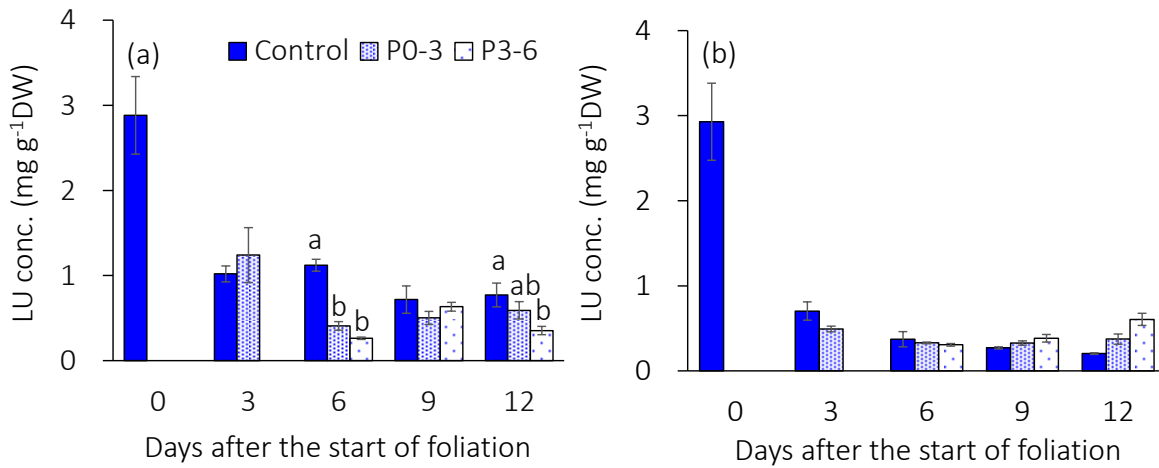


Fig. 3.8 Effects of three day UV irradiation on luteolin (LU) concentration in leaves at the 5th node of red perilla plants. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . UV0-3 and UV3-6 indicate the treatment code, in which UV irradiation was carried out at 0-3 and 3-6 days after start of foliation of the leaf at the 5th node, respectively. The measurements were repeated twice; (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

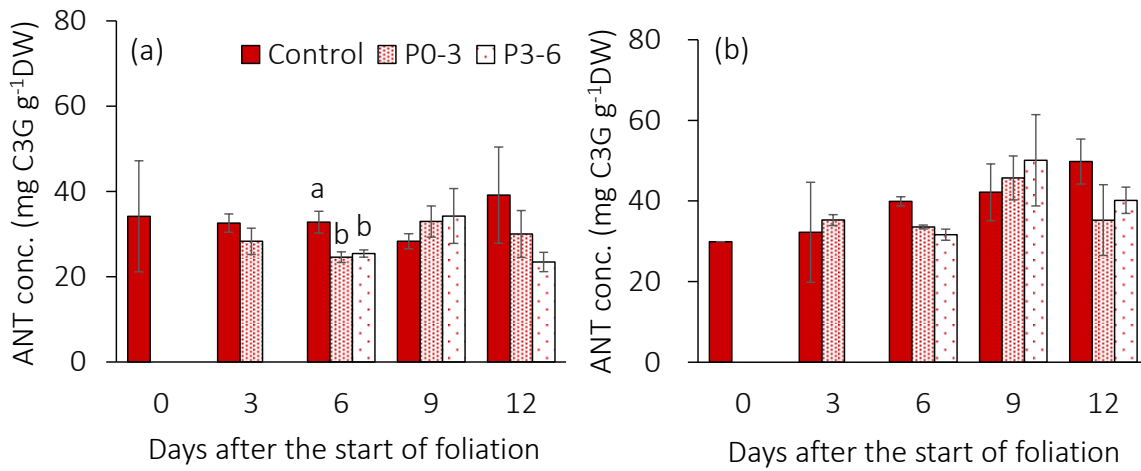


Fig. 3.9 Effects of three day UV irradiation on anthocyanin (ANT) concentration (calculated as cyanidin-3-glucoside (C3G) equivalent) in leaves at the 5th node of red perilla plants. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . UV0-3 and UV3-6 indicate the treatment code, in which UV irradiation was carried out at 0-3 and 3-6 days after start of foliation of the leaf at the 5th node, respectively. The measurements were repeated twice; (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

3.2.4 考察

本試験では、展開開始後 12 日までの生育に処理区間で差はなかったことから、本試験の UV 照射条件ではアカジソの生育は抑制されないことが示された。既往の研究では、播種後 28 日のアカジソに 0.21 または 0.88 W m^{-2} の UV-B を本試験と同一の UV 光源を用いて明期中 (16 h d^{-1}) 21 日間照射したところ、いずれの強度でも UV 照射を行わない場合よりも生育が抑制された (Nishimura et al., 2008)。Nishimura ら (2008) の積算 UV 照射量は 254 kJ または 1064 kJ であり、本試験では 518.4 kJ であり、Nishimura ら (2008) よりも本試験で小だった。UV 照射期間は Nishimura ら (2008) は 21 日間、本試験では 3 日間であり、Nishimura ら (2008) よりも本試験で短かった。これらより、本試験の UV-B 照射区で生育が抑制されなかったのは、UV 照射期間が 3 日間と短かったことが理由と考えられた。

PA 濃度は、展開開始後 0–3 日に UV を照射した P0-3 の展開開始後 3 日で Control よりも大となる傾向がみられた。しかし、展開開始後 6 日目以降は処理区間の差はみられなかったことから PA 濃度を増加させるには展開開始後 0–3 日に UV-B を照射する必要があると考えられた。PA はモノテルペン化合物であり、モノテルペンの生合成経路の最上流ではゲラニル 2 リン酸からリモネンシンターゼ (Ls) によってリモネンが生合成される (Fig. 3.15)。PA はリモネンからペリルアルコールを経て生合成される化合物であり、アカジソと同じシソ科のペパーミントでは、屋外または人工気象室で栽培した場合に UV-B_{BE} (生物学的影響量) 7.1 kJ m^{-2} の UV-B を数日 (期間不明) 照射した場合、Ls をコードする遺伝子である Ls の発現量が増加し、リモネンから生合成される精油の濃度が増加したことが報告されている (Dolzhenko et al., 2010)。PA の生合成および蓄積場所であるトリコームの推定体積は展開開始後 3–6 日目では UV 照射区で Control よりも大となる傾向がみられたことから、本試験においても UV-B 照射によってトリコーム内の PA を含む二次代謝物質の生合成が促進された可能性があると考えられた。よって、本試験では展開開始後 0–3 日の UV の照射によってトリコームでの PA 蓄積が早まったことで展開開始後 3 日の PA 濃度が Control よりも大となった可能性がある。

また、本試験では、葉面積あたりの密度は、展開開始後 9 および 12 日で Control よりも大となる傾向がみられたことから、UV 照射によってトリコームの形成は促進されるものの、本試験の条件では葉面積や乾物重が急激に増加する展開開始後 6–9 日での PA 濃度が増加するほどトリコーム密度は高まらなかったと考えられた。既往の研究では、トリコームの形成は葉のごく初期から行われていることが報告されていることから、トリコームの数は葉の展開

のごく初期に決まっており、短期的な UV 照射ではトリコーム数決定の時期に UV 照射を行っていない可能性が考えられた。このため、生育を抑制しない条件で UV の照射の期間を前側に延ばし、トリコームの形成時期に UV 照射を行うことで、最大展開時のトリコーム密度が増加し PA 濃度が増加する可能性が考えられた。また、展開開始後 9–12 日のトリコーム体積が UV 照射区で Control よりも小となったのは、UV 照射によってトリコームの形成が促進されたことで、蓄積空洞に PA などの二次代謝物質が十分に蓄積されていないトリコームが多かったことが一因である可能性がある。

以上より、PA 濃度を増加させるには展開開始後 0–3 日の UV-B 照射が効果的であると考えられ、展開開始後 0–3 日の UV-B 照射は、個葉あたりのトリコーム数およびトリコーム体積を増加させると考えられた。ただし、P0-3 の UV-B 照射終了日から 3 日目(展開開始後 6 日)には PA 濃度に処理区間差はみられなくなることから、展開開始後 0–3 日に UV-B 照射した場合は UV 照射終了後速やかに収穫する必要があると考えられた。

RA 濃度は展開開始後 3–9 日で、P3-6 の RA 濃度は展開開始後 9 日で Control よりも大となったが、いずれの処理でも展開開始後 12 日では Control と同等の濃度となった。RA 濃度は展開開始後 12 日で最大となるため、濃度が低い展開初期ほど UV 照射による濃度の増加が顕著だったと考えられた。また、UV 照射終了後は展開開始後 0–3 日で照射した場合は 6 日、展開開始後 3–6 日で照射した場合は 3 日、濃度が高い状態が維持されることが示された。RA はフェニルプロパノイド類に分類され、フェニルプロパノイド生合成経路で生合成される化合物である (Fig. 1.2)。フェニルプロパノイド生合成経路の最上流の反応では、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) によってフェニルアラニンからケイヒ酸が生合成される。PAL の活性は様々な環境要因によって制御されており、低栄養条件や傷害によって PAL をコードしている遺伝子の発現が高まることが報告されている (桜井ら、2008)。PAL の発現量は、UV 照射でも増加することが報告されている (Li et al., 1993)。また、これまでにシソ科のムラサキにおいてエリシター (高等植物の組織もしくは培養細胞に生体防御反応を誘導する物質) 応答による RA 生合成酵素の活性が調べられており、特に CYP98A6 の活性が上昇すると RA 生合成が促進されることが報告されている (Matsuno et al., 2002)。UV 照射と CYP98A6 をコードする遺伝子である CYP98A6 との関連は明らかにされていないが、バジルの CYP98A6 は白色 FL を $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で 24 h 連続照射すると、同じ光強度の青色 FL および赤色 FL を 24 h 連続照射した場合よりも発現レベルが高くなることから (庄子、2010)、CYP98A6 は光環境に影響を受けると考えられる。よって、本試験においては UV 照

射で *CYP98A6* の発現量が増加し、RA 濃度が増加した可能性がある。

他方、フラボノイドである LU や ANT は UV 照射によって濃度に変化しないまたは低下する傾向がみられた。LU については蓄積場所が不明だが、アカジソの ANT については葉の表皮細胞で生合成・蓄積されることが報告されている (Saito and Yamazaki, 2002)。フラボノイドは UV や青色など短波長の光を吸収するものが多く、これらの光が葉の内部に多く入射するのを防いでいると考えられている。

既往の研究では、抗酸化能を持つ二次代謝物質の濃度は青色光や UV 照射によって増加することが多く報告されている (Jansen et al., 1998; Rozema et al., 1997)。例えば、レタスの ANT は青色光割合の多い光源での栽培 (Li and Kubota, 2009; 庄子ら, 2010) や UV 照射 (Tsormpatsidis et al., 2008) によって増加することが報告されている。また、レタスの ANT 生合成酵素であるカルコンシンターゼ (CHS) や UDP グルコース-フラボノイド 3-O-グルコシルトランスフェラーゼ (UFGT) をコードする遺伝子の発現レベルが UV-B 照射で高まることが報告されている (Goto et al., 2016)。

他方、アカジソの ANT 濃度は、UV-B 照射によって低下する例が多く報告されている。例えば、播種後 28 日目のアカジソに 0.21 または 0.88 W m^{-2} の UV-B を明期中 (16 h d^{-1}) 21 日間照射したところ、いずれの強度でも UV 照射を行わない場合よりも ANT 濃度が低下したこと (Nishimura et al., 2008) や、 0.24 W m^{-2} の UV-B 照射を第 3 節のアカジソ葉に 7 日間照射した場合にも ANT 濃度が低下したこと (Ota et al., 2017) が報告されている。本試験での UV 照射条件とアカジソの ANT 濃度が低下した既往の研究 (Nishimura et al., 2009; Ota et al., 2017) とを比較すると、UV 強度は本試験で最も高く、積算 UV 照射量は Nishimura ら (2009) の 0.88 W m^{-2} で 21 日間照射した条件が最大で、Ota ら (2017) の条件が最小であった。このため、本試験においても ANT は UV-B によって分解されていた可能性がある。これらより、本試験の UV-B 照射条件では ANT の生合成促進と分解がどちらも引き起こされた可能性があると考えられた。しかし、本試験の分析方法では、サンプリング時の ANT の蓄積量のみを調査しているため、UV-B 照射が ANT の生合成に及ぼす影響は不明である。

以上より、ピーク波長 310 nm の UV 波長を持つ光源で展開開始後 0–3 日に UV-B を照射し、照射終了後速やかに収穫することで、生育抑制を伴わずに PA および RA の濃度が高い葉を得られることが示された。よって、3 日間の UV 照射後、一部収穫で最上位節から 2 節程度収穫することで PA および RA 濃度が高い葉を収穫できると考えられた。また、本試験で用いたアカジソは気温 $25/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ の条件下で 6 日ごとに 1 節出葉し、本試験の UV 照射

条件では、生育は抑制されなかった。このため、最上位節の葉が展開 3 日程度の時に最上位節から 2 節収穫する場合、収穫から次の収穫まで 15 日程度空ける必要があり、収穫前 3 日間の UV 照射を行う場合、次の収穫までは 12 日間 UV 照射を休止することができる。既往の研究ではアカジソの生育は長期間の UV 照射で抑制されることが報告されているため (Nishimura et al., 2009)、最上位節を収穫する一部収穫を用い、UV 照射を断続的に行い、一定期間、適時に収穫を行うことで PA および RA 濃度の高い葉を効率的に生産できる可能性が示された。

3.3 【試験 3-2】 長期的な UV 照射

3.3.1 目的

【試験3-1】より、3日間の短期的なUV照射で展開開始後3日の葉のPAおよびRA濃度が一時的に増加するものの、展開開始後6日以降の葉のPAおよびRA濃度は増加しないことが示された。この理由として、PAに関してはトリコームの数は葉の展開のごく初期に決まっており、短期的なUV照射ではトリコーム数決定の時期にUV照射を行えていない可能性が考えられた。シロイヌナズナでは、葉内にROSを人為的に発生させた場合、処理時に展開初期だった葉のみでトリコームの形成が促進されることが報告されている(Nagata et al., 1999)。このため、トリコームの形成を促進するためには葉の展開初期にUVなどの環境ストレスを与える必要があると考えられる。

そこで本試験では、湛液水耕栽培に移植直後から30日間UVを照射し、UV照射中に展開を始めた葉の生育および生理活性物質の濃度に及ぼす影響を経目的に調査した。既往の研究ではアカジソに21日間UV照射(0.21または0.88 W m⁻²)を明期(16 h d⁻¹)中に16 h行った場合、生育が抑制され、ANT濃度が低下したことが報告されている(Nishimura et al., 2009)。このため、UV強度を0.21または0.88 W m⁻²よりも低く設定する、または1日の照射時間を短くする必要があると考えられた。アカジソと同じシソ科である二ホンハッカでは、2 hのUV照射を行う時間帯を明期開始直後、明期中間(16 h明期で明期開始後8-9 h)、暗期開始前に変えたところ、暗期開始前にUV照射を行った場合のみ葉に障害がみられたことが報告されている(伊藤, 2009 卒論)。このため、暗期終了前のUV照射を行わないことで葉の障害や生育抑制を回避できる可能性がある。そこで、【試験3-2】ではUV照射の時間を8 hに短縮し、明期の中間または暗期にUV照射を行った。

3.3.2 材料および方法

3.3.2.1 供試材料および栽培方法

供試材料は、(独)国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所から購入したチリメンアカジソ(*Perilla frutescens* (L.) Britton var. *acuta* Kudo f. *crispa* Makino, 登録番号: 0657-79T)とした。種子を24 h水道水に浸漬させ、十分に給水させたウレタンスポンジに播種した。播種面に湿らせた紙タオルおよびラップを被せ、7日間白色蛍光灯(FHF32-EX-N-H, パナソニック(株))の下に置いた。播種後21日目に湛液水耕装置(容量13.6 L (54.4×38.4×6.5 cm)、)に56株ずつ移植し、エアポンプを用いてエアレーションを行った。培養液には、OAT

ハウスA 処方 1/4 単位 (OAT アグリオ (株)) を用いた。培養液は湛液水耕装置に 10 L 入れ、2 日おきに追液した。培養液の全量更新は 2 週間ごとに行った。栽培中の光源には白色蛍光灯 (FHF32-EX-N-H, パナソニック (株)) を用い、環境条件は 2.2.1 と同様とした (Table 2.1)。

3.3.2.2 処理区

UV照射は、たん液水耕装置への移植日である播種後21日から開始した。本試験では、第3節以上の節の葉は展開開始日より前からUVが照射されており、いずれの節位でも葉の展開初期からUVが照射されていた。UV光源には【試験3-1】と同様にUV-B蛍光灯 (TL20W/01RS, Phillips Co., Inc., ピーク波長: 310 nm) を用いた (Fig. 3.1)。

処理区は、UV照射時間帯を明期開始後4–12 hとしたUV_L、暗期開始後0–8 hとしたUV_D、照射を行わないControlとした。UV照射区 (UV_LおよびUV_D) のUV-B光源からのUV強度は栽培面上で 1.0 W m^{-2} に設定し、栽培面上でのUV強度のばらつきは設定値の $\pm 10\%$ 以内になるように調整した。

3.3.2.3 測定および算定項目

調査は、試験開始後6日から試験開始後30日まで6日ごとに5回行った。測定項目は、部位別の生体重、乾物重、節位別の生理活性物質濃度および株あたりの含有量とした。ただし、生理活性物質の濃度については処理開始後30日のみ調査を行い、株あたりの含有量については第3–第6節葉の合計とした。生理活性物質の分析対象葉は第3節葉以上をとし、それぞれの節についている2葉のうち片方を分析に、もう片方を乾物重の測定に用いた。

各測定日における調査株は6株とし、各生理活性物質の分析方法および乾物重あたりの濃度の算定方法については、2.2.4と同様とした。

3.3.3 結果

3.3.3.1 生育

株あたりの総乾物重 (Fig. 3.10 (a)) および地上部の乾物重 (Fig. 3.10 (b)) は、照射開始後 12 日から 24 日まで UV_D が UV_L および Control よりも大となる傾向がみられ、特に照射開始後 18 日では UV_D で Control よりも有意に大となった。根の乾物重は、照射開始後 12 日から 24 日まで UV_D が UV_L および Control よりも大となる傾向がみられ、特に照射開始後 18 および 24 日では UV_D で Control よりも有意に大となった (Fig. 3.10 (c))。主枝葉 (Fig. 3.11 (a))、主茎 (Fig. 3.11 (b))、側枝 (Fig. 3.11 (c)) の乾物重はいずれも照射開始後 18 および 24 日に UV_D で Control よりも大となる傾向がみられ、主枝葉および主茎は、照射開始後 18 日で、根は照射開始 18 および 24 日で UV_D が Control よりも有意に大となった。しかし、いずれの部位の乾物重も照射開始後 30 日では、処理区間に差はみられなかった。

節位ごとの葉の乾物重は、UV 照射開始時に展開が完了していた第 1 および第 2 節葉では処理区間に差はなかった (Fig. 3.12 (a) and (b))。他方、UV 照射開始後に展開を始めた第 3 節葉 (Fig. 3.12 (c)) および第 4 節葉 (Fig. 3.12 (d)) の乾物重は、照射開始後 18 および 24 日に UV_D で Control よりも大となる傾向がみられ、特に照射開始後 18 日の第 4 節葉では、UV_D が Control よりも有意に大となった。第 3 および第 4 節葉の乾物重については、照射開始後 30 日では処理区間の差はなかった。第 5 節葉 (Fig. 3.12 (e)) および第 6 節葉 (Fig. 3.12 (f)) の乾物重は、照射日数によらず処理区間で差はなかった。処理終了時の主枝葉の総乾物重は、処理区間で差はなく、処理によらず第 3、第 4 および第 5 節が第 1、第 2 および第 6 節よりも大となり、主枝葉の総乾物重の 90% 以上を第 3–6 節葉が占めていた (Fig. 3.13)。

3.3.3.2 生理活性物質

ペリラルデヒド (PA)

UV 照射開始後 30 日の PA 濃度は、UV 照射の有無や UV 照射時間帯によらず、最も展開後日数が小さい第 6 節葉で最大となり、節位が低いほど小となった (Fig. 3.14 (a))。PA 濃度を処理区間で比較すると、いずれの節位でも処理区間の差はみられず (Fig. 3.14 (a))、株あたりの PA 含有量にも処理区間の差はなかった (Fig. 3.14 (b))。

ローズマリン酸 (RA)

UV 照射開始後 30 日の RA 濃度は、UV 照射の有無や UV 照射時間帯によらず、最も

展開後日数が小さい第 6 節葉で最小となり、節位が高いほど大となった (Fig. 3.15 (a))。RA 濃度を処理区間で比較すると、第 3-5 節葉では Control、UV_L、UV_D の順に小となり、第 6 節葉では UV_D でその他の区よりも小となる傾向がみられた。また、株あたりの RA 含有量は、Control、UV_L、UV_D の順に小となった (Fig. 3.15 (b))。

ルテオリン(LU)

UV 照射開始後 30 日の LU 濃度は、Control および UV_L では最も展開後日数が小さい第 6 節葉で最大で、節位が低いほど小となり、UV_D では節位によらず一定の濃度となった (Fig. 3.16 (a))。LU 濃度を処理区間で比較すると、第 3-4 節では UV_D で Control および UV_L よりも大となり、第 5-6 節葉では Control で UV 照射区よりも大となる傾向がみられた。特に、第 4 節葉では、UV_D が UV_L よりも有意に大となった。また、株あたりの LU 含有量は、UV_L が Control および UV_D よりも小となる傾向がみられた (Fig. 3.16 (b))。

アントシアニン(ANT)

UV 照射開始後 30 日の ANT 濃度は、Control および UV_D では節位によらず処理区間の差はなく、UV_L では節位が高いほど小となる傾向がみられた (Fig. 3.17 (a))。ANT 濃度を処理区間で比較すると、第 4 節葉では処理区間の差はなく、その他の節位では UV 照射区で Control よりも小となる傾向がみられた。また、株あたりの ANT 含有量は処理区間で差はみられなかった (Fig. 3.17 (b))。

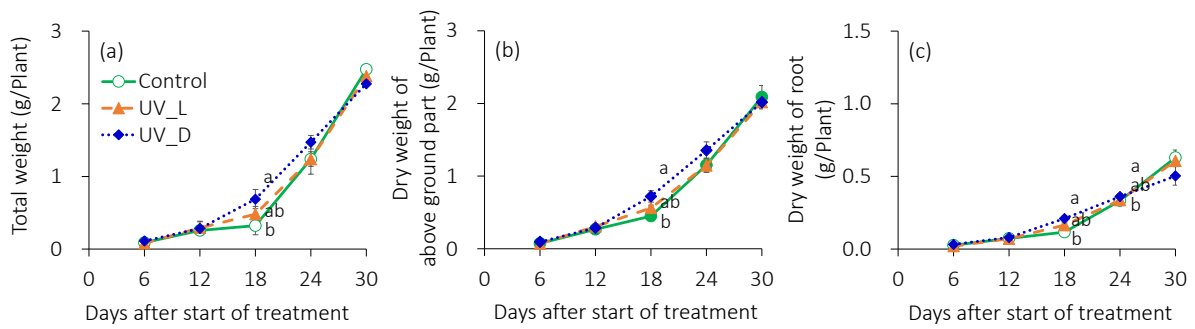


Fig. 3.10 Effects of UV-B irradiation period (light [UV_L] or dark [UV_D]) on the total dry weight of whole plant (a), dry weight of the above ground parts (b), and dry weight of the root (c) of red perilla plants. The UV-B intensity was set at 1.0 W m^{-2} , and the duration of UV irradiation was 8 h. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

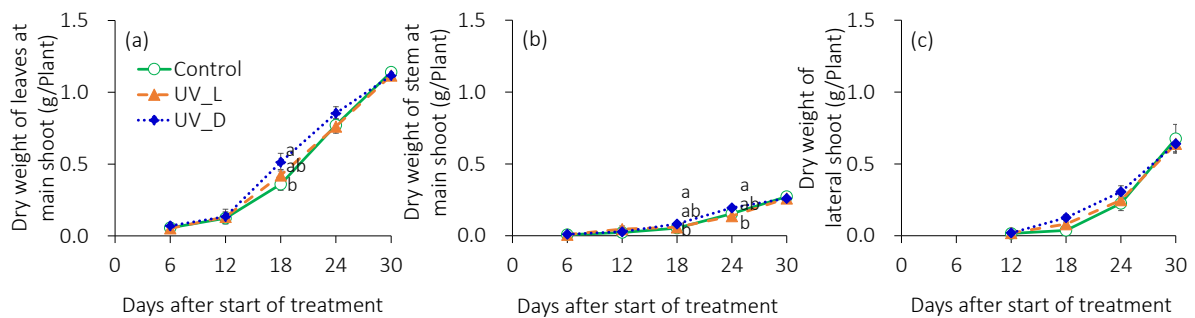


Fig. 3.11 Effects of UV-B irradiation period (light [UV_L] or dark [UV_D]) on the dry weight of leaves (a) and stem (b) of the main shoot and the dry weight of lateral shoots (c) of red perilla plants. The UV-B intensity was set at 1.0 W m^{-2} , and the duration of UV irradiation was 8 h. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

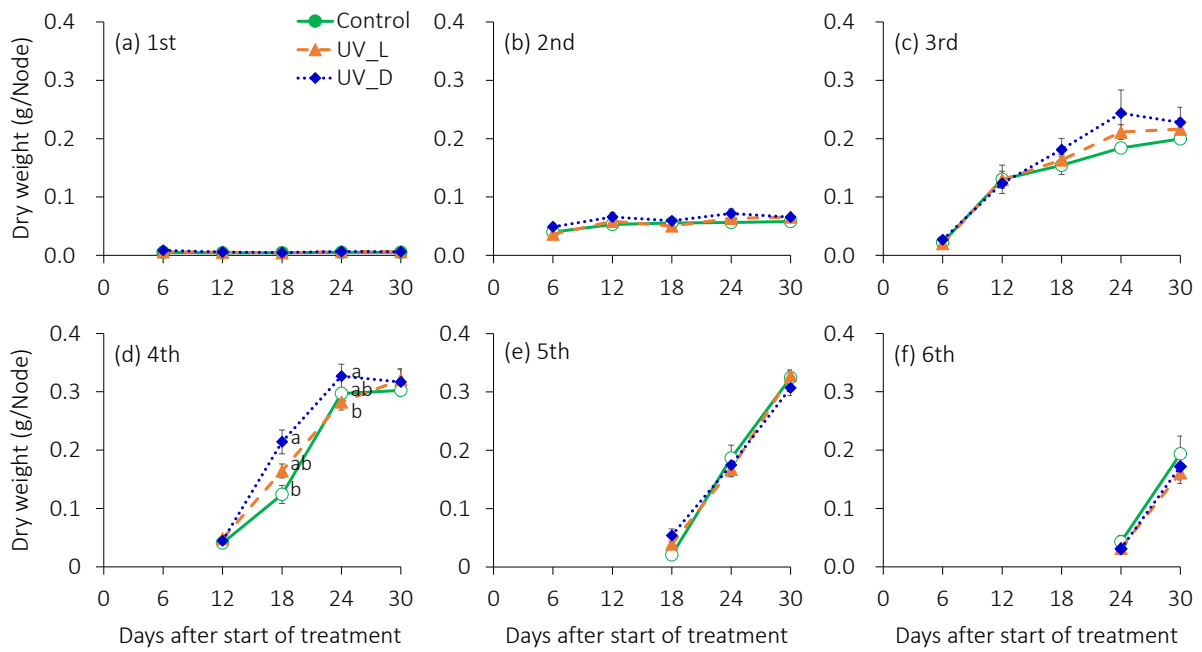


Fig. 3.12 Effects of UV-B irradiation period (light [UV_L] or dark [UV_D]) on the dry weights of leaves by node, 1st (a), 2nd (b), 3rd (c), 4th (d), 5th (e), and 6th (f) node, of the main shoot of red perilla plants. The UV-B intensity was set at 1.0 W m^{-2} , and the duration of UV irradiation was 8 h. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

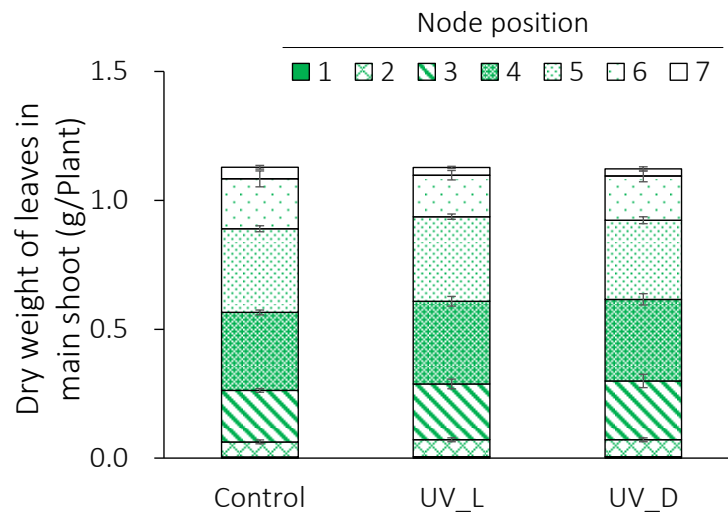


Fig. 3.13 Effects of UV-B irradiation period (light [UV_L] or dark [UV_D]) on the dry weight of leaves of the main shoot. The UV-B intensity was set at 1.0 W m^{-2} , and the duration of UV irradiation was 8 h. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

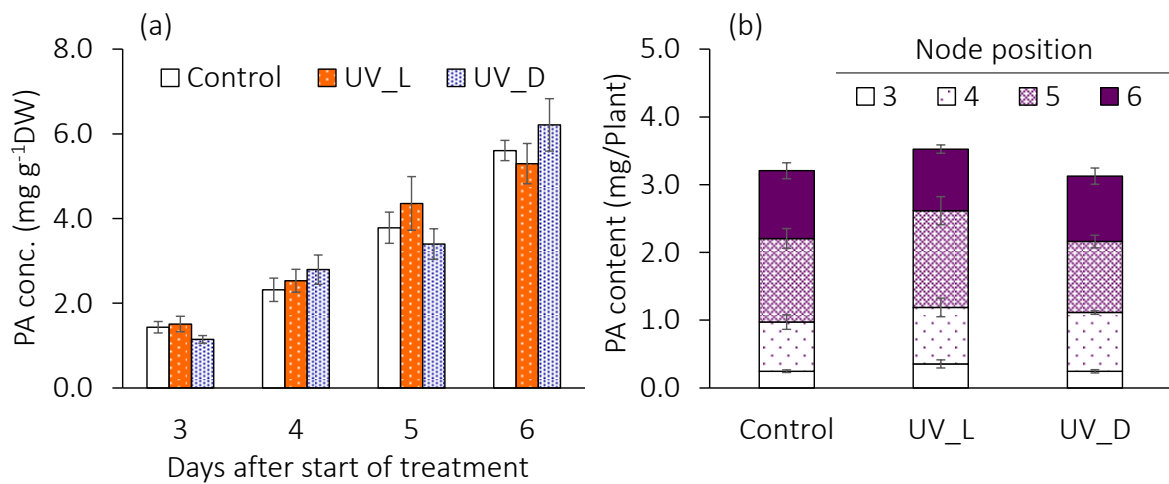


Fig. 3.14 Effects of UV-B irradiation period (light [UV_L] or dark [UV_D]) on the concentration (a) and content (b) of perillaldehyde (PA) in red perilla plants. The UV-B intensity was set at 1.0 W m^{-2} , and the duration of UV irradiation was 8 h. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

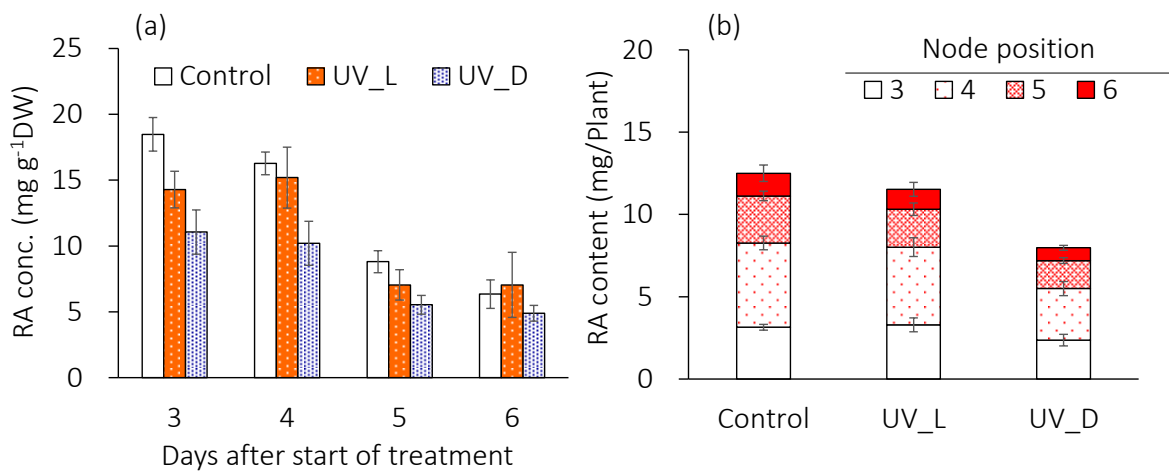


Fig. 3.15 Effects of UV-B irradiation period (light [UV_L] or dark [UV_D]) on the concentration (a) and content (b) of rosmarinic acid (RA) in red perilla plants. The UV-B intensity was set at 1.0 W m^{-2} , and the duration of UV irradiation was 8 h. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

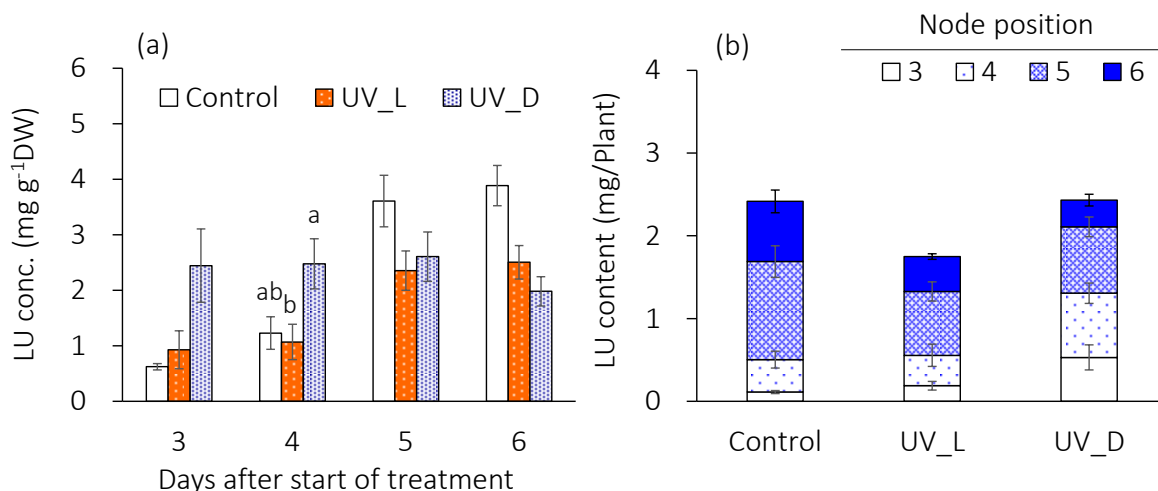


Fig. 3.16 Effects of UV-B irradiation period (light [UV_L] or dark [UV_D]) on the concentration (a) and content (b) of luteolin (LU) in red perilla plants. The UV-B intensity was set at 1.0 W m^{-2} , and the duration of UV irradiation was 8 h. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

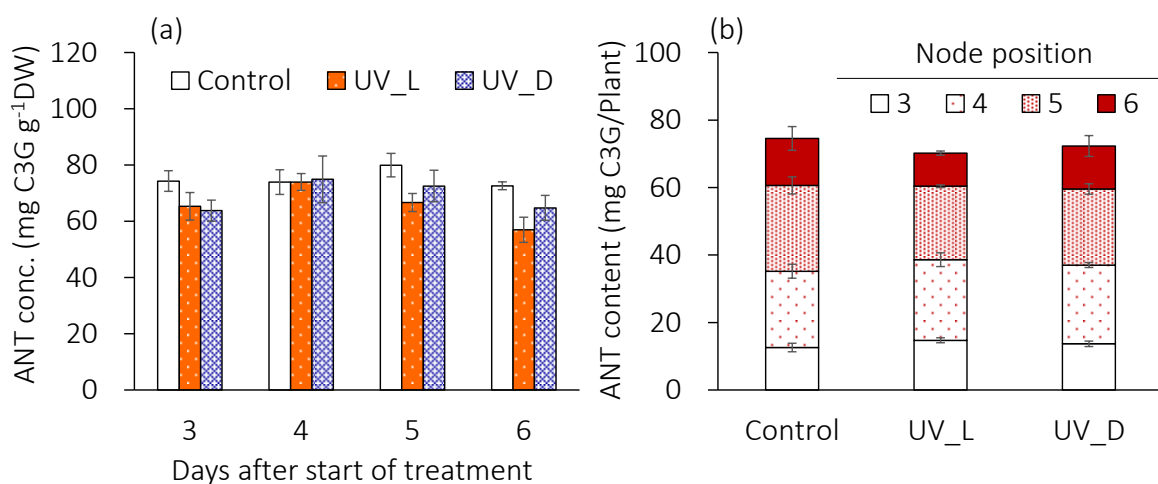


Fig. 3.17 Effects of UV-B irradiation period (light [UV_L] or dark [UV_D]) on the concentration (a) and content (b) of anthocyanin (ANT) (calculated as cyanidin-3-glucoside (C3G) equivalent) in red perilla plants. The UV-B intensity was set at 1.0 W m^{-2} , and the duration of UV irradiation was 8 h. Vertical bars indicate SE ($n = 4$).

3.3.4 考察

本試験では、照射開始後24日までは暗期のUV照射により主枝の葉と茎の生育が促進され、総乾物重が増加した。節位別の葉の乾物重でみると、特に第3および第4節葉の乾物重の増加が促進されることが示された。本試験で用いたUV光源にはUV-Bの他に微量の可視光を含んでいた(UV強度が 1.0 W m^{-2} のとき、PPFD $0.6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 程度)ため、暗期にUV-Bを照射したUV_Dでは暗期中にUVだけでなく微量の可視光も照射されていた。そ菜類では、温室で高圧ナトリウムランプを用いて、PPFD $32.6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ で24日間、暗期に補光を行った場合、生育が促進されることが報告されている(福田ら, 2000)。よって、本試験でもUV光源の可視光によって暗期が中断されたことで、ControlよりもUV_Dで生育が促進された可能性がある。また、UV照射区ではANT濃度が低下する傾向がみられた。ANTは表皮細胞に蓄積され、緑色光および青色光を吸収する。このため、緑色光および青色光が多く含まれる光源下でANT濃度の高い植物を栽培する場合、照射された光は葉の表皮でANTによって吸収され、葉の内部にある葉緑体に到達する光が少なくなる。既往の研究において、アカジソの光合成速度や生育が同じPPFDの光を照射した場合でも光源の赤色光の割合が高いほど大となるのは、赤色光はANTに吸収されないため葉緑体に到達する光が多いことが理由であると考えられている(Goto et al., 2012; 島野, 2016)。本試験においては、明期光源に青色光と緑色光を含む白色蛍光灯を用いているため、ANT濃度が低かったUV照射区ではControlよりも葉緑体に到達する光の量が多くなり、生育が促進された可能性がある。

UV照射開始後30日ではControlとUV区で生育が同程度となった。既往の研究ではアカジソに明期中(16 h d^{-1})21日間、UVを照射した場合、生育が抑制された(Nishimura et al., 2009)という報告があるため、本試験においてもUVの照射期間が長くなることで生育が抑制されたと考えられた。

長期 UV 照射では、PA 濃度は節位によらず増加しなかった。本試験の仮説では、UV 照射によって葉内の ROS の発生量が増加し、トリコームの形成が促進されると考えたが、PA 濃度は増加しなかったため、長期 UV 照射はトリコームの密度や体積、PA の生合成に影響を及ぼさないと考えられた。この理由として、本試験条件では、短期 UV 照射よりも照射強度が低く、1 日あたりの照射時間も短いため、細胞内の ROS 濃度がトリコームの形成や PA の生合成を促進するほど増加しなかったことが考えられた。また、バジルでは UV-B 照射によってトリコーム体積は増加するもの、破裂したトリコームの数も増加することが報告されている

(Ioannidis et al., 2002)。このため、本試験においても破裂したトリコームの数は UV 照射区で Control よりも大となり、処理区間で差が見られなかった可能性がある。

第3および第4節葉の RA 濃度は UV_D で Control よりも低くなった。このため、暗期の UV 照射では RA が分解または生合成が抑制されている可能性があると考えられた。他方、第3および第4節葉の LU 濃度は UV_D で Control および UV_L よりも高くなった。これらのことから、UV の照射時間帯によってそれぞれの生理活性物質の蓄積に及ぼす影響は異なることが示された。

以上より、長期の UV 照射では生育は抑制されないものの、PA 濃度は UV 照射区と UV 無照射で同程度となること、RA については第3-4節で、ANT については節位によらず濃度が低下することが示された。LU については、暗期の UV 照射によって第3-4節葉の濃度が UV 無照射よりも高くなるものの、第5-6節葉の濃度は UV 無照射よりも低くなり、株あたりの含有量としてはいずれも同程度となることが示された。これらより、長期の UV 照射は収穫部位全体の生理活性物質の濃度や含有量を増加させることができないため、生理活性物質の効率生産には不適であると考えられた。

3.4 UV 照射を用いた栽培での生理活性物質生産に必要な消費電力量の試算

3.4.1 目的

【試験 3-1】からアカジソの生理活性物質濃度を増加させるには 3 日間の UV 照射が適していると考えられ、3 日間、 3 W m^{-2} で明期中 (16 h d^{-1}) に UV 照射を行い、最上位節 (葉身長 3-5 cm) を一部収穫することで PA および RA 濃度が高い葉を収穫できると考えられた。

既往の研究では、閉鎖型施設における苗や葉菜類の生産についてエネルギーや消費電力量の試算が行われている (谷村ら, 1991; 大山ら, 2000; 大山ら, 2001; 西村ら, 2001; 横井ら, 2003)。また、ミラクリン生合成遺伝子が導入された組換えトマト (Kato et al., 2011) や、ヒトアディポネクチンまたはウシ α -ラクトアルブミン生合成遺伝子が導入された組換えイチゴ (吉田, 2013) について、それぞれ有用物質生産に必要なエネルギーや消費電力量を試算した例が報告されている。

現在アカジソは主に露地栽培で大きく育てた株を年に 1 回、全体収穫することで生産されており、施設栽培への移行を想定した場合、販売価格や生産コスト面から人工光型植物工場への移行は考えにくい。そこで、本節ではまず、温室でアカジソ葉を生産することを想定し、UV 照射を行い、最上位節の一部収穫を繰り返す場合に、生理活性物質を生産するために必要な消費電力量を試算した。

3.4.2 材料および方法

3.4.2.1 栽培施設

本研究では、実際に温室での栽培を行っていないため、温室の環境制御に必要な消費電力量については、本研究グループで温室内の気温制御に必要な資源エネルギー量を試算した Goto ら(2017)の報告にある暖房負荷、夜間冷房負荷、日中の細霧冷房に使用する水量のデータを利用した。同論文では、温室内でのトマト栽培を想定し、環境シミュレーションソフトを用いて屋外気象データから温室内気温を推定し、世界数カ国でのシミュレーション結果について報告している。本試算では、その中で日本の茨城県つくば市を想定して行ったシミュレーション結果を基にした (Table 3.1)。このシミュレーションでは、温室内の冷房について、日中は細霧冷房(気温 28 °C 以上かつ相対湿度 90%以下で稼働)、夜間はヒートポンプ(気温 25 °C 以上で稼働)で行い、暖房(15°C 以下で稼働)について、ヒートポンプ、重油、LP ガス、木質ペレットを使用した場合に必要な資源・エネルギー量を試算している。

本試算では、温室内の冷房については Goto ら(2017)と同様に日中は細霧冷房、夜間はヒートポンプを使用すること想定し、暖房についてはヒートポンプを用いることを想定した。なお、本試算で想定した温室の大きさについては、同論文に準じ、間口 8 m、奥行き 21 m、軒高 3.5 m、棟高 4.5 m、平均高さ 4 m、総床面積 168 m²の南北棟温室とした。

3.4.2.2 栽培方法

現在、アカジソの生産を温室で行っている例はないため、畝幅や定植方法などについては温室での周年栽培が行われているアオジソ(アカジソの成分変種)の栽培方法(岡, 2004)を参考に設定した。アオジソの栽培では、本舗への植え付けは畝幅 1.2 m(植え床 0.8 m、通路 0.4 m)、条間 0.4 m の 2 条植え、株間 0.15 m の 1 株 1 本植えである。

本試算では、培地として土壌や固形培地を用いず、培養液のみを利用するたん液水耕栽培を想定し、栽培ベンチ上に苗を上述した定植方法で定植すると仮定した。栽培ベンチの幅、その幅と合わせた通路の幅を上述した植え床、畝幅と同一と仮定した。すなわち、栽培ベンチの幅は 0.8 m とし、長さ 18 m、深さ 0.1 m と仮定した (Fig. 3.18)。温室の東西にそれぞれ 0.4 m、南北にそれぞれ 1 m の通路を設け、南北方向に長い栽培ベンチを 6 列設置することを想定した。この場合、栽培ベンチ 1 列に定植される苗の数は 240 株で、温室全体では 1440 株と想定される。植物が定植されている面積は 86.4 m²である。

3.4.2.2 収穫方法

本試算では、アカジソの最上位節が展開開始後0-3日にUV照射し、UV照射終了日に最上位節を収穫することを想定した。節の発生速度は6日に1節であることから、UV照射終了日の3日後に次の節が発生することになる。アカジソを周年生産するためには発生したすべての葉を収穫せずに、光合成を行う葉を残す必要があるため、以下のような収穫間隔を想定した。

(ケース1) 2節発生したうちの1節を収穫・・・12日で1回収穫(30.4回/年)

(ケース2) 4節発生したうちの3節を収穫・・・24日で3回収穫(45.6回/年)

3.4.2.3 温室1棟の年間の総消費電力量

本試算の式で用いた記号の一覧表をTable 3.2に示した。上述のように、Gotoら(2017)は暖房および夜間の冷房にヒートポンプを用い、日中は細霧冷房および換気により、温室内気温の制御を行う場合の資源・エネルギー量の試算をしている。本試算でも同様の環境制御を行うと想定した。加えて、アカジソは短日植物であるため、短日条件になる8月下旬から4月上旬に電照を行うことを想定した。これらを基準として、さらに、UV照射を行うことを想定すると、温室1棟の年間の総消費電力量(W [kWh])は、年間のヒートポンプ(W_{HP} [kWh])、細霧冷房(W_{FC} [kWh])、電照(W_L [kWh])、UV照射(W_{UV} [kWh])の消費電力量の和として、以下の式(1)で表される。

$$W = W_{HP} + W_{FC} + W_L + W_{UV} \quad \text{式(1)}$$

なお、照明器具から射出される光エネルギーは、植物や壁面に吸収された後、光合成で化学エネルギーに固定される(約1%程度)ものを除き、熱エネルギーに変換される。また、光に変換されなかった電力は熱エネルギーとして温室内に放出される。そのため、照明器具(本試算の想定では電照光源およびUV光源)により消費された電力のほとんどは熱エネルギーに変換される。この熱エネルギーが放出された時間帯が、暖房を行っている時間帯であれば暖房負荷を減少させ、冷房を行っている時間帯であれば冷房負荷を増加させる。しかし、本試算ではすでに温室1棟の年間の気温制御に必要な資源・エネルギー量を試算している結果を引用しているため、これら照明からの熱エネルギーが放出された場合、気温制

御に必要な資源・エネルギー量にどの程度影響を及ぼすかは不明である。そのため、本試算では照明(電照光源および UV 光源)から温室内に放出される熱エネルギーについては考慮しないこととした。以下にそれぞれの項目の試算方法について述べる。

ヒートポンプの消費電力量(W_{HP})

温室 1 棟の年間のヒートポンプの消費電力量(W_{HP} [kWh])は、温室 1 棟の年間の暖房負荷($Q_{Heating}$ [kJ])および夜間冷房の冷房負荷($Q_{Cooling}$ [kJ])の和を、ヒートポンプの成績係数(Coefficient of performance: COP)で除して、以下の式(2)より求められる。

$$W_{HP} = (Q_{Heating} + Q_{Cooling}) / COP / 3600 \quad \text{式(2)}$$

ここで、 $Q_{Heating}$ および $Q_{Cooling}$ は、上述した Goto ら(2017)の値(Table 3.1)、 $Q_{Heating}$ 133000 MJ、 $Q_{Cooling}$ 5360 MJ を用いた。また、ヒートポンプの COP を 3.0 一定として、計算した結果、 W_{HP} は 12811.1 kWh であった。なお、COP とは、ヒートポンプが単位時間あたりに吸収または発生する熱量とそのために入力した電力との比である(大山ら, 1998)。

細霧冷房の消費電力量(W_{FC})

温室 1 棟の年間の細霧冷房の消費電力量(W_{FC} [kWh])は、温室 1 棟の細霧冷房装置の消費電力(P_{FC})に年間稼働時間を乗じて求められる。細霧冷房装置の年間稼働時間は、年間で細霧冷房に使用した水量(F [kg])を、細霧冷房装置の噴霧速度(v [kg m⁻² h⁻¹])と温室の総床面積(A_{Total} [m²])で除して求められる。よって、 W_{FC} は以下の式(3)より求められる。

$$W_{FC} = P_{FC} \cdot F / (v \cdot A_{Total}) \quad \text{式(3)}$$

ここで F は、上述した Goto ら(2017)の値を用い、15369 kg とした。また、細霧冷房の能力は千葉大学園芸学研究科の実験圃場に設置してある細霧冷房装置を参考にし、 P_{FC} は 0.3 kW、 v は 1.68 kg m⁻² h⁻¹ と仮定した。想定した温室の A_{Total} は 168 m² であるため、 W_{FC} は 16.3 kWh であった。

電照の消費電力量(W_L)

温室 1 棟の年間の電照の消費電力量(W_L [kWh])は、1 灯あたりの電照光源の消費電力(P_L [kW])、温室 1 棟あたりの電照光源の設置数(N_L)、年間の電照光源の点灯時間(t_L)を用いて以下の式(4)より求められる。

$$W_L = P_L \cdot N_L \cdot t_L \quad \text{式(4)}$$

一般的なアオジソ栽培では、8 月下旬から 4 月上旬で夜間に 3–4 h の電照が行われており、電照設備としては、40–100 W の白熱電球が利用され、10a (1000 m²)あたり 50–100 個設置(0.05–0.1 個 m⁻²)される(川田ら, 1996)。本試算では、 P_L を 0.1 kW、 N_L を 5 灯(苗を定植した面積(86.4 m²)を分母にして、単位面積あたり約 0.06 個 m⁻²)と想定した。また、 t_L は 636 h(1 年あたり 212 日、1 日 3 時間点灯)と想定した結果、 W_L は 318 kWh であった。

UV 照射の消費電力量(W_{UV})

温室 1 棟の年間の UV 照射の消費電力量(W_{UV} [kWh])は、 W_L と同様に以下の式(5)より求められる。

$$W_{UV} = P_{UV} \cdot N_L \cdot t_{UV} \quad \text{式(5)}$$

ここで、UV 光源には、【試験 3-1】で使用した UV 蛍光灯(TL20W/01RS, Phillips Co., Inc.)を用いることとし、 P_{uv} を 0.023 kW(実測値)、 N_L を 87 灯(苗を定植した面積(86.4 m²)を分母にして、単位面積あたり約 1 個 m⁻²)とした。なお、 N_L は【試験 3-1】での単位面積あたりの設置灯数(2.6 個 m⁻²)と遮光率(50%)から決定した。1 日あたりの UV 照射時間は 16 h とし、1 年あたりの収穫回数(ケース 1、2)に応じて、それぞれ 91.2 日、146.1 日とした。すなわち、 t_L はそれぞれ 1460.8 h、2190.4 h とした。

3.4.2.4 生理活性物質の収量および生産に必要な消費電力量

温室 1 棟の 1 年あたりの生理活性物質(PA、RA、LU、ANT)の収量(Y [mg])は、収穫葉の生理活性物質(PA、RA、LU、ANT)の濃度(C [mg g⁻¹DW])、温室 1 棟での収穫 1 回あたりの葉の収量(L [g])、収穫回数(H)を用い、以下の式(6)より求めた。

$$Y = C \cdot L \cdot H \quad \text{式(6)}$$

ここで、 C は【試験 3-1】のデータ(2回の試験の平均値)を用いた(Table 3.3)。また、 L は、1株あたりの葉の収量(【試験 3-1】のデータを引用)に想定した温室1棟あたりの定植株数(1440株)を乗じて求め、UV照射の有無によらず43.2gとした。さらに、温室1棟の1年あたりの葉の収量は、 L にケース1、2の H を乗じて求めた。その結果、温室1棟の1年あたりの葉の収量は、ケース1で1313.3g、ケース2で1969.9gであった。

本試算では、それぞれのケースにおいて、温室1棟の1年あたりの消費電力量(W)を Y で除して、生理活性物質1mg生産するために必要な消費電力量($E[\text{kWh mg}^{-1}]$)を以下の式(7)より求めた。

$$E = W / Y \quad \text{式(7)}$$

Table 3.1 Overview of the simulation results (Tsukuba, Japan, Goto et al., 2017).

Month	Ambient weather				Estimated		Estimated requirement		
	Solar radiation (kJ m ⁻²)	Air temp. (°C)	R.H. (%)	Wind speed (m s ⁻¹)	Air temp. (°C)	R.H. (%)	Heating load (kJ month ⁻¹)	Cooling load in night time (kJ month ⁻¹)	Water required for fogging (kg month ⁻¹)
1	3.02E+05	2.0	67	2.20	16.8	31	3.44E+07	0.00E+00	0
2	3.29E+05	2.8	68	2.50	17.1	32	2.75E+07	0.00E+00	0
3	4.47E+05	6.1	69	2.60	17.8	36	1.98E+07	0.00E+00	0
4	4.77E+05	11.8	75	2.80	19.2	50	6.76E+06	0.00E+00	0
5	5.65E+05	16.6	77	2.60	21.5	57	1.33E+06	7.91E+04	115
6	4.74E+05	19.7	83	2.50	23.2	67	9.24E+04	3.81E+05	343
7	4.93E+05	23.6	83	2.20	25.1	76	2.76E+03	1.67E+06	5306
8	5.30E+05	25.5	82	2.50	25.9	80	0.00E+00	2.62E+06	8301
9	3.76E+05	21.1	83	2.30	23.9	71	3.10E+04	6.22E+05	1304
10	3.24E+05	15.2	80	2.10	20.0	61	2.51E+06	0.00E+00	0
11	2.64E+05	9.5	78	2.00	17.9	50	1.25E+07	0.00E+00	0
12	2.59E+05	4.1	73	2.00	16.8	38	2.80E+07	0.00E+00	0
Total							1.33E+08	5.36E+06	15369

The total heating load ($Q_{heating}$ [kJ]) and cooling load in night time ($Q_{cooling}$ [kJ]) were used for the test calculation of electric power consumption (EPC) of heat pump of annual cultivation in a greenhouse (W_{HP} [kWh]). The total water required for fogging was used for the test calculation of EPC for fog cooling of annual cultivation in a greenhouse (W_{FC} [kWh]).

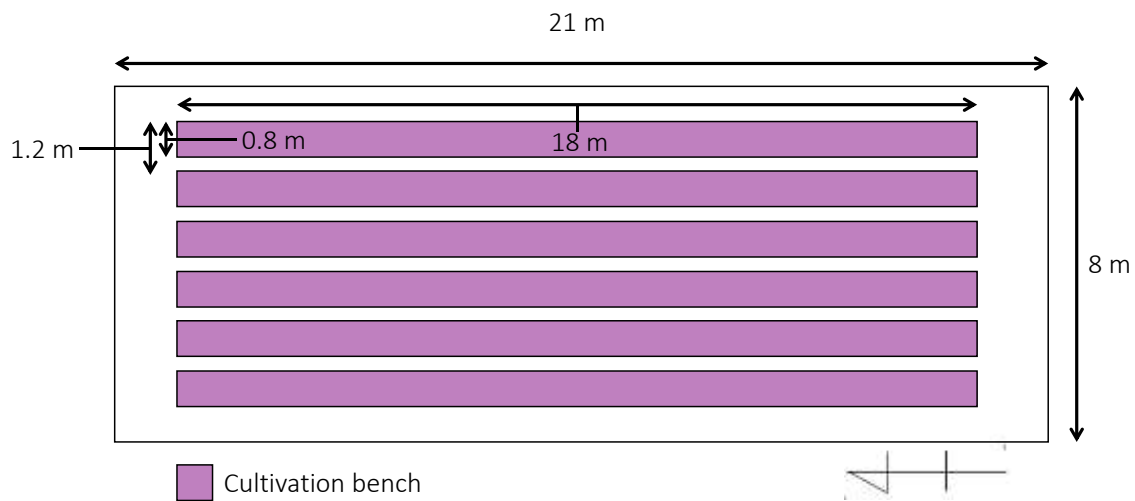


Fig. 3.18 The layout of an assumed greenhouse in a trial calculation of cultivation of red perilla plants.

Table 3.2 Variables and its value used in the present calculation.

Symbol	Variable name	Equation	Value*	Unit
A_{Total}	Floor area of greenhouse	(3)	168	m ²
C	Concentration of bioactive compounds	(5)	Show Table3.2	mg g ⁻¹ DW
E	Electricity cost in production of bioactive compounds	(7)		kWh mg ⁻¹
F	Water required for fogging	(3)	15369	kg
H	Annual harvesting frequency	(6)	30.4, 48.6	
N_L	Number of light source for lighting	(4)	5	
N_{UV}	Number of light source for UV irradiation	(5)	87	
P_{FC}	Power consumption for fog cooling	(3)	0.3	kW
P_L	Power consumption for lighting	(4)	0.1	kW
P_{UV}	Power consumption for UV irradiation	(5)	0.023	kW
$Q_{Cooling}$	Cooling load	(2)	1.33E+08	kJ
$Q_{Heating}$	Heating load	(2)	5.36E+06	kJ
t_L	Annual hours of lighting	(4)	636	h
t_{UV}	Annual hours of UV irradiation	(5)	1460.8, 2190.4	h
W	Total EPC of greenhouse	(1), (7)		kWh
W_{FC}	Total EPC of fogg cooling	(1), (3)	16.3	kWh
W_{HP}	Total EPC of heat pump	(1), (2)	12811	kWh
W_L	Total EPC of lighting	(1), (4)	318	kWh
W_{UV}	Total EPC of UV irradiation	(1), (5), (8)		kWh
Y	Yield of bioactive compounds	(6), (7), (8)		mg
L	Yield of leaf	(6)	43.2	g
v	Fogging velocity	(3)	1.68	g m ⁻² h ⁻¹

*Values in this column are given as input data. Other values are calculated using equation (1)–(8) with the input data. EPC indicated electric power consumption, and -UV and +UV indicated non-UV irradiation and UV irradiation condition, respectively.

Table 3.3 Concentrations of bioactive compounds in 5th node leaves of red perilla (C), and yield of leaves in a greenhouse (L).

	C (mg g ⁻¹ DW)				L (g)
	PA	RA	LU	ANT	
- UV	12.8	9.1	0.9	28.0	43.2
+UV	15.7	26.5	0.5	30.7	43.2

These values were referred from results in [Experiment 3–1].

3.4.3 結果

温室 1 棟の年間の総消費電力量(W)は、UV 照射を行わない場合(-UV)、13145.4 kWh であり、UV 照射を行う場合(+UV)、ケース 1 では 16065.3 kWh、ケース 2 では 17823.0 kWh であった(Table 3.4)。 W に占める温室 1 棟の年間の UV 照射の消費電力量(W_{UV})の割合(W_{UV}/W)は、ケース 1 で 18.2%、ケース 2 で 26.2%であった。

温室 1 棟の 1 年あたりの PA、RA、ANT の収量(Y)は、いずれのケースでも+UV が-UV よりも大となった(Table 3.5)。LU の Y については、いずれのケースでも+UV が-UV よりも小となった。

生理活性物質 1 mg 生産するために必要な消費電力量(E)は、いずれの生理活性物質についても UV 照射の有無によらず、ケース 2 でケース 1 よりも小となった(Table 3.6)。PA の E は、ケース 1 では+UV と-UV で同等であったが、ケース 2 では-UV で+UV よりも大となった。RA の E は、いずれのケースでも+UV が-UV よりも小となった。LU および ANT の E はいずれのケースでも+UV が-UV よりも大となった。

Table 3.4 Estimated electric power consumption (EPC [kWh]) of heat pump (W_{HP}), fog cooling (W_{FC}), lighting (W_L) and UV irradiation (W_{UV}) of annual cultivation in a greenhouse.

		EPC (kWh)					W_{UV}/W (%)
		W_{HP}	W_{FC}	W_L	W_{UV}	W	
-UV					0.0	13145.4	-
+UV	Case 1	12811.1	16.3	318	2919.9	16065.3	18.2
	Case 2				4677.5	17823.0	26.2

W_{UV}/W indicated percentages of W_{UV} per W . -UV and +UV indicate no-UV irradiation and UV irradiation condition, respectively. Annual harvesting frequency in case 1 and 2 was assumed to be 30.4 and 48.6, respectively.

Table 3.5 Estimated yield of bioactive compounds in red perilla of annual cultivation in a greenhouse (Y).

Case		Y (mg)			
		PA	RA	LU	ANT
-UV	1	16810	11951	1182	36772
	2	26929	19145	1893	58908
+UV	1	20618	34802	657	40318
	2	33030	55752	1052	64588

-UV and +UV indicated no-UV irradiation and UV irradiation condition, respectively. Annual harvesting frequency in case 1 and 2 was assumed to be 30.4 and 48.6, respectively.

Table 3.6 Electricity cost in production of bioactive compounds in red perilla of annual cultivation in a greenhouse (E).

Case		E (kWh mg^{-1})			
		PA	RA	LU	ANT
-UV	1	0.78	1.10	11.12	0.36
	2	0.49	0.69	6.94	0.22
+UV	1	0.78	0.46	24.47	0.40
	2	0.54	0.32	16.94	0.28

-UV and +UV indicated no-UV irradiation and UV irradiation condition, respectively. Annual harvesting frequency in case 1 and 2 was assumed to be 30.4 and 48.6, respectively.

3.4.4 考察

本試算では、+UV の温室 1 棟の年間の消費電力量は、最上位節の一部収穫を行う場合、収穫間隔を 2 節に 1 節を収穫する場合(ケース 1)で 1.22 倍、4 節に 3 節を収穫する場合(ケース 2)で 1.36 倍であった。他方、+UV の RA 濃度の収量はいずれの収穫間隔でも約 2.9 倍となり、増加した消費電力量に対して増加率は大きくなった。

生理活性物質の収量(Y)を収穫間隔で比較すると、いずれの成分についても UV 照射の有無によらず 4 節に 3 節収穫する場合で 2 節に 1 節収穫する場合よりも大となった。また、生理活性物質量(1 mg)を生産するために必要な消費電力量(E)については、RA では収穫間隔によらず+UV で-UV よりも小となり、その他の成分および収穫間隔については+UV と-UV で同等、または+UV で-UV よりも大となった。RA の E について収穫間隔で比較すると、UV 照射を行い、4 節あたり 3 節収穫する場合で最小となった。また、本試算の範囲では、収穫間隔によらず RA を 1 mg 生産するために必要な消費電力量は UV 照射を行う場合で UV 照射を行わない場合よりも小となることが示された。さらに、UV 照射を行い、収穫間隔を 4 節あたり 3 節にすることで最も少ない消費電力量で RA を生産することができると考えられた。

これらより、本試算の範囲では、最上位節の繰り返し収穫を行う場合、収穫前に 3 日間の UV 照射を行うことで PA、RA および ANT 収量が UV 照射を行わない場合よりも大となることが示された。さらに RA を 1 mg 生産するために必要な消費電力量は、UV 照射を行い、収穫間隔を 4 節あたり 3 節とすることで最小となることが示された。

3.5 第3章のまとめ

短期の UV 照射では、ピーク波長 310 nm の UV 波長を持つ光源で展開開始後 0-3 日に UV-B を照射し、照射終了後に最上位節の一部収穫を行うことで、生育抑制を伴わずに PA および RA の濃度が高い葉を得られることが示された。

長期の UV 照射では生育は抑制されないものの、PA 濃度は UV 照射区と UV 無照射で同程度となること、RA については第 3-4 節で、ANT については節位によらず濃度が低下することが示された。LU については、暗期の UV 照射によって第 3-4 節葉の濃度が UV 無照射よりも高くなるものの、第 5-6 節葉の濃度は UV 無照射よりも低くなり、株あたりの含有量としてはいずれも同程度となることが示された。これらより、長期の UV 照射は収穫部位全体の生理活性物質の濃度や含有量を増加させることができないため、生理活性物質の効率生産には不適であると考えられた。また、短期間の UV 照射を行う場合にも継続して UV を照射せずに、UV 照射を中断する必要があることが示唆された。

これらのことから、3 日間の UV 照射後、一部収穫で最上位節を収穫することで PA および RA 濃度が高い葉を収穫できると考えられた(【試験 3-1】)。さらに、【試験 3-1】の結果をもとに、温室でアカジソの生産を行う際に環境制御にかかる費用を試算した。その結果、最上位節の繰り返し収穫を行う場合、収穫前に 3 日間の UV 照射を行うことで PA、RA および ANT 収量が UV 照射を行わない場合よりも大となることが示された。さらに RA を 1 mg 生産するために必要な消費電力量は、UV 照射を行い、収穫間隔を 4 節あたり 3 節とすることで最小となることが示された。

以上より、最上位節を収穫対象とする一部収穫を用い、UV 照射を断続的に行い、収穫間隔を 4 節あたり 3 節とし、連続的に収穫を行うことで PA および RA 濃度の高い葉を効率的に生産できる可能性が示された。ただし、【試験 3-2】では長期間の UV 照射によって RA 濃度が低下したため、今後は断続的な照射がアカジソの生理活性物質に及ぼす影響についても調査する必要があると考えられた。

第4章 低培養液温が生育および生理活性物質に及ぼす影響

4.1 緒言

植物の生理活性物質の濃度は、しばしば低温によって増加することが報告されている。例えば、ANT 含有量が多いベニタデでは、明期のみ、または明期および暗期の気温を 10 °C または 15 °C に制御することで ANT 濃度が増加することが示されている(三浦・岩田, 1983)。また、シロイヌナズナ(Leyva et al., 1995) およびトウモロコシ(Christie et al., 1994) では、フェニルプロパノイドおよびフラボノイド生合成経路の律速段階の酵素であるフェニルアラニンアンモニアリアーゼ(PAL) およびカルコン酸シンターゼ(CHS)をコードする遺伝子の発現量は低気温(4 °C)で増加することが報告されている。アカジソの RA はフェニルプロパノイド、LU および ANT はフラボノイドであることから、低気温はこれらの生理活性物質の生合成を促進する可能性がある。さらに、レタスの水耕栽培では、PPFD 90–150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、気温 16–18 °C の時、培養液温度を 13–14 °C に制御すると ANT 濃度が増加したことが報告されている(Voipio and Autio, 1994)。他方、PA と一部同様の経路で生合成されるテルペンの例として、セイヨウオトギリソウの葉のベツリン酸濃度は気温を低くすることで(de Abreu and Mazzaferia, 2005)、ウラルカンゾウの根のグリチルリチン濃度は培養液温度を 10–15 °C の低温にすることで(吉野, 2013 修論)増加することが報告されている。

低気温下では、CO₂ の取り込みが不十分になりやすいため、強光に曝されると活性酸素種(ROS)による障害が起きやすい(桜井ら, 2008)。植物の体内で ROS が増大すると、ROS を除去し傷害を抑制するために、抗酸化物質の生成が誘導される。また、地下部温度の低下は吸水速度の低下による水分欠乏を引き起こし、植物は水ストレスに曝される。水ストレス状態では、気孔が閉鎖することで CO₂ の取り込み量が不十分となり、低気温下と同様に ROS による障害が起こる。RA、LU および ANT は抗酸化物質であるため、低気温または低培養液温によってこれらの成分が増加する可能性がある。

さらに、温室や人工光型植物工場では、養液栽培を用いることが多いため、地下部の温度を容易に制御でき、局所的な制御が可能である。気温についても、ダクトなどを使用することで局所的な制御が可能である。局所的な温度制御では、施設内の全ての気温を制御するよりもコストを抑えることができる可能性があり、同じ施設内でも、同時期に温度制御を行う区画と行わない区画を設けることができる。

既往の研究では、培養液温のみを低くした場合には地上部の乾物重は低下しないことが多く報告されており(Beauchamp and Lathwell, 1967; Cumbus and Nye, 1982)、食用のアカジ

ソでは気温を 15 °C 以下にすると、6 日間の処理でも地上部の生育が抑制されることが示された(付録 2)。そこで本章では、培養液温(【試験 4-1】)がアカジソの生育および生理活性物質濃度に及ぼす影響を調査し、生理活性物質の増加に効果があった培養液温条件で処理の期間を検討した(【試験 4-2】)。さらに、植物が正常に生育すると考えられる気温範囲で、異なる気温下での低培養液温度処理が生理活性物質の濃度に及ぼす影響を調査した(【試験 4-3】)。これらの結果から、アカジソの効率生産のための低培養液温処理方法および収穫方法を提案し、4.5 ではそれらの方法を用いて温室でアカジソの生産を行った場合に、生理活性物質生産に必要な電力コストを試算した。

4.2 【試験 4-1】 培養液温

4.2.1 目的

食用アカジソでは気温が低いほど ANT 濃度が増加するものの(付録 2, Fig. S2.2)、低気温処理では生育が抑制されることが示された(付録 2, Table S2.1)。既往の研究では、地下部温度を低くすることで多くの植物の生理活性物質の濃度が増加することが報告されており(Voipio and Autio, 1994; Sakamoto and Suzuki, 2015)、培養液温のみを低くした場合には地上部の乾物重は低下しないことが多く報告されている(Beauchamp and Lathwell, 1967; Cumbus and Nye, 1982)。食用アカジソでは低培養液温処理によって RA および ANT 濃度が増加し(付録 3, Figs. S3.2 and S3.4)、その際に地上部の生育は抑制されないことが示された(付録 3, Table S3.1)。そこで、本試験では地下部温度が薬用アカジソの生育および生理活性物質の濃度に及ぼす影響を調査した。

4.2.2 材料および方法

4.2.2.1. 供試植物および生育条件

供試材料は医薬基盤健康・栄養研究所から購入したアカジソ [*Perilla frutescens* L. Britton var. *acuta* (Kudo) f. *crispa* (Makino), 0657-79T] とした。種子を水道水に 24 h 浸漬後、ウレタンスポンジ上に播種した。播種後、ウレタンスポンジを 7 日間白色蛍光灯下(FHF32-EX-N-H, パナソニック(株))に置いた。播種後 18 日に 56 株を 13.6 L 容(54.4×38.4×6.5 cm)の湛液水耕栽培装置に移植し、エアポンプを用いてエアレーションを行った。培養液は 1/4 単位の OAT ハウス A 処方(OAT アグリオ(株))とした。移植前に約 10 L の培養液をコンテナに注ぎ、一日おきに新しい培養液を追加した。コンテナ内の全培養液は 2 週間ごとに更新した。処理開始前は培養液温を制御しなかった。栽培中の光源には白色蛍光灯を用い、環境条件は 2.2.1 と同様とした(Table 2.1)。

4.2.2.2 処理区

低培養液温処理は、第 5 節葉が展開開始後 0–3 日(播種後 39 日)に開始した。本研究の環境条件では、アカジソの 1 節葉は約 6 日ごとに展開したため、処理開始時の展開開始後日数は、第 3 葉で 12–15 日(最大展開)、第 4 節葉で 6–9 日、第 5 節葉で 0–3 日であった。分析対象葉は、第 3、第 4、第 5 節葉と、処理開始時には展開を始めていなかった第 6 節葉とした。処理区の培養液温は 10、12、15 °C(低培養液温)、20 °C(Control)に設定

し、6 日間その温度に維持した。処理期間中のコンテナ内の培養液量は 16 L とした。その他の環境条件は 2.2.1 と同様とした (Table 2.1)。

本研究では、培養液温の制御にはハンディクーラー (TRL-107NHF, トーマス科学(株)) および温度調節器 (TC-107, トーマス科学(株)) を用いた。さらに、培養液温を均一にするために水中ポンプを用い、エアポンプとエアストーンを用いてエアレーションを行った。

4.2.2.3 生育調査

生育調査は処理開始後 6 日に行い、部位別の生体重と乾物重および主枝の葉面積を測定した。本研究では、側枝は出芽直後で小さかったため、茎と葉を分けずに測定した。第 3 節葉以上の片方の葉は主要生理活性物質 (PA、RA、LU、ANT) の分析に用い、もう一方の葉は生体重と乾物重の測定に用いた。葉の含水率は、乾物重を生体重で除し、100 (%) を乗じた値 (乾物率) を 100 から減じて求めた。

主要生理活性物質の乾物重あたりの濃度は、サンプル中の含有量をサンプルの乾物重で除してもとめた。1 節葉あたりの PA、RA、LU、ANT の含有量はそれぞれの成分の乾物重あたりの濃度にそれぞれの節位の葉の乾物重を乗じてもとめた。

また、本試験では、培養液温度処理による植物体の蒸散量の変化を調査した。蒸散量の調査には各処理区 4 株用い、あらかじめ培養液温度を 10、12、15、20 °C に制御しておいたコンテナに移植し、移植直後からの 4 h (0–4 h) と移植後 24 h 後からの 4 h (24–28 h) の蒸散速度を重量法で測定した。

データは全て平均値を掲載した。処理区間の平均値は Tukey-Kramer 法を用いてエクセル統計 ((株) エスミ) 上で比較し、5% または 1% 水準で有意差検定を行った。

4.2.3 結果

4.2.3.1 生育

処理開始時の展開開始後日数は、第 3 葉で 12–15 日(最大展開)、第 4 節葉で 6–9 日、第 5 節葉で 0–3 日であり、第 6 節葉については展開開始前であった。処理終了時の主枝の節数は処理区間で差はなく、全て第 6 節まで出葉していた。処理終了時の展開開始後日数は、第 3 葉で 18–24 日、第 4 節葉で 12–15 日、第 5 節葉で 6–9 日、第 6 節葉で 0–3 日であった。培養液温の 6 日間の平均値は、10、12、15 および 20 °C 処理でそれぞれ 10.0、12.4、15.2 および 20.2 °C であった。乾物重および葉面積はいずれの処理区でも処理開始から増加し(Table 4.1)、6 日間の処理では、主枝の節数、生体重、葉面積および乾物重に処理区間で有意差はみられなかった。地上部含水率は、培養液温が低下するほど小となる傾向がみられ、特に培養液温 10 °C で生育した植物の地上部含水率は、培養液温 15 °C および 20 °C で生育した植物よりも有意に小となった。さらに、培養液温 12 °C 以下で処理開始後約 30 分に葉の萎れが観察され、90–120 分後に徐々に回復したことが観察された。

4.2.3.2 主要な生理活性物質

生理活性物質の含有量

処理終了時の主枝の葉の乾物量は、処理によらず第 3、第 4 および第 5 節が第 1、第 2 および第 6 節よりも大となり、主枝葉の総乾物重の 85%は第 3–5 節葉が占めていた(Fig. 4.1)。さらに、第 1 節および第 2 節は処理開始時に完全展開しており、それらの節位の葉の乾物重は、第 3、第 4、第 5 節よりも小さかった。したがって、本研究では第 3–6 節葉の生理活性物質の総含有量を株あたりの生物活性化合物含有量として示した。

ペリルアルデヒド(PA)

乾物重あたりの PA 濃度は、処理に関わらず全ての節位で、第 17 改正日本薬局方によって規定されている 0.08%より高かった(Fig. 4.2 (a))。また、PA 濃度はいずれの処理区でも処理終了時に最上位葉であった第 6 節葉で最大となり、下位葉ほど低かった。第 4(完全展開葉)および第 5(完全展開前)節葉における乾物重あたりの PA 濃度は処理区間で有意差がなかった。他方、第 6 節葉における PA の濃度は、培養液温 12 °C 以下で Control より高い傾向がみられた。株あたりの PA 含有量は処理区間で有意差がなかった(Fig. 4.1 (b))。

ロズマリン酸(RA)濃度

RA 濃度はいずれの処理区でも第 6 節葉で最小となり、下位葉ほど高かった。また、RA 濃度はすべての節位で培養液温が低下するほど増加した (Fig. 4.3 (a))。RA 含有量は培養液温の低下に伴い増加し、培養液温 10 °C でその他の処理区よりも有意に大となった (Fig. 4.3 (b))。

ルテオリン(LU)濃度

LU 濃度は、処理に関わらず第 6 節葉で最大となり、第 5 節葉以下では第 6 節の濃度よりも低かった (Fig. 4.4 (a))。培養液温 10 および 12 °C では第 6 節葉で最大となり、下位葉ほど小となった。また、各節位の LU 濃度は節位に関わらず培養液温 10 °C でその他の処理区よりも大となった。1 株あたりの LU 含有量は、培養液温 10 °C でその他の処理区よりも有意に大となった (Fig. 4.4 (b))。

アントシアニン(ANT)濃度

ANT 濃度は、Control では節位による差はなく、培養液温 15 °C 以下では第 6 節葉で最大となり、第 5 節以下では第 6 節よりも低かった (Fig. 4.5 (a))。また、ANT 濃度は、第 4 および第 5 節においては処理間で差はなかったが、第 6 節においては培養液温 15 °C 以下で Control よりも高い傾向がみられた。ANT 含有量は、処理区間で有意差がなかった (Fig. 4.5 (b))。

4.2.3.3 蒸散速度

移植直後からの 4 h の葉面積あたりの蒸散速度は、培養液温度を 12 °C または 10 °C にした場合に 20 °C よりも小となる傾向がみられた (Fig. 4.6)。移植後 24 h 後からの 4 h の葉面積あたりの蒸散速度は、培養液温度を 10 °C にした場合に低下する傾向がみられたが、移植直後ほど処理区間差はみられなかった。

Table 4.1 Effects of nutrient solution temperature on dry weights and water content of red perilla plants.

Nutrient solution temperature (°C)	Dry weight (g)				Total	Water content of leaves in main shoot (%)	Total leaf area in main shoot (cm ²)
	Above part		Lateral shoots	Root			
	Main shoot Leaves	Stem					
Before the start of treatment	0.44	0.10	-	0.07	0.61	87.9	217
10	0.81	0.18	0.12	0.17	1.28	82.8 b	276
12	0.79	0.19	0.19	0.21	1.37	84.7 ab	292
15	0.79	0.19	0.17	0.27	1.42	85.9 a	323
20	0.84	0.18	0.20	0.29	1.51	85.2 a	309

The plants were harvested at six days after the treatment began ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

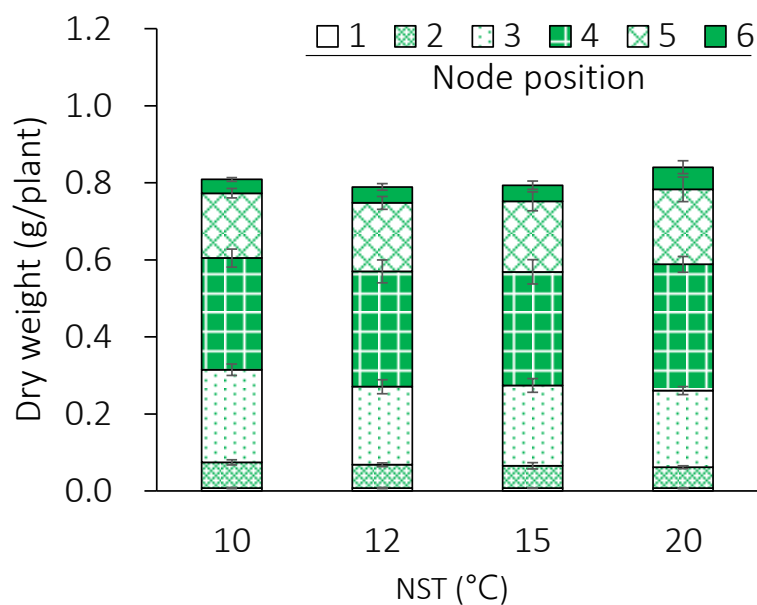


Fig. 4.1 Effects of nutrient solution temperature (NST) on dry weight of leaves in the main shoot. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

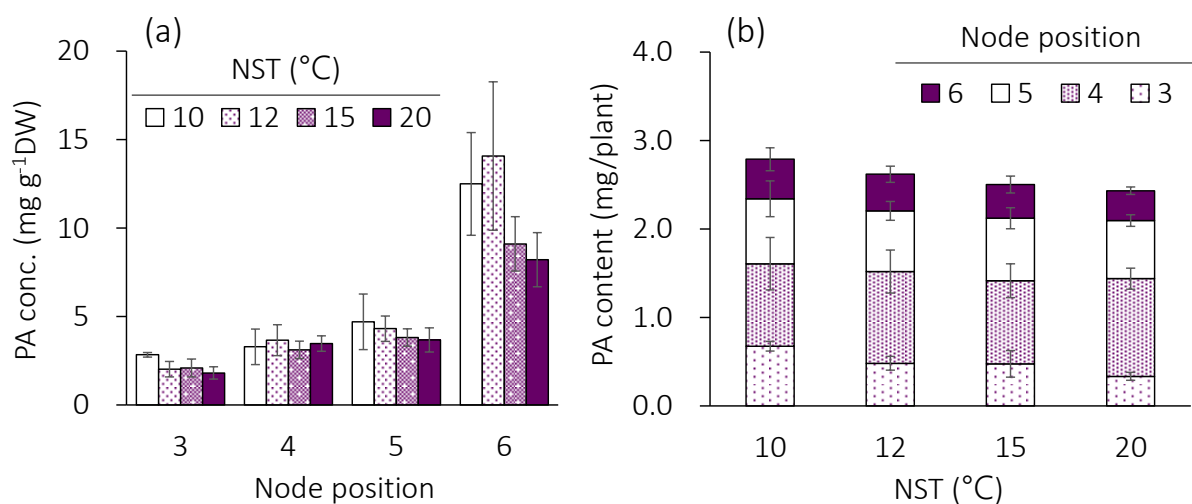


Fig. 4.2 Effects of nutrient solution temperature (NST) on the concentration by node (a) and content in whole plant (b) of PA. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

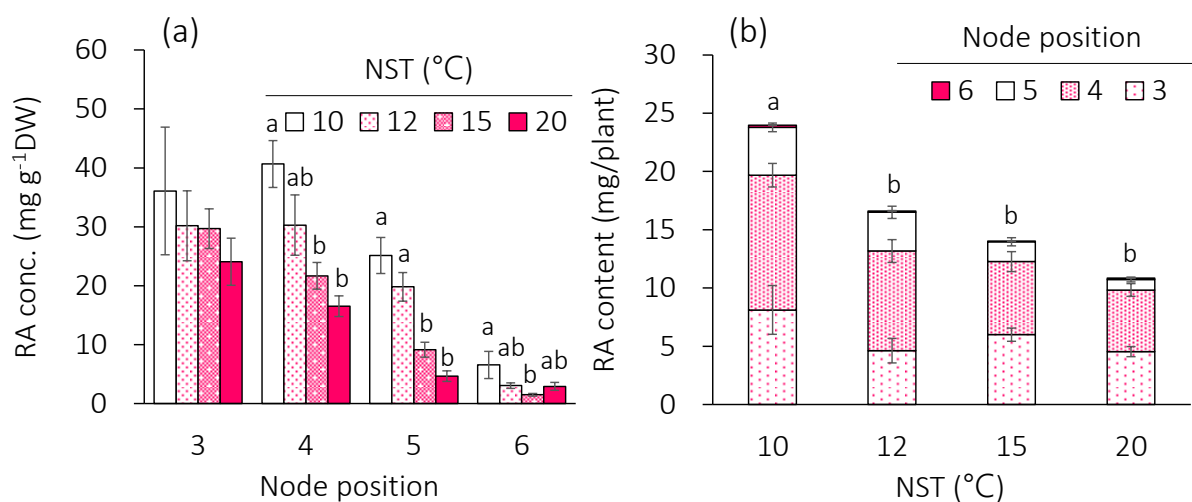


Fig. 4.3 Effects of nutrient solution temperature (NST) on the concentration by node (a) and content in whole plant (b) of RA. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among treatments (b) and that at same node (b) at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

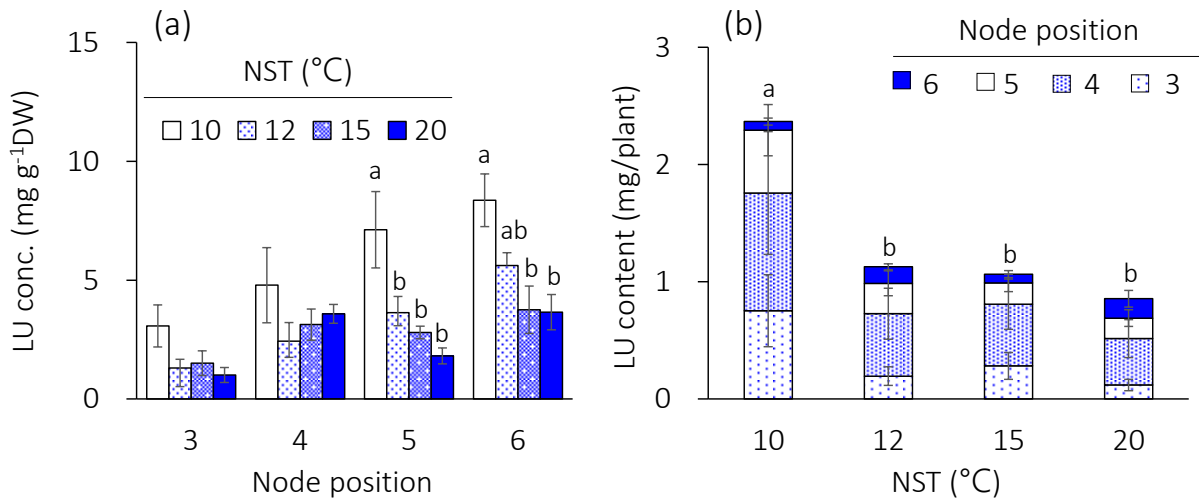


Fig. 4.4 Effects of nutrient solution temperature (NST) on the concentration by node (a) and content in whole plant (b) of LU. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among treatments (b) and that at same node (a) at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

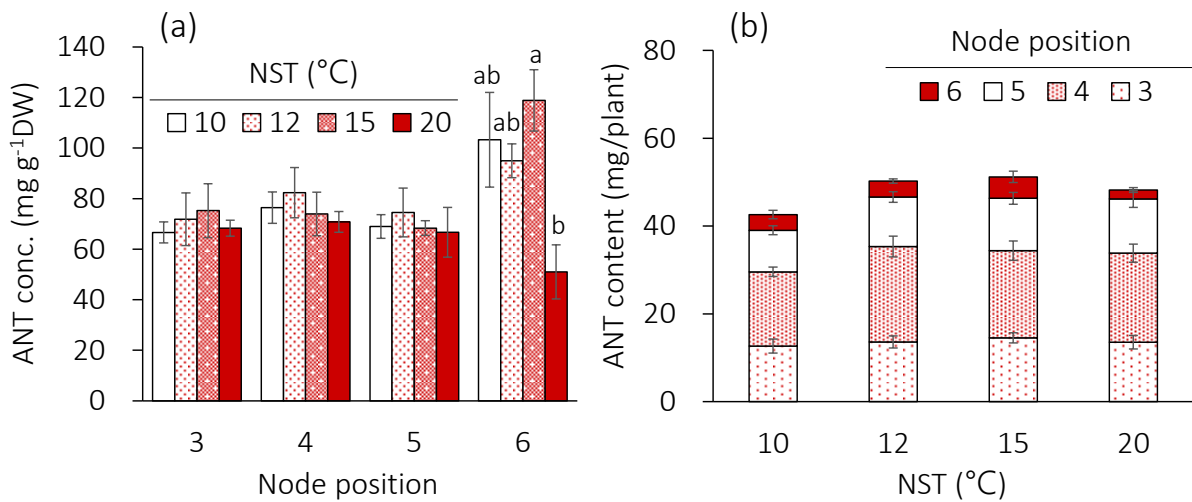


Fig. 4.5 Effects of nutrient solution temperature (NST) on the concentration by node (a) and content in whole plant (b) of ANT (calculated as cyanidin-3-glucoside (C3G) equivalent). Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among treatments at same node (a) at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

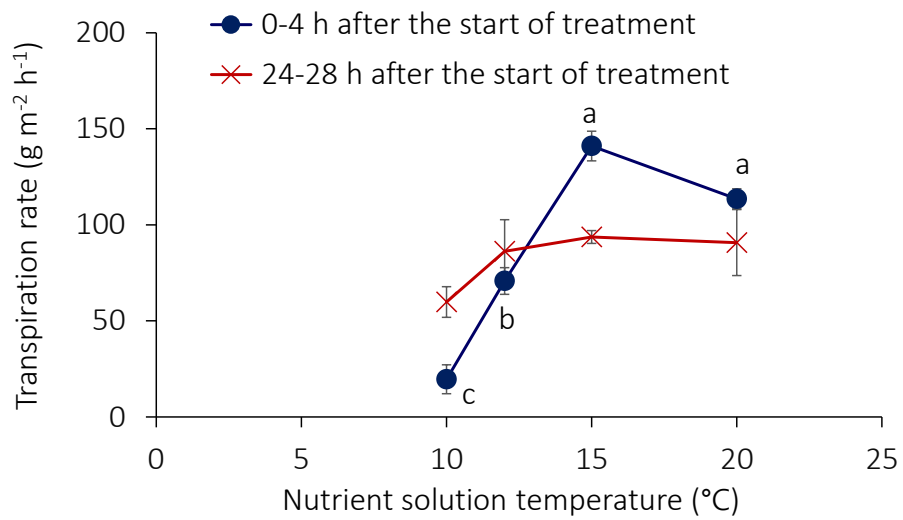


Fig. 4.6 Effects of nutrient solution temperature (NST) on transpiration rate per leaf area of perilla plant 0–4 h and 24–28 h after the start of nutrient solution temperature treatment. Vertical bars indicate SE ($n = 4$). Different letters indicate significant differences among the NST treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

4.2.4 考察

本試験では、培養液温 12 °C 以下では処理開始時に葉の急激な萎れが観察され、この際、吸水量の減少による水ストレスが植物に付与されたと考えられる。既往の研究では、培養液温 12-30 °C の範囲では根域温度の低下とともにキュウリ (Tachibana, 1987) やイネ (Takeshima, 1964; Nagasuga et al., 2011) の吸水量が減少したと報告されている。本試験でも、処理開始後 1-4 h の蒸散速度は培養液温 12 °C 以下で急激に低下したことから、温 12 °C 以下の低培養液温処理によって吸水量が抑制されたと考えられた。一般に、葉の水ポテンシャルが減少すると、植物内部の水分欠乏を抑制するために、気孔が徐々に閉鎖し、蒸散量を低下させる (Tezara et al., 1999)。本試験でも培養液温 12 °C 以下では処理開始後 90-120 min で萎れが回復したことから、この間に蒸散量の調節(低下)により植物内部の水分欠乏が緩和されたと考えられた。また、処理開始後 24-28 h の蒸散速度の処理区間の差は処理開始後 0-4 h での差よりも小さくなっていることから、処理開始後に吸水量の調節も行われたと考えられた。処理開始後 6 日目の植物体の外観は処理区による差はみられなかったものの、地上部の含水量は培養液温が低いほど低かった。このことから、培養液温 12 °C 以下では水ストレスは 6 日間継続していたと示唆された。また、本研究の範囲では 6 日間の低 NST 処理によって総乾物重の有意な低下はみられなかったが、前述のように植物体は継続的な水ストレス状態にあったと考えられ、処理の期間を延長した場合には総乾物重が低下する可能性があると考えられた。

乾物重あたりの RA および LU 濃度は節位によらず培養液温 10 °C で Control よりも大となったが、PA および ANT 濃度は第 6 節葉のみで低培養液温が Control よりも大となった。よって、低培養液温によるそれぞれの生理活性物質の濃度の増加は、葉齢によって異なることが示唆された。

一般的に、活性酸素種 (ROS) の生成量は、水ストレス条件下で増加することが知られており (Ksouri et al., 2007)、環境ストレス下での RA、LU、ANT などの抗酸化成分の生合成および蓄積量の増加は、ROS の生成量の増加によって誘導されることが多く報告されている (Blokina et al., 2003)。また、Voipio and Autio (1994) は、気温 16-18 °C 下で培養液温を 13-14 °C に制御することで培養液温を制御しないよりもレタスの ANT 濃度が増加することを報告している。Sakamoto and Suzuki (2015) は、水耕栽培において培養液温 10 °C で NST 15 °C 以上よりも赤系リーフレタスの ANT および総フェノールの濃度、抗酸化能が増加したことを報告した。さらに、Gazula ら (2005) は、気温 20-30 °C 下では、気温が低いほどレタス

葉の ANT 濃度が増加することを報告した。さらに、フェニルプロパノイドおよびフラボノイドの生合成経路における律速酵素である PAL をコードする遺伝子の発現レベルが 4 °C の低気温によってシロイヌナズナ (Leyva et al., 1995) およびトウモロコシ (Christie et al., 1994) で上昇したことが報告されている。よって、フェニルプロパノイドである RA や、フラボノイドである LU および ANT の生合成は低培養液温で増加した可能性がある。

本試験では 6 日間の低培養液温処理によって葉の乾物重は低下せず、培養液温 10 °C によって全ての節位で RA および LU 濃度が増加したことで、RA および LU の株あたりの含有量が 2 倍となった。さらに、培養液温 10 °C では RA および ANT 濃度および含有量も低下しなかった。よって、本試験の 6 日間(短期)の低培養液温(10 °C)処理は、アカジソの RA および LU 濃度および収量を Control の 2 倍に増加させる有効な方法と考えられた。今後は、温室での栽培を想定し、気温が異なる場合に低培養液温処理によって同じ効果が得られるかを調査する必要があると考えられた。

以上より、6 日間の低培養液温処理(10 °C)によって葉の乾物重や PA および ANT 濃度を低下させずに、全ての節位で RA および LU 濃度が増加することが明らかとなった。よって、本試験の 6 日間(短期)の低培養液温(10 °C)処理は、全体収穫でも一部収穫でも収穫部位全体の RA および LU 濃度および含有量を増加させることができ、最上位節のみの一部収穫では、PA および ANT 濃度が高い葉を得られると考えられた。アカジソの生理活性物質の効率的な生産に有効な方法であると考えられた。

4.3 【試験 4-2】 培養液温処理の期間

4.3.1 目的

【試験 4-1】より、6 日間の低培養液温処理(10 °C)によって葉の乾物重や PA および ANT 濃度を低下させずに、全ての節位で RA および LU 濃度が増加することが明らかとなった。ただし、処理開始後 6 日の含水率は低培養液温処理区で Control(培養液温 20 °C)よりも小となったことから、植物体は継続的な水ストレス状態にあったと考えられ、処理の期間を延長した場合には総乾物重が低下する可能性がある。本試験では、生育の抑制や PA および ANT 濃度の低下を伴わずに RA および LU 濃度を増加させられる低培養液温処理の期間を明らかにするために、低培養液温処理の期間を検討した。

4.3.2 材料および方法

供試材料および栽培方法は、4.2.2 と同様とした。

本試験では、分析対象葉を第 5 節葉とし、第 5 節葉が展開開始後 0 日に達した時点で試験を開始した。処理区は、培養液温度を 10 °C に制御した LT 区、培養液温を制御しない Control を設けた。また、本試験では、LT 区の湛液水耕装置内の培養液温度は処理開始前に 10 °C まで下げ、そこに試験に用いた植物を移植した。LT の培養液温は 4.4.1 と同様の方法で制御した。

処理開始後 0、3、6、9、12 日に総乾物重、第 5 節葉の乾物重、第 5 節葉の生理活性物質の調査を行った。生理活性物質の濃度の分析および算定方法は 2.2.4 と同様とした。試験は 2 回行った。

4.3.3 結果

4.3.3.1 生育

地上部乾物重は、2回の試験とも処理開始後6日まではControlとLTで差はなく、処理開始後9日以降はLTがControlよりも有意に小となった(Fig. 4.7)。他方、根の乾物重は、2回の試験とも処理開始後3日からLTがControlよりも有意に小となった(Fig. 4.8)。生理活性物質濃度の調査を行った第5節葉の乾物重は、2回の試験とも処理開始後6日まではControlとLTに差はなく、処理開始後9日以降でLTがControlよりも優位に小となった(Fig. 4.9)。地上部の含水率は、2回の試験とも処理開始後6日以降にLTでControlよりも有意に小となった(Fig. 4.10)。

4.3.3.2 生理活性物質

ペリラルデヒド(PA)

PA濃度は、2回の試験ともControlでは展開開始後0日で最大となり、LTでは展開開始後0日(2回目の試験)または3日(1回目の試験)で最大となった(Fig. 4.11)。ControlとLTで比較すると、PA濃度は2回の試験とも処理開始後3日でControlよりもLTで大となる傾向がみられ、処理開始後9日以降はControlとLTに差はみられなかった。

ローズマリン酸(RA)

RA濃度は、2回の試験ともControlでは展開開始後9日以降で展開開始後6日以前よりも大となる傾向がみられた(Fig. 4.12)。LTのRA濃度は、展開開始後3日から6日にかけて低下し、展開開始後6日から9日にかけて増加する傾向がみられた。ControlとLTで比較すると、RA濃度は、2回の試験とも処理開始後3および9日でControlよりもLTで有意に大となり、処理開始後12日では、ControlとLTに差はみられなかった。

ルテオリン(LU)

LU濃度は、2回の試験ともControlでは展開開始後0日で最大となり、LTでは展開開始後0日(1回目の試験)または3日(2回目の試験)で最大となった(Fig. 4.13)。ControlとLTで比較すると、LU濃度は、2回の試験とも処理開始3および12日ではLTでControlよりも大となる傾向がみられ、処理開始後6および9日はControlとLTで差はみられなかった。

アントシアニン(ANT)

ANT 濃度は 2 回の試験とも、Control および LT とともに展開開始後日数による変動はみられなかった(Fig. 4.14)。Control と LT で比較すると、ANT 濃度は、処理開始後 6 日までは Control と LT に差はなく、処理開始後 9 日以降に LT で Control よりも大となる傾向がみられた。

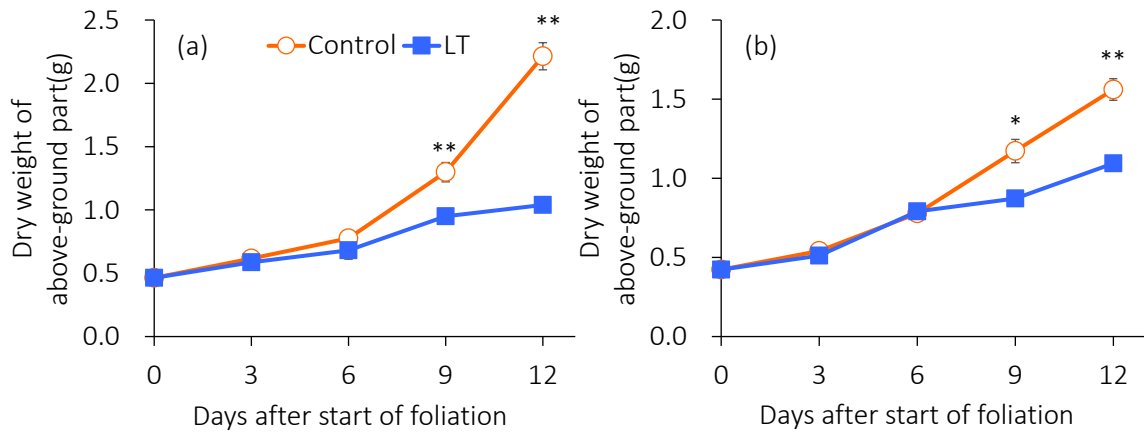


Fig. 4.7 Time-course of dry weight of above-ground part in red perilla plant under low nutrient solution temperature (LT). (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Nutrient solution temperature (NST) of LT was set at 10 °C and the average NST of Control was about 23.5 °C. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). * and ** indicate significant differences between Control and LT at $P < 0.05$ and 0.01 by t -test.

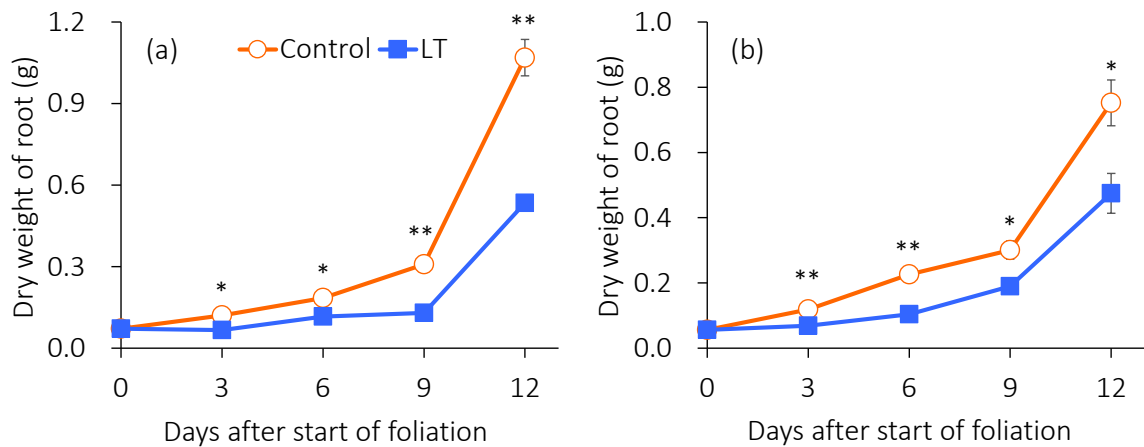


Fig. 4.8 Time-course of dry weight of root in perilla plant under low nutrient solution temperature (LT). (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Nutrient solution temperature (NST) of LT was set at 10 °C and the average NST of Control was about 23.5 °C. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). * and ** indicate significant differences between Control and LT at $P < 0.05$ and 0.01 by t -test.

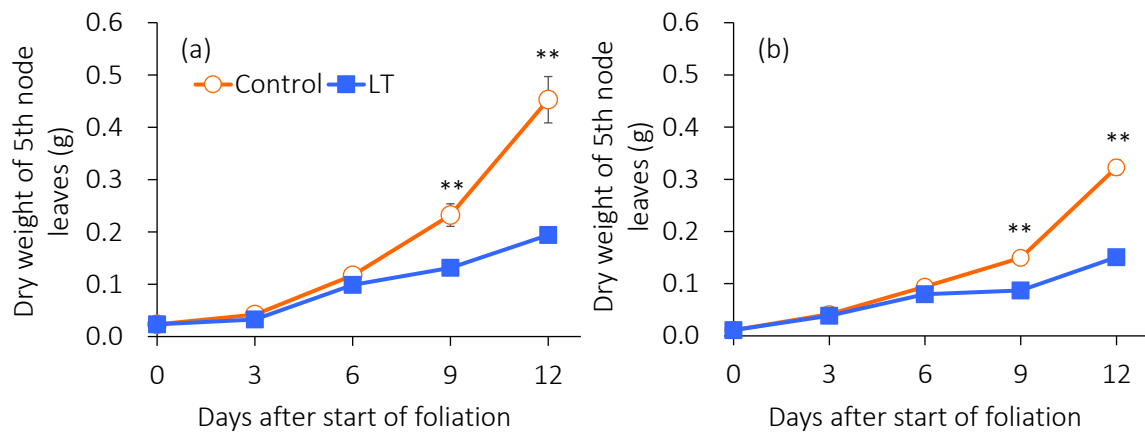


Fig. 4.9 Time-course of dry weight of leaves at 5th node in main shoot of perilla plant under low nutrient solution temperature (LT). (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Nutrient solution temperature (NST) of LT was set at 10 °C and the average NST of Control was about 23.5 °C. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). ** indicates significant differences between Control and LT at $P < 0.01$ by t -test.

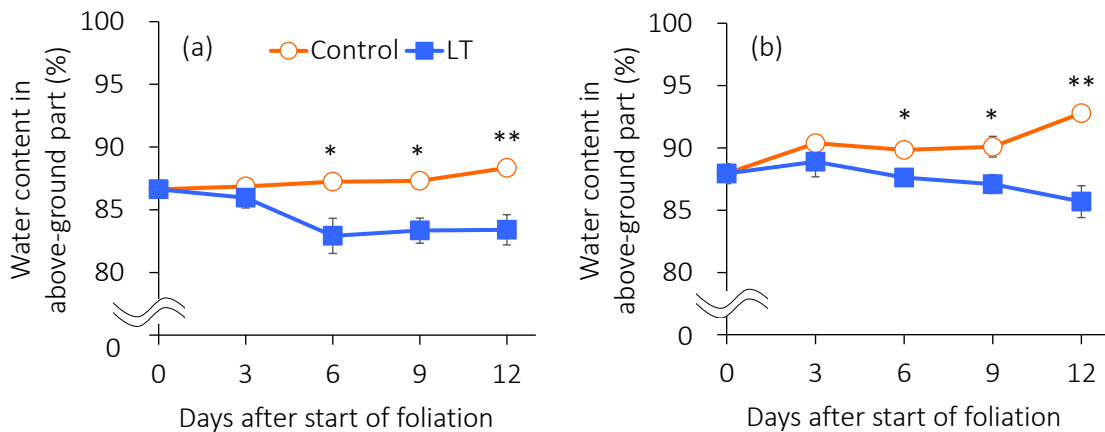


Fig. 4.10 Time-course of water content in above-ground part of perilla plant under low nutrient solution temperature (LT). (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Nutrient solution temperature (NST) of LT was set at 10 °C and the average NST of Control was about 23.5 °C. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). * and ** indicates significant differences between Control and LT at $P < 0.05$ and 0.01 by t -test.

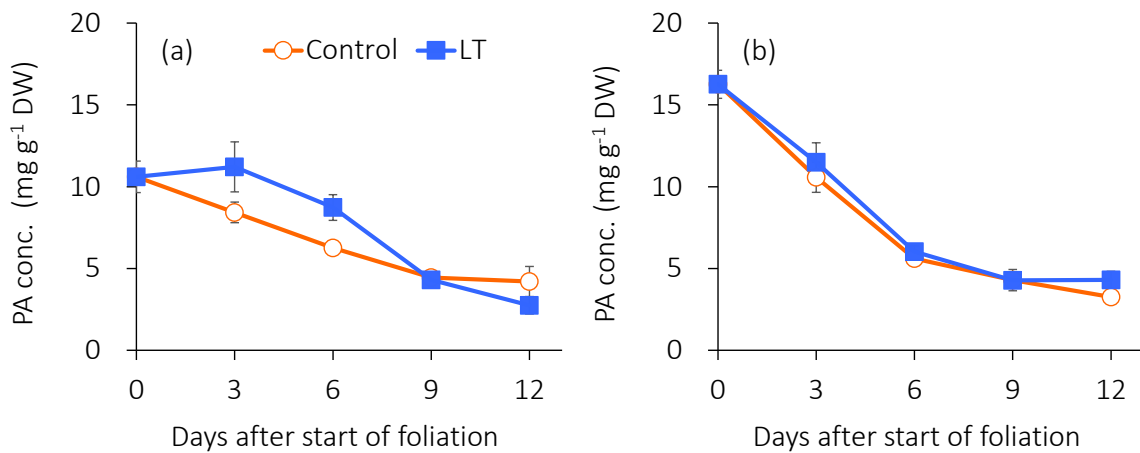


Fig. 4.11 Time-course of perillaldehyde (PA) concentration of 5th node leaves in perilla plant under low nutrient solution temperature (LT). (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Nutrient solution temperature (NST) of LT was set at 10 °C and the average NST of Control was about 23.5 °C. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

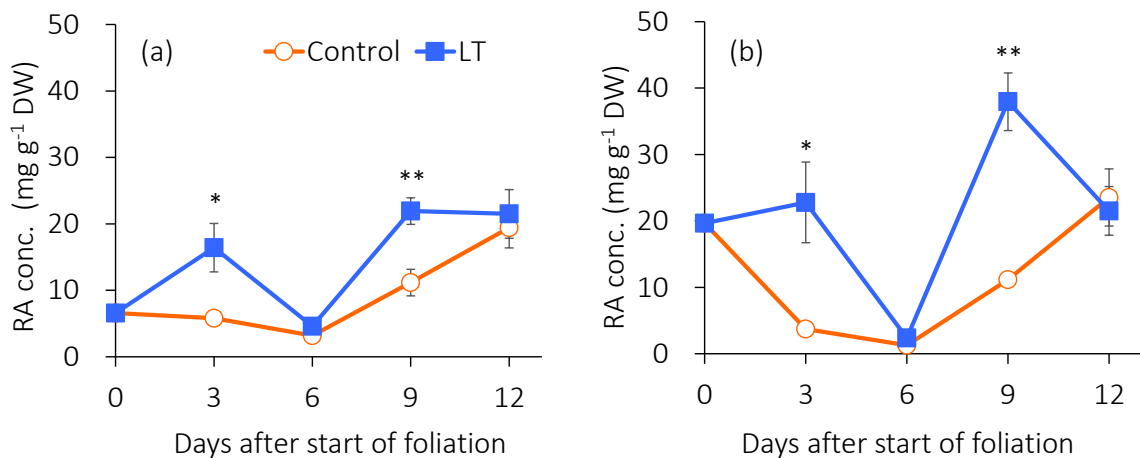


Fig. 4.12 Time-course of rosmarinic acid (RA) concentration of 5th node leaves in perilla plant under low nutrient solution temperature (LT). (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Nutrient solution temperature (NST) of LT was set at 10 °C and the average NST of Control was about 23.5 °C. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). * and ** indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$ and 0.01 by t -test.

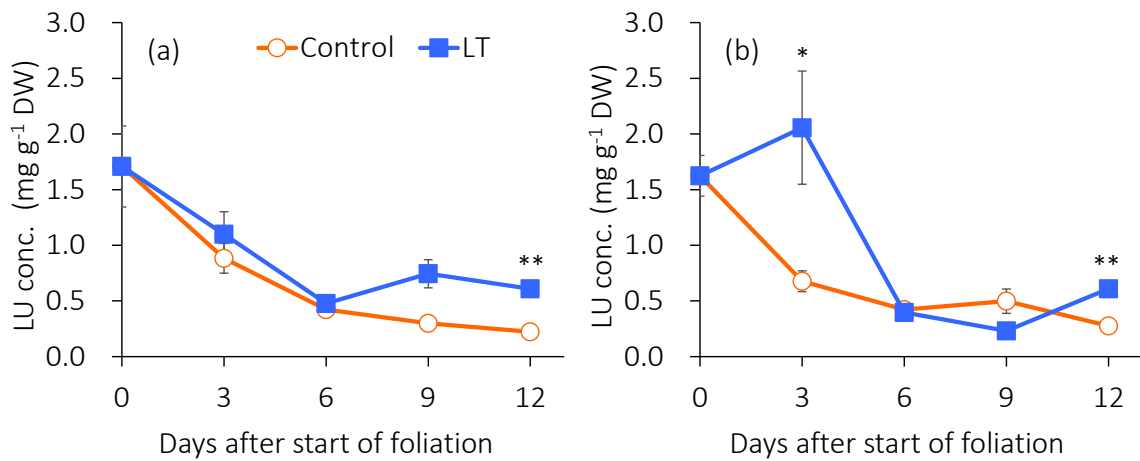


Fig. 4.13 Time-course of luteolin (LU) concentration of 5th node leaves in perilla plant under low nutrient solution temperature (LT). (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Nutrient solution temperature (NST) of LT was set at 10 °C and the average NST of Control was about 23.5 °C. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). * and ** indicate significant difference among treatments at $P < 0.05$ and 0.01 by t -test.

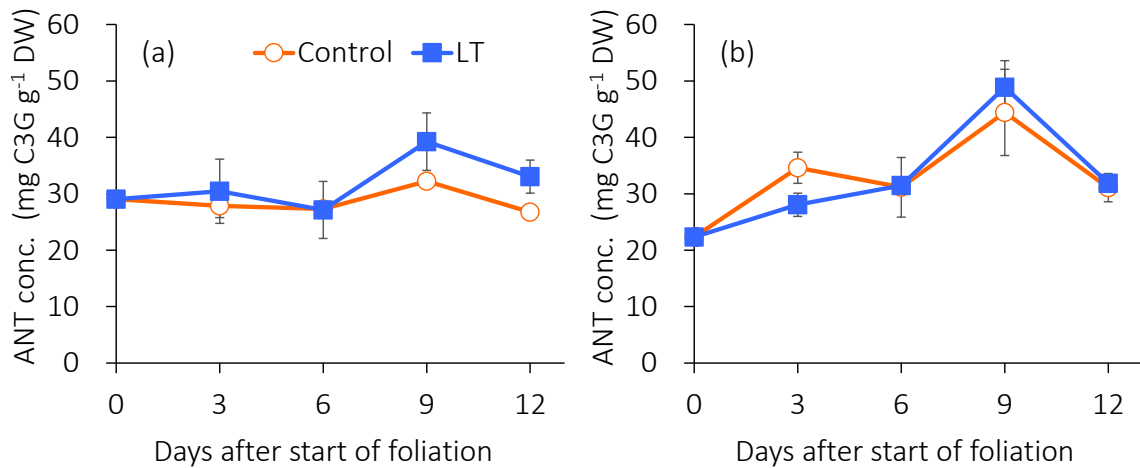


Fig. 4.14 Time-course of anthocyanin (ANT) concentration (calculated as cyanidin-3-glucoside (C3G) equivalent) of 5th node leaves in perilla plant under low nutrient solution temperature (LT). (a) and (b) show the results of the 1st and 2nd experiment, respectively. Nutrient solution temperature (NST) of LT was set at 10 °C and the average NST of Control was about 23.5 °C. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

4.3.4 考察

試験 4-1 と同様に、本試験では培養液温を 10 °C に制御した LT で処理開始後 30 min で一時的に萎れた。これは、地下部の低温による吸水量の低下が原因であると考えられた。地上部乾物重は処理開始後 6 日まで Control と LT に差がなかったが、根の乾物重は処理開始後 3 日以降に LT で Control よりも有意に小となった。これらの結果から、収穫部位である地上部の乾物重を低下させずに低培養液温処理を行える処理期間は 6 日までであり、9 日以上処理を継続させると、地上部の乾物重は低下することが示された。

一般的に、10–35 °C 程度の温度範囲では、植物体の呼吸速度は温度が高いほど高く、10 °C 上昇した時に約 2 倍になる(山岸, 1995)。本試験の Control と LT の培養液温はそれぞれ、23.5 °C および 10 °C であり、LT で Control よりも 13.5 °C 低かった。このため、根の呼吸は Control で LT よりも大きく、炭素消費量は Control で大となっていたと考えられる。しかしながら、乾物重は LT で Control よりも小となったことから、地下部に分配された光合成産物の量は LT で Control よりも少なかった可能性がある。トマトでは、気温 25 °C の時に地下部の温度を 10–15 °C に制御すると、地下部の温度をそれ以上に制御した場合よりも根への光合成産物の分配量が少なくなることが報告されている(宍戸ら, 1994)。これらのことから、本試験においても地下部の低温により、地下部への光合成産物の分配量が少なくなったことで地上部よりも先に根の乾物重が低下したと考えられた。

PA 濃度については低培養液温処理でも短期 UV 照射の結果と同様に展開開始 6 日までの葉で増加する傾向がみられた。このため、UV 照射および低培養液温処理では展開初期の葉でのみ PA 濃度が増加することが示された。他方、RA 濃度は処理開始後 9 日まで LT で Control よりも大となったが、LU 濃度は処理開始後 3 および 12 日に LT で Control よりも大となり、その他の調査日では Control と同程度の値となった。PA 濃度は【試験 4-1】と同様に処理開始後 6 日(展開開始後 6 日)の葉では LT で Control よりも大となる傾向がみられたが、展開開始後 9 日以降は Control と LT で同程度となった。ANT については処理期間によらず Control と LT で同程度となった。RA および LU 濃度が LT で増加した理由については、4.2.4 と同様に地下部温度の低下により、吸水が抑制されたことで地上部が水ストレス状態になったことで ROS の発生量が増加したことが一因となっていると考えられる。

以上より、処理期間を 6 日とした場合、展開後日数によらず LU および RA 濃度が生育抑制や PA および ANT の濃度低下を伴わずに増加するものの、処理期間が 9 日以上になると生育が抑制されることが示された。よって、低培養液温の期間は 6 日が適当と考えられた。

4.4 【試験 4-3】 低培養液温処理中の気温

4.4.1 目的

【試験 4-1】および【試験 4-2】の結果より、低培養液温処理(10 °C)によって葉の乾物重や PA および ANT 濃度を低下させずに全ての節位で RA および LU 濃度が増加すること、処理の期間は 3-6 日が適していることが示された。一般的に、地下部の温度が低下すると、根からの吸水が抑制され、蒸散と吸水のバランスが崩れることで地上部が水ストレス状態になる。水ストレス下での生理活性物質の生合成の促進は、植物体内で活性酸素種(ROS)の発生量が増加することが一因であると考えられる。蒸散速度は、光強度や気温などに影響を受けるため、これらの条件が異なる場合は低培養液温処理が植物の生育や生理活性物質濃度に及ぼす影響は異なる可能性がある。さらに、フェニルプロパノイドやフラボノイドの生合成に関連する酵素の遺伝子の発現レベルは気温に影響を受けることが知られており(Chennupati et al., 2012; Leyva et al., 1999)、RA はフェニルプロパノイド、ANT および LU はフラボノイドであるため、これらの化合物の生合成は気温の影響を受ける可能性がある。そこで、本研究では、植物の生育が正常に行われる気温の範囲で、気温が低培養液温処理(10 °C)中のアカジソの生育および節位ごとの主要な生理活性物質の濃度に及ぼす影響を明らかにした。

4.4.2 材料および方法

供試材料および栽培方法は、4.2.2 と同様とした。

処理は、播種後 42 日に開始し、人工気象室で行った。明期光源はメタルハライドランプとした。処理区は気温(明/暗期)を 20/15、25/20、30/25 °C に制御した人工気象室内に培養液温度を制御しない NC(Not controlled)、培養液温度を 10 °C に制御する LT(Low temperature)を設置し、計 6 処理区とした(Table 4.2)。いずれの気温下でも NC の培養液温度は昼夜の温度差によって変動したが、Table 4.2 では処理期間中(6 日間)の平均値で示した。湛液水耕装置内の培養液量は 16 L とし、低温処理区の湛液水耕装置内の培養液温度を試験開始前に 10 °C まで下げ、そこに試験に用いた植物を 14 株ずつ移植した。低温処理は 6 日間行い、処理開始 6 日後に生育および生理活性物質の濃度を調査した。培養液温の制御は 4.3.2 と同様とした。

また、本試験では、異なる気温下での培養液温処理による植物体の蒸散量の変化を調査した。蒸散量の調査には各処理区 4 株を用い、あらかじめ培養液温度を 10 °C に制御し

ておいたコンテナに移植し、移植直後から 4 h(0–4 h)の明期中の蒸散速度を重量法で測定した。また、測定開始後 4 h で吸水した培養液の重量から吸水速度を算定した。

Table 4.2 Environmental conditions during the experimental period.

Treatment code of nutrient solution temperature	NC	LT	NC	LT	NC	LT
Setting air temperature (light/dark) (°C)	20/15		25/20		30/25	
Air temperature (light/dark) (°C)	19.8/16.0		25.4/21.1		30.9/26.2	
Relative humidity (%)	70		68		67	
CO ₂ conc. (μmol mol ⁻¹)	1020		1007		1017	
PPFD (μmol m ⁻² s ⁻¹)	202	204	202	201	201	202
Nutrient solution temperature (°C)	17.2	9.4	22.3	9.3	27.4	9.3

The values were averaged for the experimental period (six days). NC (not controlled) and LT (low temperature) indicate treatments with different nutrient solution temperatures. Nutrient solution temperature in NC during the experimental period changed with changing air temperature in the light and dark period. PPFD: photosynthetic photon flux density.

4.4.3 結果

4.4.3.1 生育

処理開始後 6 日の主枝の節数および葉の乾物重は、NC および LT 間、気温間に差はなかった (Table 4.3)。主茎の乾物重は、NC および LT 間の差はなく、NC では気温が低いほど小となり、LT では気温 30/25 °C でその他の気温下よりも大となる傾向がみられた。側枝の乾物重は気温によらず LT で NC よりも小となり、気温間の差はなかった。根の乾物重は、気温によらず LT で NC よりも小となり、NC では気温が低いほど小、LT では気温間の差はなかった。総乾物重は、LT で NC よりも小となり、NC では気温が低いほど小となる傾向がみられた。地上部の含水率は、気温によらず LT で NC よりも小となり、NC および LT で気温が低いほど小となる傾向がみられた。二元配置の分散分析の結果、培養液温は側枝および根の乾物重、総乾物重、地上部の含水率に、気温は主枝および根の乾物重、地上部の含水率に有意な影響を及ぼすことが示された。

4.4.3.2 生理活性物質

ペリルアルデヒド (PA)

第 4 節葉の PA 濃度は、NC および LT とも気温が高いほど大となる傾向が見られた (Fig. 4.15)。第 6 節葉の PA 濃度は、気温によらず LT で NC よりも大となる傾向がみられ、NC で気温 20/15 °C がその他の気温よりも大、LT で気温が低いほど大となる傾向がみられた。他方、第 5 節葉の PA 濃度に処理区間の差はみられなかった。二元配置の分散分析の結果、PA 濃度は第 4 節葉では気温に、第 6 節葉では培養液温に有意な影響を受けることが示された (Table 4.4)。

ロズマリン酸 (RA)

全節位の RA 濃度は、気温によらず LT で NC よりも大となる傾向がみられ、NC では節位によらず気温が低いほど大となった (Fig. 4.16)。さらに、RA 濃度は節位によらず NC および LT とも気温 20/15 °C で最大となった。二元配置の分散分析の結果、RA 濃度は第 6 節葉では培養液温に、節位によらず気温に有意な影響を受けることが示された。

ルテオリン (LU)

全節位の LU 濃度は、気温によらず LT で NC よりも大となる傾向がみられ、第 5 節およ

び第 6 節葉において、気温が低いほど大となる傾向が見られた (Fig. 4.17)。他方、第 4 節葉の LU 濃度は気温が高いほど大となる傾向がみられた。二元配置の分散分析の結果、RA 濃度は第 4 および第 6 節葉では培養液温および気温に有意な影響を受けることが示された。

アントシアニン (ANT)

ANT 濃度は、第 6 節葉において気温によらず LT で NC よりも大、NC および LT で気温が低いほど大となる傾向がみられた (Fig. 4.18)。第 5 節および第 4 節葉については気温や培養液温によらず同等の ANT 濃度となった。二元配置の分散分析の結果、ANT 濃度は第 6 節葉では培養液温および気温に有意な影響を受けることが示された。

4.4.3.3 蒸散速度および吸水速度

処理開始 0–4 h の蒸散速度は、気温によらず LT で NC よりも有意に小となった (Fig. 4.19 (a))。気温間で蒸散速度を比較すると、NC および LT とも気温が高いほど大となった。吸水速度も蒸散速度と同様の傾向を示したが、気温 30 °C では、NC と LT に有意な差はみられなかった (Fig. 4.19 (b))。

Table 4.3 Effects of air temperature in the low nutrient solution temperature treatment on growth of red perilla.

Treatment of nutrient solution temperature	Air temperature (Light/dark, °C)	The number of node	Dry weight (g)					Water content in above part (%)
			Main shoot		Lateral shoot	Root	Total	
			Leaves	Stem				
Before the start of treatment		5	0.45	0.07	-	0.10	0.29	84.2
NC	20/15	6	1.10	0.18	0.15	0.35	1.79	72.4
	25/20	6	1.09	0.22	0.20	0.42	1.93	73.6
	30/25	6	0.97	0.24	0.25	0.51	1.96	75.8
LT	20/15	6	1.14	0.17	0.14	0.25	1.70	69.9
	25/20	6	0.98	0.17	0.10	0.25	1.51	71.1
	30/25	6	1.00	0.26	0.14	0.32	1.73	71.0
Nutrient solution temperature		NS	NS	NS	**	**	**	**
Air temperature		NS	NS	**	NS	**	NS	*

The average nutrient solution temperature in the NC (not controlled) treatments at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 17.2, 22.3, and 27.4 °C, respectively, and that in LT (low temperature) treatments at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 9.3, 9.3, and 9.4 °C, respectively. The plants were harvested at 6 days after the start of each treatment ($n = 6$). * and ** indicate significant differences among the air temperature of the treatments or between NC and LT at $P < 0.01$ and 0.05 by a two way ANOVA.

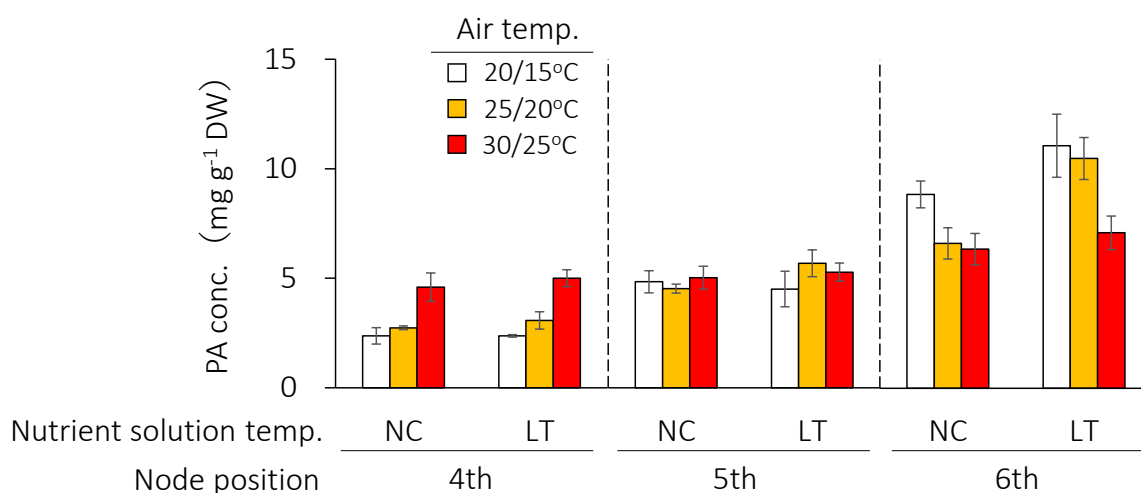


Fig. 4.15 Effects of air temperature in low nutrient solution temperature treatments on concentration of perillaldehyde (PA) in red perilla plants at 6 days after the start of the treatments. The average nutrient solution temperature in the NC (not controlled) treatment at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 17.2, 22.3, and 27.4 °C, respectively, and that in the LT (low temperature) treatment at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 9.3, 9.3, and 9.4 °C, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

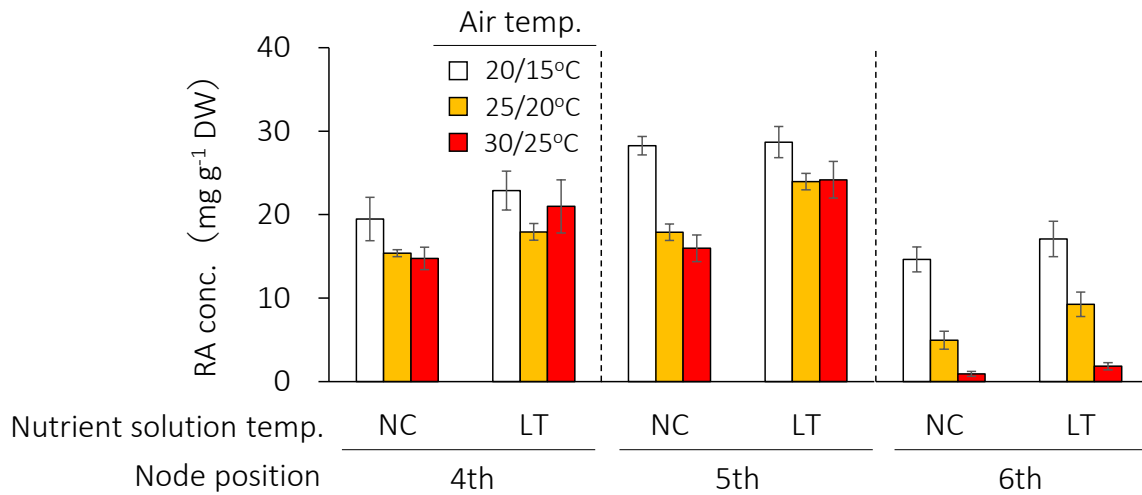


Fig. 4.16 Effects of air temperature in low nutrient solution temperature treatments on rosmarinic acid (RA) concentration in red perilla plants at 6 days after the start of the treatments. The average nutrient solution temperature of the NC (not controlled) treatment at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 17.2, 22.3, and 27.4 °C, respectively, and that in the LT (low temperature) treatment at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 9.3, 9.3, and 9.4 °C, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

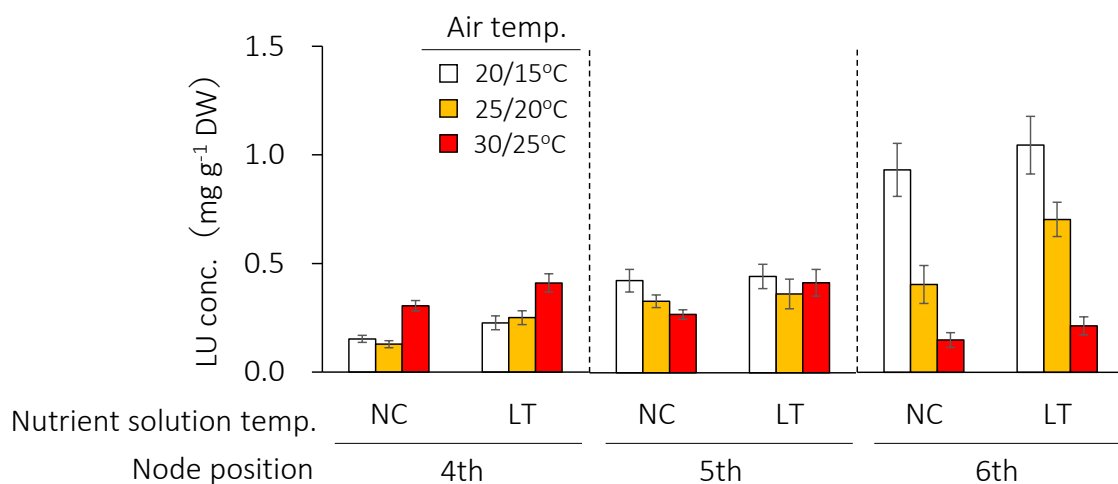


Fig. 4.17 Effects of air temperature in low nutrient solution temperature treatments on luteolin (LU) concentration in red perilla plants at 6 days after the start of the treatment. The average nutrient solution temperature in the NC (not controlled) treatment at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 17.2, 22.3, and 27.4 °C, respectively, and that in the LT (low temperature) treatment at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 9.3, 9.3, and 9.4 °C, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

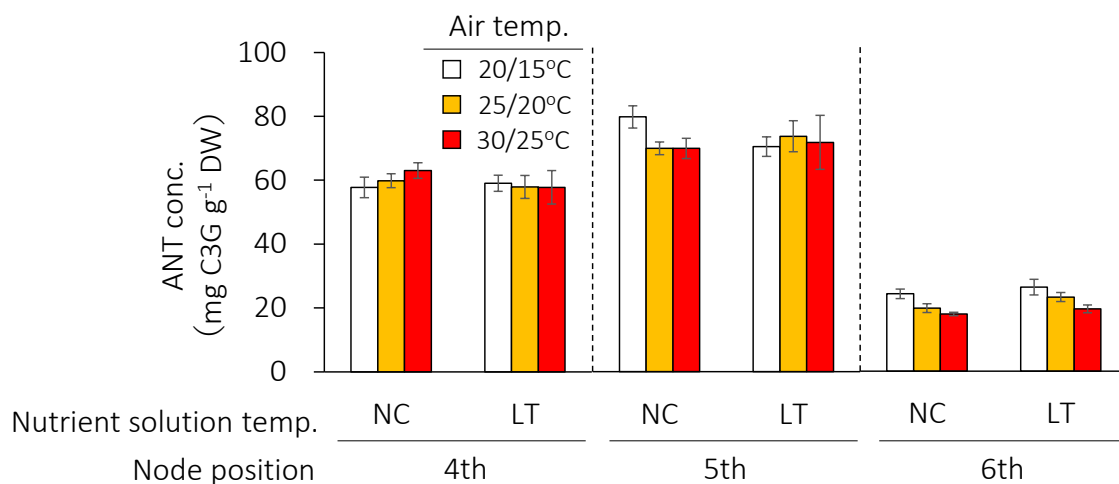


Fig. 4.18 Effects of air temperature during low nutrient solution temperature treatment on anthocyanin (ANT) concentration (calculated as cyanidin-3-glucoside (C3G) equivalent) in red perilla plants at 6 days after the start of the treatment. The average nutrient solution temperature in the NC (not controlled) treatment at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 17.2, 22.3, and 27.4 °C, respectively, and that in LT (low temperature) temperature at air temperature (light/dark period) of 20/15, 25/20, 30/25 °C was 9.3, 9.3, and 9.4 °C, respectively. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

Table 4.4 Results of the two-way ANOVA of the concentrations of bioactive compounds in red perilla plants.

Response variable	Node position	Nutrient solution temp.	Air temp.
PA conc.	4	NS	**
	5	NS	NS
	6	**	NS
RA conc.	4	NS	**
	5	NS	*
	6	*	*
LU conc.	4	**	*
	5	NS	NS
	6	**	*
ANT conc.	4	NS	NS
	5	NS	NS
	6	*	**

* and ** indicate significant differences among the air temperature treatments or between NC (not controlled) and LT (low temperature) treatment at $P < 0.01$, 0.05 , and NS indicates not significant by a two way ANOVA.

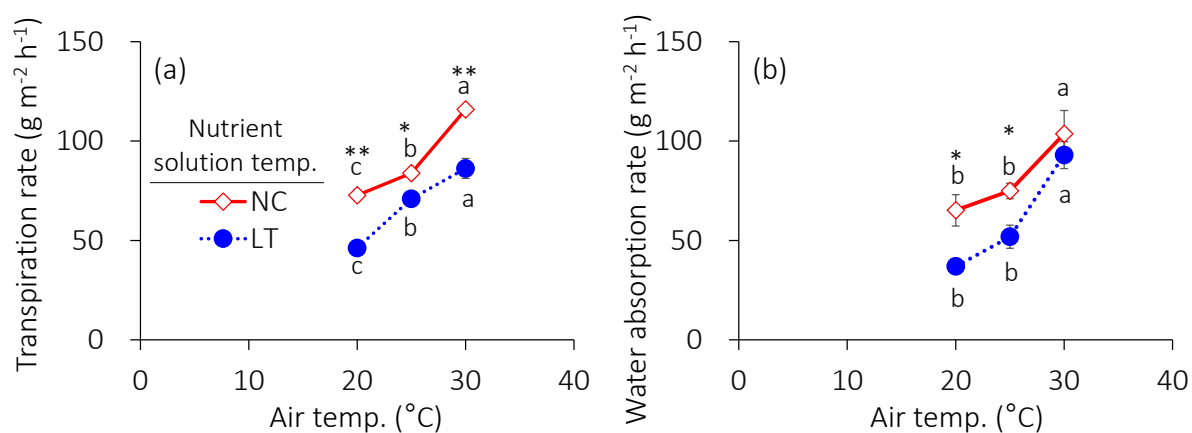


Fig. 4.19 Effects of air temperature during low nutrient solution temperature treatments on transpiration rate (a) and water absorption (b) per leaf area of red perilla plants at 0–4 h after the start of the treatment. Vertical bars indicate SE ($n = 4$). * and ** indicate significant differences between NC (not controlled) and LT (low temperature) treatment at $P < 0.05$ and 0.01 by t -test. Different NC letters indicate significant differences among air temperature treatments at $P < 0.05$ and 0.01 by Tukey-Kramer's test.

4.4.4 考察

4.3.4 で述べたように、一般的に、地下部の温度が低下すると、根からの吸水が抑制されることが知られている。例えば、イネでは 15 °C 以下 (Murai-Hatano et al., 2008)、ダイズでは 14 °C 以下 (Markhart et al., 1979) の地下部温度で急激に吸水速度が低下することが報告されている。本試験でも、吸水速度は培養液温が低いほど小となったことから、本試験でも同様に、培養液温(地下部温度)を 10 °C に制御した LT で吸水が抑制され、NC よりも地上部の含水率が低下したことが示された。また、本試験条件では気温が低い場合にも蒸散速度および吸水速度が低下し、含水率が低下することが示された。

また、水ストレス下では ABA 濃度の増加により気孔が閉鎖され、葉からの蒸散が抑制される (Ackerson, 1980; Radin, 1984)。本試験でも試験 4-1 と同様に LT で処理開始 1 h 程度で地上部の萎れが観察され、その後 1.5 h 程度で回復した。これは、低培養液温処理によって吸水速度が低下したことで葉の水ポテンシャルが低下した後、続いて気孔が閉鎖し、蒸散が抑制されたことが理由であると考えられる。このように、気孔が閉鎖すると、気孔からの CO₂ の取り込みが少なくなり、光合成が抑制される (Chaves, 1991; Cornic and Massacci, 1996)。その他にも、葉の水ポテンシャルが低下すると、葉の細胞の光合成活性の低下が起こることが知られている (平沢, 2001)。処理終了時のクロロフィル濃度に処理区間の差はなかったことから、処理後に LT で NC よりも総乾物重が小となったのは、CO₂ の取り込み量が減少したことや光合成活性が低下したことが理由と考えられた。また、トマトでは、気温 25°C の時に地下部の温度を 10–15 °C に制御すると、地下部の温度をそれ以上に制御した場合よりも根への光合成産物の分配量が少なくなることが報告されている (宍戸ら, 1994)。本研究で気温によらず LT で NC よりも根の乾物重が顕著に低下したのは、地下部が低温となったことで根への分配が抑制されたことが一因であると考えられた。

一般的に水ストレス下では、植物体内で ROS の発生量が増加する (Ksouri et al., 2007)。既往の研究では、ROS がトリコームの形成 (Nagata et al., 1999) や抗酸化物質の生合成 (Blokhina et al., 2003) を促進することが報告されている。このため、本研究でも光合成が抑制された LT で ROS の発生量が増加し、トリコームで生合成、蓄積される PA や、抗酸化成分である RA、LU、ANT の濃度が NC よりも大となった可能性がある。

ANT 濃度は NC、LT とともに第 6 節葉でその他の節位よりも小であり、ANT は展開初期では濃度が低かった。他方、第 4 節および第 5 節葉では濃度の差はみられなかったことから、アカジソの場合、ANT は展開後数日で一定濃度となると考えられた。また、第 4 節および第

5 節葉の ANT 濃度に処理による差はみられなかったことから、試験終了時に一定濃度となる葉齢(本研究では試験終了時に展開開始後 6–15 日)では気温および低培養液温処理の影響を受けにくいと考えられた。

RA および LU については節位によらず、LT で NC よりも濃度が大きくなったことから、これらの化合物はいずれの気温下でも葉齢によらず低培養液温処理によって濃度が増加すると考えられた。また、RA と LU について、第 4 節葉の LU を除いて、NC、LT ともに気温が低いほど濃度が大きくなる傾向がみられた。これらより、RA と LU は低培養液温処理に加え、気温を 20/15 °C に制御することでも増加することが示された。

RA はフェニルプロパノイド、LU はフラボノイドであり、いずれもフェニルアラニンを起源として生合成される。トルコギキョウの花弁において、生育気温を 20、25、30 °C にした場合、生育気温が低い株ほど花弁のフラボノイド濃度が増加したことを報告している(福田・中山, 2008)。スイカの葉では、生育気温を 15、25、35 °C に変えた場合、気温が低いほどフェニルプロパノイド生合成経路の律速酵素である PAL の活性およびフェノール性化合物の濃度が増加することが報告されている(Rivero et al., 2001)。また、ダイズの種子では、種子形成から成熟までの期間を 4 ステージ(日数は不明)に分け、気温を 33/25 °C、23/15 °C に制御したところ、いずれのステージにおいても気温 33/25 °C で 23/15 °C よりも数種のフラボノイドの濃度およびそれらの生合成に関連する遺伝子の発現レベルが低下し、遺伝子の発現レベルの差は成熟直前のステージで最も大きかったことが報告されている(Chennupati et al., 2012)。また、シソ科のスペアミントでは、RA が主なフェノール類であることが知られており、気温 30/30 °C で気温 20/18 °C よりもフェノール類の濃度および抗酸化能が低下することが報告されている(Fletcher et al., 2005)。同論文では、気温 30/30 °C 下での RA 濃度の低下は RA の上流の化合物の競合が理由であることが示唆されている。よって、本研究においても同様の理由で気温 30/25 °C で RA の生合成が抑制された可能性が考えられた。また、フェニルプロパノイドである RA、フラボノイドである ANT および LU が増加した節位は化合物ごとに異なったことから、気温および低培養液温処理によって生理活性物質が増加する節位は、生理活性物質によって異なることが示された。

以上より、アカジソの主要な生理活性物質が培養液温や気温によって増加する程度は、生理活性物質の種類や節位(葉齢)ごとに異なることが明らかになった。培養液温を制御しない場合、気温 20/15 °C – 30/25 °C 下では、気温が高いほど RA および LU 濃度が低下することが示された。これらより、気温によらず、6 日間の低培養液温処理(10 °C)を行うこと

に加え、気温を 20/15 °C にすることで、主枝葉の乾物重を低下させずに主要な生理活性物質の濃度、特に RA および LU 濃度を高められることが明らかになった。

4.5 低培養液温処理を用いた栽培での生理活性物質生産に必要な消費電力量の試算

4.5.1 目的

【試験 4-1】、【試験 4-2】および【試験 4-3】からアカジソの生理活性物質濃度を増加させるには 6 日間の 10 °C での低培養液温処理が適していると考えられ、6 日間の低培養液温処理後、一部収穫で最上位節から 4 節程度収穫することで RA および LU 濃度が高い葉を収穫でき、RA および LU の収量も増加すると考えられた。また、本試験で用いたアカジソは気温 25/20 °C の条件下で 6 日ごとに 1 節出葉した。このため、一部収穫を繰り返す場合には、収穫後は新しく 4 節が出節した後に処理をかける必要があると考えられた。

3.4.1 で述べたように、これまで、閉鎖型施設における苗や葉菜類の生産について(谷村ら, 1991; 大山ら, 2000; 大山ら, 2001; 西村ら, 2001; 横井ら, 2003)や、遺伝子組換えイチゴ(吉田, 2013)やトマト(Kato et al., 2011)について有用物質生産に必要なエネルギーや消費電力量を試算した例が報告されている。本論文の第 3 章でも温室栽培で 1 年間、最上位節の一部収穫を繰り返す場合、UV 照射を行う場合と行わない場合に生理活性物質を生産するために必要な消費電力量を試算し、RA 1 mg を生産するために必要な消費電力量は、UV 照射を行い、最上位節の一部収穫を 4 節あたり 3 節行うことで最小となることが示された。

本節では、温室でアカジソ葉を生産することを想定し、低培養液温処理を行い、最上位節のみ、または最上位節から 4 節の一部収穫を繰り返す場合、生理活性物質を生産するために必要な消費電力量を試算した。

4.5.2 材料および方法

4.5.2.1 栽培施設、栽培方法および収穫方法

栽培施設は 3.4.2.1、栽培方法は 3.4.2.2 と同様と想定した。【試験 4-1】では節位によらず RA および LU 濃度が増加し、PA および ANT については最上位節葉で増加したため、本試算では、以下の 2 つの収穫方法を想定した。

(ケース 1) 最上位節を収穫

2 節発生したうちの 1 節を収穫・・・12 日で 1 回収穫(年間 30.4 回)

(ケース 2) 最上位節から 4 節を収穫 ……24 日で 1 回収穫(年間 15.2 回)

本論文の第 4 章で用いた環境条件で栽培を行う場合、アカジソの節の発生速度は 6 日に 1 節であった。このため、本試算では、同様の速度で出節すると仮定した。そのため、6 日間の低培養液温処理を行い、最上位節のみを連続で繰り返し収穫する場合には処理を 6 日よりも長く継続する必要がある。【試験 4-2】では、6 日より長く低培養液温処理を行うと地上部の生育が著しく抑制された。このため、6 日間の低培養液温処理を行い、最上位節の一部収穫を繰り返す場合は、処理の継続期間を 6 日以内にすることが必要となる。3.4.2.2 でも述べたが、最上位節の一部収穫を繰り返す場合は、加えて、光合成を行う葉を残す必要がある。また、最上位節から 4 節を一部収穫する場合、次の収穫までに 4 節出節するように収穫予定を決める必要がある。このため、この収穫方法では 1 回目の収穫以降は、収穫 18 日後(3 節出節後)に処理を開始することとした。

4.5.2.2 低培養液温処理の消費電力量(W_{LT})の試算

本試算で式に用いた記号の一覧表を Table 4.5 に示した。温室内の気温制御には、暖房および夜間の冷房にヒートポンプを用い、日中は細霧冷房および換気により気温制御を行うことを想定した。また、3.4.2.3 と同様に電照を行うこととした。さらに温室で低培養液温処理を行うことを想定すると、温室 1 棟の 1 年あたりの総消費電力量(W [kWh])は、温室 1 棟の 1 年あたりのヒートポンプ(W_{HP} [kWh])、細霧冷房(W_{FC} [kWh])、電照(W_L [kWh])、低培養液温処理(W_{LT} [kWh])に必要な消費電力量の和として、以下の式(9)で表される。

$$W = W_{HP} + W_{FC} + W_L + W_{LT} \quad \text{式(9)}$$

W_{HP} 、 W_{FC} 、 W_L は3.4.2.3と同一の式(2)、(3)、(4)よりそれぞれ12811.1、16.3、318 kWhであった。以下に、 W_{LT} の試算方法について述べる。

低培養液温処理の消費電力量(W_{LT})

温室1棟の1年あたりの低培養液温処理の消費電力量(W_{LT} [kWh])は、温室1棟の低培養液温処理1回(6日間)あたりに除去する熱量(Q_{LT} [kJ])を、培養液温を制御するために使用したクーラーのCOPで除し、1年あたりの処理の回数(=収穫回数)(H)を乗じることによって求められ、以下の式(10)で表される。

$$W_{LT} = Q_{LT} / 3600 \cdot COP \cdot H \quad \text{式(10)}$$

ここで、クーラーのCOPは2.5と仮定した。前述したように、1年あたりの処理の回数はケース1で30.4回、ケース2で15.2回である。 Q_{LT} は、処理開始時に室温と同等の温度の培養液(20.4 °C)を目標温度(10 °C)まで下げるために除去する熱量($Q_{Initial}$ [kJ]、以下、初期低培養液温処理負荷)と、培養液温を6日間10 °Cに維持するために除去する熱量($Q_{Maintain}$ [kJ]、維持低培養液温処理負荷)の和である。以下に $Q_{Initial}$ および $Q_{Maintain}$ の試算方法について述べる。

初期低培養液温処理負荷($Q_{Initial}$)

初期低培養液温処理負荷($Q_{Initial}$ [kJ])は、培養液の比熱容量(c [kJ kg⁻¹ K⁻¹])、培養液の質量(m [kg])、低培養液温処理開始前の培養液温(=温室内気温)と培養液の目標温度の差(dT [K])、温室1棟のたん液水耕(DFT)装置の数をを用いて、以下の式(11)より求められる。

$$Q_{Initial} = c \cdot m \cdot dT \cdot DFT \quad \text{式(11)}$$

DFT装置として、縦18 m、横0.8 m、深さ0.1 mで、発泡スチロール製、容量は1440 Lのものを用いることとした。なお、DFT装置内は培養液で完全に満たされていると仮定した。よって、培養液の質量は1440 kgであったと仮定した。培養液の比熱容量は水と同じ4.182 kJ

kg⁻¹ K⁻¹ とし、低培養液温処理開始前の培養液温は温室の気温と同一と仮定し、低培養液温処理開始前の培養液温と培養液の目標温度の差は 10.4 °C とした。また、温室 1 棟の DFT 装置の数は 6 と仮定した。これらより、初期低培養液温処理負荷は、375777.8 kJ であった。

維持低培養液温処理負荷 ($Q_{Maintain}$)

維持低培養液温処理負荷 ($Q_{Maintain}$ [kJ]) は、DFT 装置表面の素材の熱貫流率 (h_t [W m⁻² K⁻¹])、DFT 装置の表面積 (A_{DFT} [m²])、温室内気温と培養液の目標温度の差 (dT [K])、温室 1 棟の DFT 装置の数、低培養液温処理時間 (t_{LT}) を用いて、以下の式 (12) から求められる。

$$Q_{maintain} = h_t \cdot A_{DFT} \cdot dT \cdot DFT \cdot t_{LT} \cdot 3600 / 1000 \quad \text{式 (12)}$$

本試算で仮定した DFT の表面の素材の発泡スチロールの熱貫流率は 0.035 W m⁻² K⁻¹ (北村ら, 2008) であり、DFT 装置の表面積は 32.56 m² である。また、温室内気温と培養液の目標温度の差は 10.4 °C とし、温室 1 棟の DFT 装置の数は 6 と仮定した。低培養液温処理時間は、6 日間の積算時間であるので、114 h である。これらより、維持低培養液温処理負荷は 29184.0 kJ であった。以上より、温室 1 棟の低培養液温処理 1 回 (6 日間) あたりに除去する熱量 (Q_{LT} [kW]) は 404961.8 kJ であった。温室 1 棟の 1 年あたりの W_{LT} は、ケース 1 の場合 H は 30.4 であるため、1367.9 kWh、ケース 2 の場合 H は 15.2 であるため、683.9 kWh であった。

4.5.2.3 生理活性物質の収量および生産に必要な消費電力量の試算

温室 1 棟の 1 年あたりの生理活性物質 (PA、RA、LU、ANT) の収量 (Y [mg]) は、3.4.2.4 と同様に収穫葉の生理活性物質 (PA、RA、LU、ANT) の濃度 (C [mg g⁻¹ DW])、温室 1 棟の 1 回収穫あたりの葉の収量 (L [g])、収穫回数 (H) を用いて、3.4.2 に示した式 (6) から求めた。

C には【試験 4-1】のデータを用いた (Table 4.6)。 L はケース 1 の場合、最上位節の葉の 1 株あたりの収量に温室 1 棟の定植株数 (1440 株) を乗じて求め、ケース 2 の場合、最上位節から 4 節の葉の 1 株あたりの節あたりの収量に温室 1 棟の定植株数を乗じて求めた。 L

は、ケース 1 では収穫対象を最上位節 (Table 4.7 では第 6 節葉のみ)、ケース 2 では収穫対象を最上位節から 4 節 (Table 4.7 では第 3 から第 6 節葉) とした。その結果、温室 1 棟の 1 年あたりの葉の収量は Table 4.7 のようになった。

本試算では、それぞれのケースにおいて、温室 1 棟の 1 年あたりの消費電力量 (W) を Y で除して、生理活性物質 1 mg 生産するために必要な消費電力量 ($E[\text{kWh mg}^{-1}]$) を 3.4.2 に示した式 (7) より求めた。

Table 4.5 Variables and its value used in the present calculation.

Symbol	Variable name	Equation	Value*	unit
A_{DFT}	Surface area of DFT container	(12)	32.56	m ²
c	Specific heat capacity of nutrient solution	(11)	4.182	kJ kg ⁻¹ K ⁻¹
dT	Difference in temperature of between air and nutrient solution	(11)	10.4	K
H	Annual harvesting frequency	(10)	30.4, 15.2	
h_t	Heat transmission coefficient	(12)	0.035	W m ⁻² K ⁻¹
$Q_{Initial}$	Initial cooling load in low nutrient solution temperature treatment	(11)	375777.8	kJ
Q_{LT}	Coolong load in low nutrient solution temperature treatment	(10)	404961.8	kJ
$Q_{Maintain}$	Maintain cooling load in low nutrient solution temperature treatment	(12)	29184.0	kJ
t_{LT}	Period of low nutrient solution temperature treatment	(12)	114	h
m	Wight of nutrient solution	(11)	1440	kg
W	Total EPC of greenhouse	(9)		kWh
W_{FC}	Total EPC of fog cooling	(9)	16.3	kWh
W_{HP}	Total EPC of heat pump	(9)	12811.1	kWh
W_L	Total EPC of lighting	(9)	318	kWh
W_{LT}	Total EPC of low nutrient solutin temperature treatment	(9), (10)		kWh

*Values in this column are given as input data. Other values are calculated using equation (9)–(12) with the input data. EPC indicated electric power consumption.

Table 4.6 Concentrations of bioactive compounds (C) in leaves of red perilla.

		C (mg g ⁻¹)			
		Node position			
		6th	5th	4th	3rd
NC	PA	8.2	3.7	3.5	1.8
	RA	2.9	4.7	16.5	24.1
	LU	3.7	1.8	3.6	1.0
	ANT	51.0	66.7	70.8	68.3
LT	PA	12.5	4.7	3.3	2.8
	RA	6.6	25.2	40.7	36.1
	LU	8.4	7.1	4.8	3.1
	ANT	103.3	68.9	76.4	66.6

NC and LT indicated non-controlled nutrient solution temperature and low nutrient solution temperature treatment, respectively. These values were referred from results in [Experiment 3–1]. The leaves at the top node (6th node) and top four nodes (3–6th nodes) were assumed to be harvest part in the case1 and 2, respectively.

Table 4.7 Estimated yield of leaves (*L*) of red perilla in a greenhouse of NT and LT.

	<i>L</i> (g)					
	6th	5th	4th	3rd	Case 1	Case 2
NC	82.2	280.7	471.8	286.4	82.2	1121.1
LT	70.6	242.0	417.4	346.1	51.9	1057.4

NC and LT indicated non-controlled nutrient solution temperature and low nutrient solution temperature treatment, respectively. The leaves at the top node (6th node) and the top four nodes (3–6th nodes) were assumed to be harvest part in the case1 and 2, respectively.

4.5.3 結果

温室 1 棟の 1 年あたりの総消費電力量 (W) は、低培養液温処理を行わない場合 (NC)、13145.4 kWh であり、10 °C での低培養液温処理を行う場合 (LT)、最上位節の一部収穫を行ったケース 1 (年間の収穫回数 30.4 回) では 14513.3 kWh、最上位節から 4 節の一部収穫を行ったケース 2 (年間の収穫回数 15.2 回) では 13829.3 kWh であった (Table 4.8)。 W に占める温室 1 棟の年間の低培養液温処理の消費電力量 (W_{LT}) の割合 (W_{LT} / W) は、ケース 1 で 9.43%、ケース 2 で 4.95% であった。温室 1 棟の 1 年あたりの PA、RA、ANT の収量 (Y) は、収穫方法によらず LT で NC よりも大となった (Table 4.9)。

生理活性物質 1 mg を生産するために必要な消費電力量 (E) は、全ての生理活性物質で低培養液温処理の有無によらず、ケース 2 でケース 1 よりも小となった (Table 4.10)。また、RA および LU の E は、ケース 1、ケース 2 ともに、LT で NC よりも小となった。ANT の E は、ケース 1 では LT で NC よりも小となったものの、ケース 2 では LT と NC で同等であった。他方 PA の E は、ケース 1 では LT で NC よりも大となったものの、ケース 2 では LT と NC で同等であった。

Table 4.8 Estimated electric power consumption (EPC [kWh]) of heat pump (W_{HP}), fog cooling (W_{FC}), lighting (W_L), and low nutrient solution temperature treatment (W_{LT}) of annual cultivation in a greenhouse.

		EPC (kWh)					W_{LT}/W (%)
		W_{HP}	W_{FC}	W_L	W_{LT}	W	
NC					0.0	13145.4	-
LT	Case 1	12811.1	16.3	318	1367.9	14513.3	9.43
	Case 2				683.9	13829.3	4.95

W_{LT}/W indicated percentages of W_{LT} per W . NC and LT indicated non-controlled nutrient solution temperature and low nutrient solution temperature treatment, respectively. Annual harvesting frequency in case 1 and case 2 was assumed to be 30.4 and 15.2, respectively. The leaves at top node (6th node) and four nodes from the top (3–6th nodes) were assumed to be harvest part in the case1 and 2, respectively.

Table 4.9 Estimated yield of bioactive compounds in red perilla of annual cultivation in a greenhouse (Y).

	Case	Y (mg)			
		PA	RA	LU	ANT
NC	1	20519	7312	9134	127374
	2	58807	246953	42377	1152894
LT	1	26829	14101	17948	221631
	2	66554	547412	81712	1199865

NC and LT indicated non-controlled nutrient solution temperature and low nutrient solution temperature treatment, respectively. Annual harvesting frequency in case 1 and case 2 was assumed to be 30.4 and 15.2, respectively. The leaves at top node (6th node) and four nodes from the top (3–6th nodes) were assumed to be harvest part in the case1 and 2, respectively.

Table 4.10 Electricity cost in production of bioactive compounds in red perilla of annual cultivation in a greenhouse (E).

		E (kWh mg ⁻¹)			
		PA	RA	LU	ANT
NC	1	0.64	1.80	1.44	0.10
	2	0.22	0.05	0.31	0.01
LT	1	0.74	1.40	1.10	0.09
	2	0.22	0.03	0.17	0.01

NC and LT indicated non-controlled nutrient solution temperature and low nutrient solution temperature treatment, respectively. Annual harvesting frequency in case 1 and case 2 was assumed to be 30.4 and 15.2, respectively. The leaves at top node (6th node) and four nodes from the top (3–6th nodes) were assumed to be harvest part in the case1 and 2, respectively.

4.5.4 考察

本試算では、温室 1 棟の年間の消費電力量は、低培養液温処理行う場合 (LT)、低培養液温処理を行わない場合 (NC) と比較すると、最上位節のみの一部収穫の場合 (ケース 1) で 1.10 倍、最上位節から 4 節の一部収穫の場合 (ケース 2) で 1.05 倍であった。RA および LU の収量 (Y) は、低培養液温処理行う場合 (LT)、低培養液温処理を行わない場合 (NC) と比較すると、最上位節のみの一部収穫の場合 RA が 1.93 倍、LU が 1.96 倍、最上位節から 4 節の一部収穫の場合 RA が 2.22 倍、LU が 1.93 倍となり、増加した消費電力量に対して増加率は大となった。

生理活性物質の収量 (Y) を収穫方法 (最上位節のみ収穫または最上位節から 4 節収穫) で比較すると、いずれの成分についても低培養液温処理の有無によらず最上位節から 4 節収穫する場合で最上位節のみを収穫する場合よりも大となった。また、生理活性物質 1 mg を生産するために必要な消費電力量 (E) について、RA および LU の E は収穫方法によらず LT で NC よりも小となった。他方、PA および ANT の E は、最上位節の一部収穫ではそれぞれ LT で NC より大、LT で NC より小となり、最上位節から 4 節の一部収穫ではいずれも LT と NC で同等であった。また、いずれの生理活性物質でも E は、最上位節から 4 節の一部収穫で最上位節の一部収穫よりも小となった。

これらより、本試算の範囲では、6 日間の 10 °C の低培養液温処理を行い、一部収穫を繰り返す場合、最上位節のみを収穫する場合よりも最上位節から 4 節を収穫することで、生理活性物質生産に必要な消費電力量は少なくなり、より効率的に生理活性物質を生産できると考えられた。また、RA および LU については、収穫方法によらず、低培養液温処理を行うことで、培養液温処理を行わない場合よりも 1 mg 生産するための消費電力量は少なくなり、効率的な生産ができると考えられた。

4.6 第4章のまとめ

6日間の低培養液温処理では、培養液温を10℃に制御することで葉の乾物重やPAおよびANT濃度を低下させずに全ての節位でRAおよびLU濃度が増加し、RAおよびLUの収穫部位全体の濃度および含有量が増加することが明らかとなった。さらに、最上位節では、10℃での低培養液温処理によってPAおよびANT濃度も増加した。よって、本試験の6日間(短期)の低培養液温(10℃)処理は、全体収穫でも一部収穫でも収穫部位全体のRAおよびLU濃度および含有量を増加させることができ、最上位節のみの一部収穫では、PAおよびANT濃度が高い葉を得られると考えられた。

また、低培養液温処理の期間を6日とした場合、生育抑制やPAおよびANTの濃度低下を伴わずにLUおよびRA濃度が増加するものの、処理期間が9日以上になると生育が抑制されることが示された。よって、低培養液温の期間は3-6日が適当と考えられた。また、気温20/15℃-30/25℃下では、気温によらず培養液温を10℃に制御することで、制御しないよりもRAおよびLU濃度が増加すること、この気温の範囲では気温が高いほどRAおよびLU濃度が低下することが示された。これらより、気温によらず、6日間の低培養液温処理(10℃)を行うことに加え、気温を20/15℃にすることで、主枝葉の乾物重を低下させずに主要な生理活性物質の濃度、特にRAおよびLU濃度を高められることが明らかになった。また、10℃での低培養液温処理によってRAおよびLU濃度を増加させる場合、いずれの生理活性物質も節位によらず濃度が増加するため、収穫は全体収穫および一部収穫どちらを用いても収穫部位全体の濃度を増加させることができると考えられた。さらに、20/15℃での気温処理ではRA濃度が節位によらず増加することから、これについてもどちらの収穫方法でも収穫部位全体のRA濃度を増加させることができると考えられた。また、気温によらず10℃での低培養液温によって最上位節のPAおよびANT濃度が増加したため、最上位節葉の一部収穫によって、PAおよびANT濃度が高い葉を収穫できると考えられた。

以上より、6日間の低培養液温処理(10℃)を行い、全体収穫または一部収穫を行うことでRAとLUを、最上位節の一部収穫を行うことでPAおよびANTを高含有するアカジソの効率的な生産が達成できると考えられた。加えて、気温処理(20/15℃)によりRAを高含有するアカジソの効率的な生産が達成できると考えられた。

さらに、【試験 4-1】の結果をもとに、温室でアカジソの生理活性物質を生産するために必要な消費電力量を試算した。その結果、6日間の低培養液温処理を行い、一部収穫を繰り返す

返す場合、最上位節のみを収穫する場合よりも最上位節から4節を収穫することで、生理活性物質の生産に必要な消費電力量は少なくなり、より効率的に生理活性物質を収穫できることが示された。また、RA および LU について、1 mg 生産するために必要な消費電力量が低培養液温処理を行う場合に低培養液温処理を行わない場合よりも小となったことから、低培養液温処理を行うことでより効率的に生産できると考えられた。

第5章 総括

5.1 本論文の摘要

本論文では、温室および人工光型植物工場で利用が可能なUV照射および低温処理を用いたアカジソの主要な生理活性物質の効率的な生産方法を検討した。

第2章では、個葉に着目して展開開始後の日数と主要な生理活性物質(ペリルアルデヒド(PA)、アントシアニン(ANT)、ロズマリン酸(RA)、ルテオリン(LU))の濃度変化との関係を調査した。その結果、アカジソの葉は概ね展開開始後12–15日で最大展開となり、PAとLUは展開開始後0–3日で、RAは展開開始後9–12日で濃度が高く、ANTは展開開始後の日数によらず一定濃度となることが明らかとなった。また、PAの生合成・蓄積の場であるトリコームの形成は葉の展開開始後3–6日で活発に行われていることが示された。

第3章では、ピーク波長310 nmのUV波長を持つ光源で展開0–3日目にUV-Bを照射し、照射終了後速やかに収穫することで、生育抑制を伴わずにPAおよびRAの濃度が高い葉を得られることが示された。また、ピーク波長310 nmのUV光源で30日間、 1.0 W m^{-2} のUVを 8 h d^{-1} で照射した場合は、照射時間帯によらずアカジソの生育は抑制されず、暗期にUVを照射した場合には18日間のUV照射で生育が促進される傾向がみられた。しかし、PA、LUおよびANT濃度は処理区間で差はなく、UV照射によって下位節の葉のRA濃度が低下し、株あたりのRA含有量が低下する傾向がみられた。このため、本論文での条件では長期間のUV照射は生理活性物質の効率的な増加には不適と考えられた。

3日間のUV照射の結果を用いて、温室でアカジソを栽培する際に、収穫間隔を変えて最上位節の一部収穫を行うことを想定して、生理活性物質の生産に必要な消費電力量を試算した。その結果、最上位節の繰り返し収穫を行う場合、PA、RAおよびANT収量がUV照射を行わない場合よりも大となること、RAを1 mg生産するために必要な消費電力量は、UV照射を行い、収穫間隔を4節あたり3節とすることで最小となることが示された。

第4章では、6日間の低培養液温処理(10°C)によって葉の乾物重やPAおよびANT濃度を低下させずに全ての節位でRAおよびLU濃度が増加することが明らかとなった。このため、低培養液温処理では収穫部位全体のRAおよびLU濃度、株あたりの生理活性物質の収量も増加した。よって、本試験の6日間(短期)の低培養液温(10°C)処理は、アカジソのRAおよびLU濃度および収量を増加させるために有効な方法であると考えられた。さらに、6日間(短期)の低培養液温(10°C)処理は、最上位節ではPAおよびANT濃度も増加したことから、最上位節のみを収穫する場合にはPAおよびANT濃度および収量を増加さ

せることができると考えられた。また、10 °C での低培養液温処理の期間を 3 または 6 日とした場合、生育抑制や PA および ANT の濃度低下を伴わずに LU および RA 濃度が増加するものの、処理期間が 9 日以上になると生育が抑制されることが示された。よって、低培養液温の期間は 3–6 日が適当と考えられた。さらに、アカジソの主要な生理活性物質が培養液温や気温によって増加する程度は、生理活性物質の種類や節位(葉齢)ごとに異なることが明らかになった。培養液温を制御しない場合、気温 20/15 °C – 30/25 °C 下では、気温が高いほど RA および LU 濃度が低下することが示された。これらより、気温によらず、6 日間の低培養液温処理(10 °C)を行うことに加え、気温を 20/15 °C にすることで、主枝葉の乾物重を低下させずに主要な生理活性物質の濃度、特に RA および LU 濃度を高められることが明らかになった。

序論で述べたように、アカジソの収穫方法の例としては、地上部全体を一斉に刈り取る全体収穫、地上部の上位節(最上位節から 3–4 節程度)を刈り取るまたは摘み取る一部収穫が挙げられる。全体収穫では継続的に播種することで収穫ごとに新しい株を定植することもでき、株を大きく育てずに小さい株を繰り返し定植、収穫することができる。一部収穫では、いずれも収穫後に脇芽を伸ばすことで同じ株から繰り返し収穫することが可能である。

短期間の UV 照射によって PA および RA 濃度を増加させる場合、PA および RA 濃度がどちらも増加するために処理を行う期間が展開開始後 0–3 日に限定されており、PA および RA どちらの濃度も増加する展開開始後 3 日の葉の乾物重は小さい。このため、収穫方法として一部収穫を選択し、繰り返し収穫を行うことで、収穫部位全体の濃度を増加させることができると考えられた。

他方、10 °C での低培養液温処理によって生理活性物質の濃度を増加させる場合、RA および LU については節位によらず濃度が増加するため、収穫方法として全体収穫または一部収穫どちらを用いても収穫部位全体の濃度を増加させることができると考えられ、PA および ANT 濃度については最上位節のみで濃度が増加するため、収穫方法として最上位節の一部収穫を用いることで収穫部位全体の濃度を増加させることができると考えられた。さらに、20/15 °C での気温処理では RA 濃度が節位によらず増加することから、これについてもどちらの収穫方法でも収穫部位全体の RA 濃度を増加させることができると考えられた。

また、10 °C での低培養液温処理の結果を用いて、温室でアカジソを栽培する際に生理活性物質の生産に必要な消費電力量を試算した結果、RA および LU について、1 mg 生産するために必要な消費電力量が低培養液温処理を行う場合に低培養液温処理を行わない

場合よりも小となったことから、低培養液温処理を行うことでより効率的に生産できることが示された。

温室での生産を想定した生理活性物質の生産に必要な消費電力量の試算結果をUV照射と低温処理と比較すると、RA および LU については、6 日間 10 °C の低培養液温処理を行い、最上位節から 4 節を収穫することで最も年間収量が大となり、1 mg を生産するために必要な消費電力量が最も小となった。また、PA および ANT を 1 mg 生産するために必要な消費電力量は、UV 照射を行う場合に UV 照射を行わない場合よりも大となったものの、低培養液温処理を行う場合では、培養液温処理を行わない場合と同程度であった。このため、低培養液温処理は UV 照射よりも効率的に RA および LU 濃度および収量を増加させると考えられた。

以上より、付与する環境ストレスで目的とする生理活性物質濃度が増加する節位を把握し、目的に合った収穫方法を選択することで生理活性物質の効率的な生産が可能となることが示唆された。また、本研究の範囲では 6 日間の低培養液温処理(10 °C)により RA と LU、気温処理(20/15 °C)により RA を高含有するアカジソの高効率生産が達成できると考えられた。

5.2 今後の課題および展望

本研究では、人工気象室内でアカジソの生理活性物質の濃度を増加させる環境ストレスの探索を行い、植物工場および簡易温室でアカジソの生理活性物質を効率的に生産する方法を検討した。その結果、6日間の低培養液温処理(10℃)によりRAとLU、気温処理(20/15℃)によりRAを高含有するアカジソの効率的生産が達成できることが明らかとなった。しかし、生薬としてアカジソを利用する際に重要とされるPAについては株全体の葉の濃度が増加する環境条件は不明であった。ただし、本研究の第2章ではトリコームの形成数を増加させることでPAの蓄積量が増加する可能性が示された。既往の研究からトリコーム数の決定時期は葉の展開のごく初期であることが示唆されていることから、今後は栽培光源の変更など長期的な環境制御によってトリコームの形成数を増加させることでPA濃度を増加させられるかを調査する必要があると考えられた。

第4章では、10℃での低培養液温処理によってRAおよびLU濃度を、または20/15℃での気温処理ではRA濃度を増加させる場合、収穫は一斉刈り取り法または一部刈り取り法どちらを用いても収穫部位全体の濃度を増加させることができると考えられた。さらに、連続的な栽培で、収穫前6日間の低温処理や気温処理を行う場合には、次の収穫まで(新しい芽が数節伸びるまで)、ストレス付与を休止することができ、生育抑制を軽減し、大幅な収量の低下を回避できる可能性が示された。また、短期的なUV照射についても収穫から次の収穫まで数日、照射を停止することができることが示されたが、長期間のUV照射ではRA濃度の低下がみられた。このため、いずれの処理についても、断続的な照射が生理活性物質濃度に及ぼす影響についてさらに調査を行う必要があると考えられた。また、第4章ではRAやLUの濃度は気温や培養液温の影響を大きく受けることが明らかとなったが、そのメカニズムについては不明瞭であった。今後、新たな環境ストレス付与の応用の可能性を見出すなど、これらの成分を高蓄積させるための技術を構築させるために、気温や培養液温の変化によるRAおよびLU濃度の変動のメカニズムを明らかにする必要があると考えられた。

本研究ではアカジソを供試材料として用いたが、調査した生理活性物質はテルペノイド、フェニルプロパノイド、フラボノイドに分類され、これらと一部共通の生合成経路で生合成される成分は機能性野菜やその他の薬用植物にも広く含まれている。すなわち、本試験で得られた知見が、アカジソ以外の薬用植物、あるいは機能性野菜などの効率的生産にも適用できる可能性があり、今後、温室および人工光型植物工場での植物生産の生産技術発展に寄与することを期待したい。

引用文献

- Ackerson RC, 1980: Stomatal response of cotton to water stress and abscisic acid as affected by water stress history. *Plant Physiology* **65**, 455-459.
- Aroca R, Tognoni F, Irigoyen J J, Sánchez-Díaz M, Pardossi A, 2001: Different root low temperature response of two maize genotypes differing in chilling sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry* **39**, 1067-1073.
- Barnes J D, Percy K E, Paul N D, Jones P, McLaughlin C K, Mullineaux P M, Creissen G, Wellburn A R, 1996: The influence of UV-B radiation on the physicochemical nature of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaf surfaces. *Journal of Experimental Botany* **47**, 99-109.
- Beauchamp E G, Lathwell D J, 1967: Root-zone temperature effects on the early development of maize. *Plant and Soil* **26**, 224-234.
- Bettaieb I, Hamrouni-Sellami I, Bourgou S, Limam F, Marzouk B, 2011: Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Acta Physiologiae Plantarum* **33**, 1103-1111.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K V, 2003: Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany* **91**, 179-194.
- Booker F L, Miller J E, 1998: Phenylpropanoid metabolism and phenolic composition of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] leaves following exposure to ozone. *Journal of Experimental Botany* **49**, 1191-1202.
- Chaves M M, 1991: Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of experimental Botany* **42**, 1-16.

- Chennupati P, Seguin P, Chamoun R, Jabaji S, 2012: Effects of high-temperature stress on soybean isoflavone concentration and expression of key genes involved in isoflavone synthesis. *Journal of agricultural and food chemistry* **60**, 12421-12427.
- Cheruiyot E K, Mumera L M, Ngetich W K, Hassanali A, Wachira F, 2007: Polyphenols as potential indicators for drought tolerance in tea (*Camellia sinensis* L.). *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **71**, 2190-2197.
- Christie P J, Alfenito M R, Walbot V, 1994: Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta* **194**, 541–549.
- Cornic G, Massacci A, 1996: Leaf photosynthesis under drought stress. *Photosynthesis and the Environment* **5**, 347–366.
- Cumbus I P, Nye P H, 1982: Root zone temperature effects on growth and nitrate absorption in rape (*Brassica napus* cv. Emerald). *Journal of Experimental Botany* **33**, 1138-1146.
- 厚生労働省, 2016: 第17改正日本薬局方. pp. 1843-1844.
- de Abreu I N, Mazzafera P, 2005: Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry* **43**, 241-248.
- 海老澤聖宗・庄子和博・加藤美恵子・下村講一郎・後藤文之・吉原利一, 2008: UV-B, UV-A および青色光の夜間補光がサニーレタスの成長と着色に及ぼす影響. *植物環境工学* **20**, 158-164.
- Fahn, A., Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Research*. 31: 37-75. 2000.

Fletcher RS, Slimmon T, Kott LS, 2010: Environmental factors affecting the accumulation of rosmarinic acid in spearmint (*Mentha spicata* L.) and peppermint (*Mentha piperita* L.). *The Open Agriculture Journal* **4**, 10–16.

瀧野裕之, 川原信夫, 木内文之, 2010: 生薬ソヨウの成分含量測定法とペリラルデヒドの安定性に関する検討. *生薬学雑誌* **64**, 7-14.

福田直子, 中山真義, 2008: 温度条件がトルコギキョウ覆輪花卉の着色面積率に及ぼす影響. *園芸学研究* **7**, 531–536.

Fukuyama T, Ohashi-Kaneko K, Watanabe H, 2015: Estimation of Optimal Red Light Intensity for Production of the Pharmaceutical Drug Components, Vindoline and Catharanthine, Contained in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Environmental Control in Biology* **53**, 217-220.

Fukuyama T, Ohashi-Kaneko K, Hirata K, Muraoka M, Watanabe H, 2017: Effects of Ultraviolet A Supplemented with Red Light Irradiation on Vinblastine Production in *Catharanthus roseus*. *Environmental Control in Biology* **55**, 65-69.

藤井亮, 長岡良典, 渡辺斉, 1994: サイコサポニンに葉内蓄積を目的としたミシマサイコの養液栽培: 生育およびサポニン生成に及ぼす環境条件について. *生物環境調節* **32**, 219-224.

富士原和宏, 2006: 蒸散. *園芸作物の生理・生態特性*. 古在豊樹, 後藤英司, 富士原和宏 編著. 最新施設園芸学. 朝倉書店, 東京. 25-31.

García-Macías P, Ordidge M, Vysini E, Waroonphan S, Battey N H, Gordon M H, Hadley P, Jorn Philip, Lovegrove J A, Wagstaffe A, 2007: Changes in the flavonoid and phenolic acid contents and antioxidant activity of red leaf lettuce (Lollo Rosso) due to cultivation under plastic films varying in ultraviolet transparency. *Journal of agricultural and food*

chemistry **55**, 10168-10172.

Gazula A, Kleinhenz M D, Streeter J G, Miller A R, 2005: Temperature and cultivar effects on anthocyanin and chlorophyll b concentrations in three related Lollo Rosso lettuce cultivars. *HortScience* **40**, 1731-1733.

Gong Z, Yamazaki M, Sugiyama M, Tanaka Y, Saito K, 1997: Cloning and molecular analysis of structural genes involved in anthocyanin biosynthesis and expressed in a forma-specific manner in *Perilla frutescens*. *Plant molecular biology* **35**, 915-927.

Goto E, Hayashi K, Furuyama S, Hikosaka S, Ishigami Y, 2016: Effect of UV light on phytochemical accumulation and expression of anthocyanin biosynthesis genes in red leaf lettuce. *Acta Horticulturae* **1134**, 179-186.

Goto E, Matsumoto H, Ishigami Y, Hikosaka S, Fujiwara K, Yano A, 2013: Measurements of the photosynthetic rates in vegetables under various qualities of light from light-emitting diodes. *Acta Horticulturae* **1037**, 261-268.

姜東孝, 2011: 中国産生薬の現状と問題点, 薬用植物研究 **33**, 32-36.

林可奈子, 2014: UV照射が赤系リーフレタスおよびアカジソのアントシアニンの生合成および抗酸化能に及ぼす影響. 平成25年度千葉大学園芸学部卒業論文.

林可奈子, 2016: 紫外線波長および強度と赤系リーフレタスの二次代謝物質の生合成・蓄積の関係解明. 平成27年度千葉大学大学院園芸学研究科修士論文.

Hichem H, Mounir D, 2009: Differential responses of two maize (*Zea mays* L.) varieties to salt stress: changes on polyphenols composition of foliage and oxidative damages. *Industrial crops and Products* **30**, 144-151.

Hikosaka S, Ito K, Goto E, 2010: Effects of ultraviolet light on growth, essential oil concentration, and total antioxidant capacity of Japanese mint. *Environmental Control in Biology* **48**, 185-190.

Hikosaka S, Iwamoto N, Goto E, Ching H C, 2017: Effects of supplemental lighting on growth and medicinal compounds of Japanese Honysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.). *Environmental Control in Biology* **55**, 71-76.

平沢正, 2001: 乾燥ストレスの生理学. 水分環境に対する応答. 寺島一郎 編. 環境応答. 朝倉書店, 東京. pp. 97-105.

Inoue T, Sugimoto Y, Masuda H, Kamei C, 2002: Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* **25**, 256-259.

Ioannidis D, Bonner L, Johnson C B, 2002: UV-B is required for normal development of oil glands in *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil). *Annals of Botany* **90**, 453-460.

Ito N, Nagai T, Oikawa T, Yamada H, Hanawa T, 2008: Antidepressant-like effect of l-perillaldehyde in stress-induced depression-like model mice through regulation of the olfactory nervous system. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011, Article ID 512697, doi: 10.1093/ecam/nen045

Iwai M, Ohta M, Tsuchiya H, Suzuki T, 2010: Enhanced accumulation of caffeic acid, rosmarinic acid and luteolin-glucoside in red perilla cultivated under red diode laser and blue LED illumination followed by UV-A irradiation. *Journal of Functional Foods* **2**, 66-70.

Jansen M A, Gaba V, Greenberg B M, 1998: Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in plant science* **3**, 131-135.

兼子まや, 塚越覚, 藤瀬茜, 池上文雄, 2013: ロックウール耕における培養液濃度がミ

シマサイコ (*Bupleurum falcatum* L.) の生育, サイコサポニン濃度と無機成分濃度に及ぼす影響. 植物環境工学 **25**, 83-89.

山岸順子, 1995: 第 10 章 根の機能. 根の呼吸. 森田茂紀, 阿部淳. 根ハンドブック. pp. 155-156. 根研究会. 東京.

KEGG pathway, terpenoid backbone biosynthesis, <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>, (アクセス日: 2017年10月24日)

厚生労働省, セルフメディケーション税制(医療費控除の特例)について. <http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000124853.html> (アクセス日: 2017年5月10日)

厚生労働省, 薬事工業生産動態統計調査. <http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/105-1.html>, (アクセス日: 2017年5月10日)

Kramer PJ, Boyer JS, 1995: Water relations of plants and soils. Academic press.

Krzyzanowska J, Janda B, Pecio L, Stochmal A, Oleszek W, Czubačka A, Przybys M, Doroszewska T, 2011: Determination of polyphenols in *Mentha longifolia* and *M. piperita* field-grown and In vitro plant samples using UPLC-TQ-MS. *Journal of AOAC International* **94**, 43-50.

Ksouri R, Megdiche W, Debez A, Falleh H, Grignon C, Abdelly C, 2007: Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry* **45**: 244-249.

Leyva A, Jarillo J A, Salinas J, Martinez-Zapater J M, 1995: Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a light-dependent manner. *Plant Physiology* **108**, 39-46.

Li Q, Kubota C, 2009: Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce. *Environmental and Experimental Botany* **67**, 59-64.

Lu N, Bernardo E L, Tippayadarapanich C, Takagaki M, Kagawa N, Yamori W, 2017; Growth and Accumulation of Secondary Metabolites in Perilla as Affected by Photosynthetic Photon Flux Density and Electrical Conductivity of the Nutrient Solution. *Frontiers in plant science* **8**, 708.

Lu N, Bernardo E L, Tippayadarapanich C, Takagaki M, Kagawa N, Yamori W, 2017: Growth and Accumulation of Secondary Metabolites in Perilla as Affected by Photosynthetic Photon Flux Density and Electrical Conductivity of the Nutrient Solution. *Frontiers in plant science* **8**.

Markhart AH, Fiscus EL, Naylor AW, Kramer P J, 1979: Effect of temperature on water and ion transport in soybean and broccoli systems. *Plant Physiology* **64**, 83-87.

南基泰, 四方恒生, 長谷川千晃, 大江千里, 芦田馨, 杉野守, 1995: 養液栽培システムによる薬用植物の生産について (第 1 報) Ebb&Flood システムを用いて栽培されたミシマサイコの根部の形態及び Saikosaponin 含量について. *YAKUGAKU ZASSHI* **115**, 832-842.

南基泰, 四方恒生, 長谷川千晃, 大江千里, 杉野守, 1997: 養液栽培システムによる薬用植物の生産について (第 2 報). *植物工場学会誌* **9**, 124-131.

三浦周行, 岩田正利, 1983: ベニタデのアントシアニン生成に及ぼす温度の影響. *園芸學會雑誌* **51**, 412-420.

Murai-Hatano M, Kuwagata T, Sakurai J, Nonami H, Ahamed A, Nagasuga K, Matsunami T, Fukushi K, Maeshima M, Okada M, 2008: Effect of low root temperature on hydraulic conductivity of rice plants and the possible role of aquaporins. *Plant and Cell Physiology* **49**,

1294-1305.

Nagata T, Todoriki S, Hayashi T, Shibata Y, Mori M, Kanegae H, Kikuchi S, 1999: γ -Radiation induces leaf trichome formation in Arabidopsis. *Plant Physiology* **120**, 113-120.

Nagata T, Todoriki S, Masumizu T, Suda I, Furuta S, Du Z, Kikuchi S, 2003: Levels of active oxygen species are controlled by ascorbic acid and anthocyanin in Arabidopsis. *Journal of agricultural and food chemistry* **51**, 2992-2999.

西村将雄, 古在豊樹, 久保田智恵利, 全昶厚, 2001; 閉鎖型苗生産システムにおける消費電力量および電力コストの解析. *植物工場学会誌* **13**, 204-209.

Nagasuga K, Murai-Hatano M, Kuwagata T, 2011: Effects of low root temperature on dry matter production and root water uptake in rice plants. *Plant Production Science* **14**, 22-29.

Nishimura T, Ohyama K, Goto E, Inagaki N, Morota T, 2008: Ultraviolet-B radiation suppressed the growth and anthocyanin production of Perilla plants grown under controlled environments with artificial light. *Acta Horticulturae* **797**, 425-429.

Nishimura T, Ohyama K, Goto E, Inagaki N, 2009: Concentrations of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of Perilla plants as affected by light quality under controlled environments. *Scientia horticulturae*, **122**, 134-137.

日本漢方生薬製剤協会, 漢方処方実態調査 .
<http://www.nikkankyo.org/aboutus/investigation/investigation01.html> (アクセス日: 2017年5月10日)

日本漢方生薬製剤協会, 原料生薬使用量等調査(4)—平成25年度および26年度の使用量—. <http://www.nikkankyo.org/aboutus/investigation/investigation03.html> (アクセス日: 2017年5月10日)

- 大山克己, 古在豊樹, 1998: 人工光型植物苗工場における消費電力量と電力料金の試算例. 植物工場学会誌 **10**, 96-107.
- 大山克己, 吉永慶太, 古在豊樹, 2000: 閉鎖型苗生産システムのエネルギーおよび物質収支 (第 1 報). 植物工場学会誌 **12**, 160-167.
- 大山克己, 藤原雅哉, 古在豊樹, 全昶厚, 2001: 閉鎖型苗生産システムのナスセル成型苗育成時における電気エネルギーおよび水消費量. 植物工場学会誌, **13**: 1-6.
- 小川瑛利子, 2014: 暗期における紫外線(UV)照射が薬用植物の生育および薬用成分濃度に及ぼす影響. 平成25年度千葉大学大学院園芸学研究科修士論文.
- 小田尚子, 田中雅子, 別府道子, 1982a: *l*-ペリラルデヒド (しそ精油成分) の抗菌性について 第 1 報: 細菌および糸状菌に対する生育阻害効果. 東京家政学院大学紀要 **22** 41-44.
- 小田尚子, 田中雅子, 別府道子, 1982b: *l*-ペリラルデヒド (しそ精油成分) の抗菌性について 第 2 報: 酵母に対する生育阻害効果. 東京家政学院大学紀要 **22**, 45-47.
- Ota N, Nabeshima T, Osakabe M, Aoki S, Awano T, Hosokawa M, 2017: Difference between Nighttime and Daytime UV-B Irradiation with Respect to the Extent of Damage to Perilla Leaves. *The Horticulture Journal* **86**, 349-356.
- Pietrini F, Massacci A, 1998: Leaf anthocyanin content changes in *Zea mays* L. grown at low temperature: significance for the relationship between the quantum yield of PS II and the apparent quantum yield of CO₂ assimilation. *Photosynthesis Research* **58**, 213-219.
- Radin J W, 1984: Stomatal responses to water stress and to abscisic acid in phosphorus-deficient cotton plants. *Plant physiology* **76**, 392-394.

Rivero RM, Ruiz JM, Garcia PC, Lopez-Lefebvre LR, Sánchez E, Romero L, 2001: Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science* **160**, 315–321.

Rozema J, van de Staaij J, Björn L O, Caldwell M. 1997: UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. *Trends in Ecology & Evolution* **12**, 22-28.

酒井恭子, 2010: UV照射がモロヘイヤの生育, 抗酸化能およびクロロゲン酸濃度に及ぼす影響. 千葉大学大学院園芸学部卒業論文.

Sakamoto M, Suzuki T, 2015: Effect of root-zone temperature on growth and quality of hydroponically grown red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Red Wave). *American Journal of Plant Sciences* **6**, 2350-2360.

Saito K, Yamazaki M, 2002: Biochemistry and molecular biology of the late-stage of biosynthesis of anthocyanin: lessons from *Perilla frutescens* as a model plant. *New Phytologist* **155**, 9-23.

桜井英博, 柴岡弘郎, 芦原坦, 高橋陽介, 2008: 二次代謝物質の生合成. 植物生理学概論, 培風館, 東京. pp.67-98.

Sanbongi C, Takano H, Osakabe N, Sasa M, Natsume R, Yanagisawa K, Inoue K, Sadakane T, Ichinose T, Yoshikawa T, 2004: Rosmarinic acid in perilla extract inhibits allergic inflammation induced by mite allergen, in a mouse model. *Clinical & Experimental Allergy* **34**, 971-977.

Sanbongi C, Takano H, Osakabe N, Sasa N, Natsume M, Yanagisawa R, Inoue K, Kato Y, Osawa T, Yoshikawa T, 2003: Rosmarinic acid inhibits lung injury induced by diesel exhaust particles. *Free Radical Biology & Medicine* **34**, 1060–1069.

Sato-Masumoto N, Ito M, 2014: Two types of alcohol dehydrogenase from *Perilla* can form citral and perillaldehyde. *Phytochemistry* **104**, 12-20.

指田豊, 2001: 生薬の品質と薬用植物の成分の変動. 佐竹元吉監修. 薬用植物・生薬開発の最前線. p.150-163. シーエムシー出版. 東京.

島野晃正, 小川瑛利子, 彦坂晶子, 後藤英司, 2016: 赤色光および光強度がアカジソの生育速度に及ぼす影響. 日本生物環境工学会 2016 年金沢大会 講演要旨集. pp. 50-51.

庄子和博, 後藤英司, 橋田慎之介, 後藤文之, 吉原利一, 2010: 赤色光と青色光がレッドリーフレタスのアントシアニン蓄積と生合成遺伝子の発現に及ぼす影響. 植物環境工学 **22**, 107-113.

宍戸良洋, 熊倉裕史, 1994: トマトにおける光合成・蒸散, 光合成産物の転流・分配および根の呼吸に及ぼす培地温の影響. 園芸学会雑誌 **63**, 81-89.

Sreenivasulu N, Grimm B, Wobus U, Weschke W, 2000: Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiologia plantarum* **109**, 435-442.

Sudheer S, Yeoh W K, Manickam S, Ali A, 2016: Effect of ozone gas as an elicitor to enhance the bioactive compounds in *Ganoderma lucidum*. *Postharvest Biology and Technology* **117**, 81-88.

Sugaya A, Tsuda T, Obuchi T, 1981: Pharmacological studies of perilla herba. I. Neuropharmacological action of water extract and perillaldehyde. *YAKUGAKU ZASSHI* **101**, 642-648.

末岡昭宣, 2012: 薬用植物の筒栽培とその応用, 薬用植物フォーラム2012 講演要旨集. pp. 23-32.

杉本智潮, 遠藤雄一, 田村真, 安藤英広, 岡本巧誠, 表貴之, 白鳥誠, 新澤伸一, 服部佳之, 平澤智, 松浦晃, 丸田純平, 宮坂大樹, 六川将宏, 村田勝優, 山田修嗣, 山本博章, 吉川眞一, 小此木明, 富塚弘之, 2012; 漢方製剤, 生薬製剤及び生薬の残留農薬について (第 3 報): 日漢協の残留農薬自主基準に関する実態調査. 生薬学雑誌 **66**, 81-90.

Tabata M, 1997: Chemotypes and pharmacological activities of perilla, In *Perilla The genus Perilla*, Yu H C, Kosuna K, Haga M, Taylor & Francis, London, pp. 129-142

Tachibana S, 1987: Effects of root temperature on the rate of water and nutrient absorption in cucumber cultivars and figleaf gourd. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **55**, 461-467.

Takagi S, Goto H, Shimada Y, Nakagomi K, Sadakane Y, Hatanaka Y, Terasawa K, 2005: Vasodilative effect of perillaldehyde on isolated rat aorta. *Phytomedicine* **12**, 333-337.

武田修己, 2012: 薬用植物栽培の取り組みと課題, 薬用植物フォーラム 2012 講演要旨集. pp.1-6.

高橋太郎・石神靖弘・彦坂晶子・後藤英司, 2012: 異なるピーク波長の紫外線が赤系リーフレタスの生育に及ぼす影響. 日本生物環境工学会2012年東京大会 講演要旨集, pp. 40-41.

竹林純, 2017: 植物由来生薬成分を含む健康食品の品質評価に関する研究, 薬用植物フォーラム2017講演要旨集, pp. 51-57.

Takeshima H, 1964: Studies on the effects of soil temperature on rice plant growth: III. Effects of root temperature upon water and nutrients absorptions at different stages and in alternating temperature. *Japanese Journal of Crop Science* **34**, 319-324.

谷村泰宏, 池田彰, 江崎謙治, 河相好孝, 中山繁樹, 岩尾憲三, 蔭山裕之, 1991: 蛍光ランプを用いた人工光型植物工場の研究 (その 1) 栽培システムの諸元ならびに性能試験結果. *生物環境調節* **29**: 81-88.

Tezara W, Mitchell V J, Driscoll S D, Lawlor D W, 1999: Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*, **401**, 914-917.

Tsormpatsidis E, Henbest R G C, Davis F J, Battey N H, Hadley P, Wagstaffe A, 2008: UV irradiance as a major influence on growth, development and secondary products of commercial importance in Lollo Rosso lettuce 'Revolution' grown under polyethylene films. *Environmental and Experimental Botany* **63**, 232-239.

谷口直之・遠藤猛, 2000: SOD と NO およびグルタチオン代謝のクロストークによるレドックス制御. 酸化ストレス. レドックスの生化学, 谷口直之, 淀井淳司編. 共立出版. 東京. pp. 1-11.

Tsormpatsidis E, Henbest R G C, Davis F J, Battey N H, Hadley P, Wagstaffe A, 2008: UV irradiance as a major influence on growth, development and secondary products of commercial importance in lollo rosso lettuce 'Revolution' grown under polyethylene films. *Environmental and Experimental Botany* **63**, 232-239.

Tsormpatsidis E, Henbest R G C, Battey N H, Hadley P, 2010: The influence of ultraviolet radiation on growth, photosynthesis and phenolic levels of green and red lettuce: potential for exploiting effects of ultraviolet radiation in a production system. *Annals of Applied Biology*, **156**, 357-366.

Voipio I, Autio J, 1994: Responses of red-leaved lettuce to light intensity, UV-A radiation and root zone temperature. *Acta Horticulturae* **399**, 183-190.

和田光弘, 黒田直敬, 中島憲一郎, 2016: 機能性食品及びサプリメントの有効成分の分析

と機能性評価. 分析化学 **65**, 301-308.

Werker E, 1993: Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of the lamiaceae –A review. *Flavour and fragrance journal* **8**, 249-255.

Werker E, 2000: Trichome diversity and development. *Advances in Botanical Research* **31**, 1-35.

Yan Q Y, Duan Z Q, Mao J D, Xun L I, Dong F, 2013: Low root zone temperature limits nutrient effects on cucumber seedling growth and induces adversity physiological response. *Journal of Integrative Agriculture*, **12**, 1450-1460.

山崎真巳, 2002: アントシアニン生合成系を中心とした薬用植物二次代謝の多様性の解明とトランスジェニック植物への分子生物学的展開. *YAKUGAKU ZASSHI* **122**, 47-56.

横井真悟, 古在豊樹, 大山克己, 長谷川智行, 全昶厚, 久保田智恵利, 2003: 閉鎖型苗生産システムにおけるトマト実生個体群の葉面積指数がエネルギー利用効率に及ぼす影響. *植物工場学会誌*, **15**, 231-238.

Yoshida T, Higashi F, Ikawa S, 1968: On the oil containing tissue, the essential oil contents and chemical composition of essential oil in perilla species, *Japanese Journal of Crop Science* **37**, 118–122.

Yoshida T, Morisada S, Kemeoka K, 1969: On the distribution of oil gland and the accumulation of essential oil in *Perilla* species, *Japanese Journal of Crop Science* **38**, 333–337.

吉田英生, 2009: 光強度がアカジソの生育および二次代謝成分含有量に及ぼす影響. 平成19年度千葉大学園芸学部卒業論文.

Yoshimatsu K, 2012: Innovative cultivation: Hydroponics of medicinal plants in the closed-type cultivation facilities. *Medical and Pharmaceutical Society for WALAN-YAKU* **29**, 30-34.

吉松嘉代, 2013a: 植物工場における薬用植物優良苗の育成と生産, 第23回SHITAシンポジウム講演要旨集. pp.13-22.

吉松嘉代, 2013b: 甘草の水耕栽培. *ファルマシア* **49**, 141-146.

吉松嘉代, 乾貴幸, 2013: 植物工場における薬用植物の栽培・生産 (特集 薬用植物)--(栽培技術). *特産種苗* **16**, 35-41.

吉野千里. 光環境および培養液温度がウラルカンゾウの生育および薬用成分濃度に及ぼす影響. 平成 24 年度千葉大学大学院園芸学研究科修士論文, 2013.

謝辞

研究テーマの設定、試験の遂行ならびに論文の執筆にあたり、主指導教員である後藤英司教授には数々のご指導および示唆を賜りました。ここに謹んで感謝の意を示します。本論文の審査をしていただいた主査の椎名武夫先生、副査の江頭祐嘉合先生、坂本一憲先生には貴重なご意見を賜りました。心より御礼を申し上げます。

環境調節工学研究グループの彦坂晶子准教授には、本研究の細部にわたって懇切丁寧なご指導を頂戴いたしました。また、環境調節工学研究グループの石神靖弘助教には、装置の作製や使用方法、環境データの測定、データ解析など数々のご指導を頂戴いたしました。ここに謹んで感謝の意を示します。

本研究の分析に関して数々のご助言を頂戴しました環境健康フィールド科学研究センター 有機化学・植物科学分野 加川夏子講師には深く御礼申し上げます。

研究グループのゼミでは先生方だけではなく多くの方にご意見、ご指導をいただきました。環境調節工学研究グループの皆様に感謝の意を示します。また、これまで本研究グループにおいて、大学院生・学部生として本研究に携わった、島野晃正氏および染谷健太氏には深く御礼申し上げます。

付録

1. UV 波長が食用アカジソの生育および生理活性物質濃度に及ぼす影響

1.1 目的

これまで、本研究グループでは、ピーク波長 310 nm の UV 蛍光灯を用いてアカジソに UV 照射を 21 日間照射したところ、アカジソの生育は抑制され、ANT 濃度が低下したものの、PA 濃度は UV 照射区で増加する傾向があったこと報告している (Nishimura et al., 2009)。この報告では、長期的に UV を照射したことで生育が抑制され、ANT 濃度が低下した可能性がある。本試験では、効果的に PA 濃度を増加させる UV 波長を明らかにすることを目的として、短期間の UV 照射の波長がアカジソの生育、PA および ANT 濃度に及ぼす影響を調査した。

1.2 材料および方法

供試材料および育苗条件

試験には、アカジソ(‘芳香赤しそ’(中原採種場(株)))を供試し、人工気象室内で育苗を行った。本試験で用いた品種のペリルアルデヒド濃度は、薬用品種と比較して 1/10 以下である。種子を水道水に浸水し、1 週間後に発根および発芽がみられたものをウレタンマットに移植した。乾燥を防ぐために、ウレタンマットに移植後 7 日間は播種面にサランラップを被せて保湿した。灌水には、播種後 14 日目までは水道水、その後は大塚 A 処方 1/4 単位培養液を与えた。播種後 28 日目に湛液水耕装置に定植した。試験には、播種後 42 日目の苗を使用した。明期光源には白色蛍光灯 (FHF32-EX-N-H, パナソニック(株))を用い、環境条件は Table S1.1 のように設定した。

処理区

処理区は、ピーク波長が異なる 4 種類の UV 光源を用いた 4 処理区 (290, 310, 330) と UV 無照射の Control とした。UV 強度は供試植物の第 5 および第 6 葉(植物体成長点付近)付近で 3.0 W m^{-2} になるように調整した。

UV 光源には 2 種類の紫外線エキシマ蛍光ランプ (UV-XEFL, ウシオ電機, ピーク波長 297, 338 nm) と 1 種類の UV-B 蛍光灯 (TL20W/01 RS SLV, Philips Co., Ltd., ピーク波長 313 nm) を用いた (Fig. S1.1)。その他の環境条件は育苗期間と同一とした。

測定および算定項目

測定項目は、部位別の生体重、乾物重、PA および ANT の濃度とした。分析対象葉は、子葉から数えて第 5 および第 6 節目の葉とした。本試験では、葉身内の主脈を中心にして左右に切り分け、それぞれ生体重を測定し、片方を生理活性物質の分析用の試料に使用するために液体窒素で凍結させ、分析まで -30°C で保存した。もう片方は、恒温乾燥器で乾燥させ(80°C)、乾物重を測定した。乾燥させた葉の生体重および乾物重から乾物率を算定し、分析に使用した葉の推定乾物重を算定した。さらに、第 2 節以上を対象として節位ごとの含水率を算定した。

各測定項目について試験開始日、UV 照射開始後 3 および 6 日目に調査した。各測定日における調査株は 6 株とした。各生理活性物質の分析方法については、2.2.4 と同様とした。

Table S1.1 Environmental conditions during the cultivation period.

Light period	16 h d ⁻¹
PPFD*	200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
Air temperature	25/20 °C (Light/dark)
CO ₂ conc.	1000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$
Relative humidity	70%

*PPFD: photosynthetic photon flux density provided to culture panel.

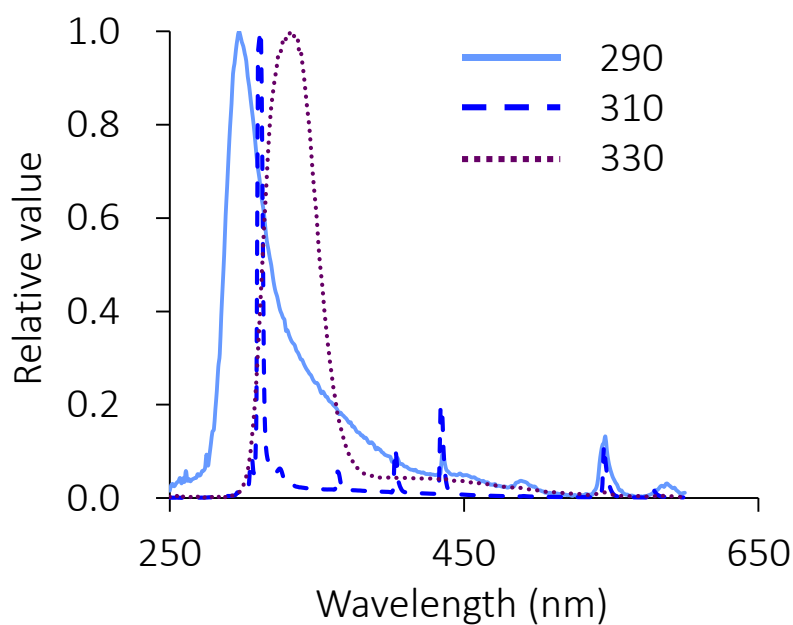


Fig. S1.1 Spectral irradiance of UV light sources. Relative spectral intensities of each lamp were normalized to 1.0 at 297, 313, and 338 nm. The spectral energy distribution was measured by spectroradiometer (USR-45DA; USHIO Co., Ltd., Japan).

1.3 結果

1.3.1 生育・外観

ピーク波長を 290 nm に持つ 290 区では、照射開始 1 h で第 4–6 節葉の向軸側の先端が緑色に変化し (Fig. S1.2 (A))、照射開始後 1 日で葉脈と葉柄付近を残して向軸側全体が緑色に変化した (Fig. S1.2 (B))。UV 照射開始後 3 日の各処理区の第 5 節葉の色は、Control、330、310 区では赤色であったが、290 区では緑色であった (Fig. S1.3 (A))。また、290 区では照射開始後 3 日には葉の先端が乾燥し、枯れがみられ、照射開始後 4 日に 290 区の第 4 節および第 5 節葉の先端が枯れ、第 6 節葉が収縮したことが目視で確認されたため、290 区は UV 照射開始後 3 日までで試験を終了した。

照射開始後 3 日の葉の総乾物重は、処理区間で差はなく、いずれの株でも最大展開葉である第 4 葉の乾物重が最も大となった (Table S1.2)。また、処理開始後 3 日の節位別の葉の含水率は、第 6 節葉を除き、290 区で他の区よりも小となる傾向がみられ、特に第 4 節および第 5 節葉では 290 区で Control よりも有意に小となった (Table S1.3)。照射開始後 6 日目での葉色に処理区間の差はなく (Fig. S1.3 (B))、葉の総乾物重および含水率についても、処理区間で差はみられなかった (Tables S1.4 and S1.5)。

1.3.2 生理活性物質

ペリラルデヒド (PA)

照射開始後 3 日の第 6 節葉の PA 濃度は、320 区を除く UV 照射区で Control よりも大となる傾向がみられた。特に、290 区では PA 濃度が Control よりも有意に大となった (Fig. S1. (A))。第 5 節葉の PA 濃度は 290 および 310 区で Control よりも大となる傾向がみられた。照射開始後 6 日の第 6 節および第 5 節葉の PA 濃度は、処理区間で有意差はみられなかった (Fig. S1.4 (B))。

アントシアニン (ANT)

ANT 濃度は、照射開始後 3 日、6 日ともに UV 照射によって減少する傾向がみられた (Fig. S1.5)。特に、照射開始後 6 日目のアントシアニン濃度は、全 UV 照射区で対照区よりも低くなったことから、継続的な UV 照射はアカジソのアントシアニン濃度を低下させる可能性があると考えられた。

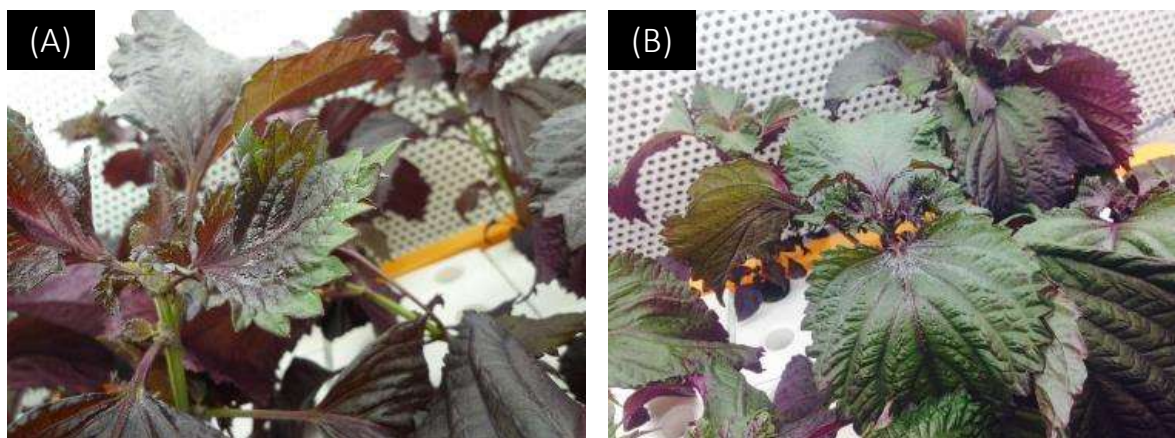


Fig. S1.2 The appearance of red perilla leaf under UV irradiation at 290. The leaf color turned green from red. The leaf color change commenced at 1 h after the exposure to UV irradiation started (A), and it was completed about 1 d later on the adaxial leaf surface.

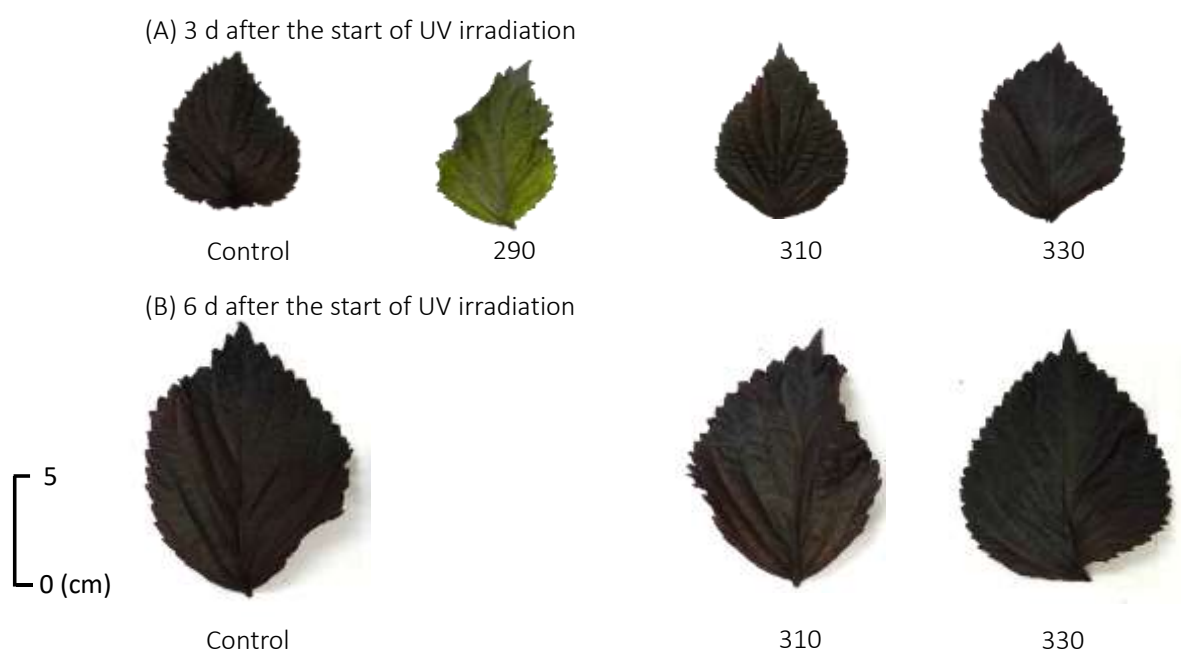


Fig. S1.3 Effect of 3 (A) and 6 (B) days of UV irradiation on color of the leaves at 5th node of red perilla plants.

Table S1.2 Effects of 3 days UV irradiation using three types of UV light sources with a peak of 320, 310, and 290 nm, on dry weight (g/plant) of red perilla plants.

Treatment code	Main shoot							Stem	Lateral shoot	Root	Total
	Leaves										
	1	2	3	4	5	6	Total				
Control	0.02	0.11	0.30	0.38	0.22	0.06	1.08	0.38	0.23	0.31	2.00
290	-	0.07	0.19	0.41	0.28	0.06	1.01	0.41	0.22	0.34	1.98
310	0.03	0.11	0.28	0.38	0.24	0.07	1.09	0.38	0.26	0.34	2.07
330	0.03	0.09	0.28	0.40	0.29	0.11	1.17	0.43	0.24	0.36	2.23

The levels of UV were set at 3.0 W m⁻². The plants were harvested at 3 days after the start of UV irradiation (16 h d⁻¹). Leaf position was counted from the stem base of the main shoot. Growth data are the means of 6 plants. The mean of leaf dry weight at the 1st node was calculated using 3–6 plants because at the 1st node in all plants exposed to 290 nm UV light, and in some of the plants subjected to 310 and 330 nm treatments withered.

Table S1.3 Effects of 3 days UV irradiation using three types of UV light source with a peak at 320, 310, and 290 nm, on water content (%) in red perilla leaves.

Treatment code	Node position				
	2	3	4	5	6
Control	87.3	86.8	85.0 a	83.8 ab	83.9
290	86.2	84.0	80.4 b	81.8 b	83.8
310	86.8	86.6	85.3 a	84.0 ab	83.4
330	87.2	85.6	84.8 a	84.1 a	83.5

The levels of UV were set at 3.0 W m⁻². The plants were harvested at 3 days after the start of UV irradiation (16 h d⁻¹). Leaf position was counted from the stem base of the main shoot. Growth data are the mean of 6 plants. Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

Table S1.4 Effects of 6 days UV irradiation using two types of UV light source with a peak at 320 and 310 nm, on dry weight (g/plant) of red perilla plants.

Treatment code	Main shoot								Stem	Lateral shoot	Root	Total
	Leaves											
	1	2	3	4	5	6	7	Total				
Control	0.05	0.12	0.35	0.44	0.38	0.16	0.03	1.48	0.53	0.57	0.31	2.49
310	0.02	0.11	0.32	0.47	0.33	0.14	0.03	1.41	0.52	0.51	0.34	2.45
330	0.09	0.14	0.39	0.47	0.37	0.15	0.03	1.61	0.52	0.39	0.36	2.47

The levels of UV were set at 3.0 W m⁻². The plants were harvested at 6 days after the start of UV irradiation (16 h d⁻¹). Leaf position was counted from the stem base of the main shoot. Growth data are the mean of 6 plants.

Table S1.5 Effects of 6 days UV irradiation using two types of UV light source with a peak at 320 and 310 nm, on water content in red perilla leaves.

Treatment code	Leaf position				
	2	3	4	5	6
Control	87.0	85.3	84.3	84.1	83.8
310	84.3	84.8	82.0	84.4	84.5
320	84.1	82.9	83.2	83.3	83.2

The levels of UV were set at 3.0 W m⁻². The plants were harvested at 6 days after the start of UV irradiation (16 h d⁻¹). Leaf position was counted from the stem base of the main shoot. Growth data are the means and 6 plants used for investigation of growth.

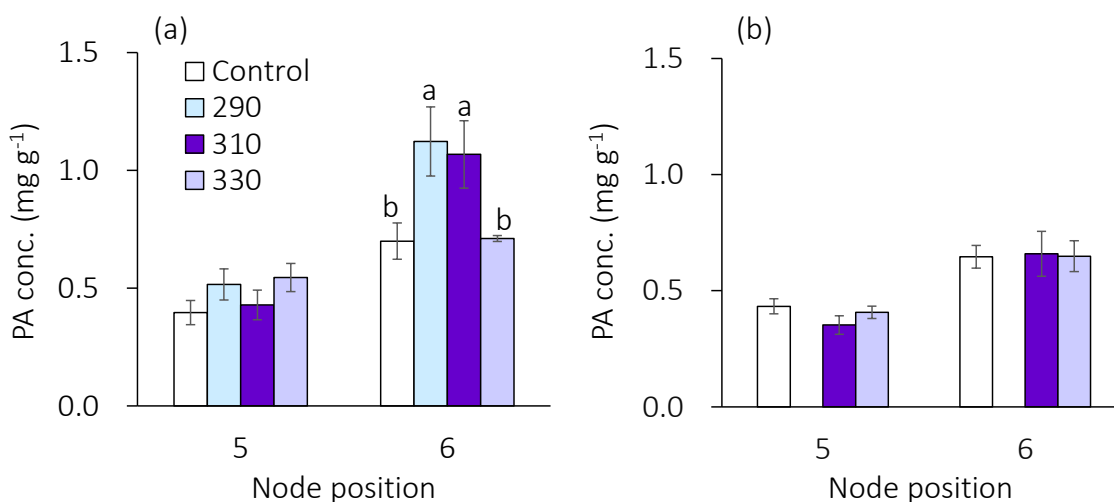


Fig. S1.4 Effects of 3 (a) and 6 (b) days of UV irradiation using three types of UV light source with a peak at 320, 310, and 290 nm, on perillaldehyde (PA) concentration in red perilla leaves. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . The plants were harvested at 6 days after the start of UV irradiation (16 h d^{-1}). Leaf position was counted from the stem base of main shoot. Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test ($n = 6$).

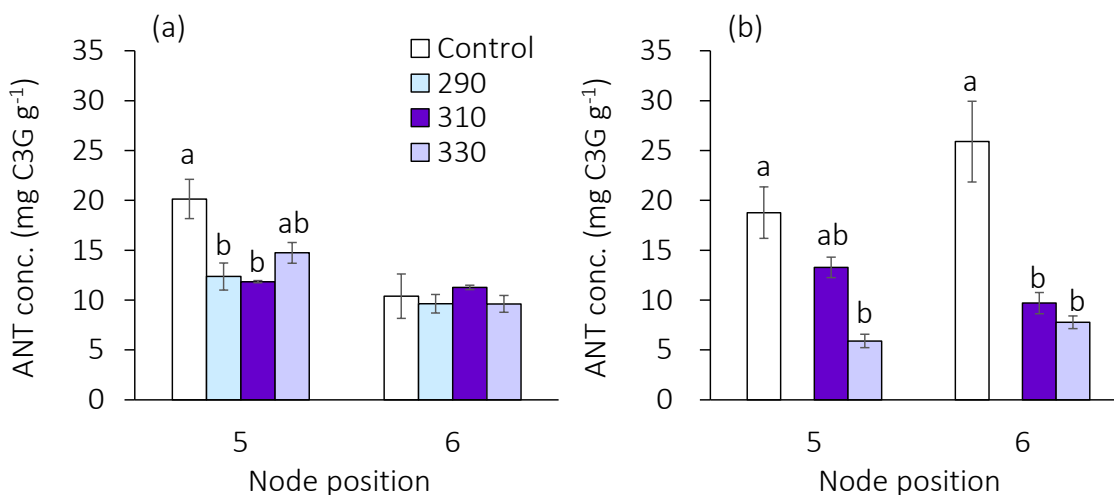


Fig. S1.5 Effects of 3 (a) and 6 (b) days UV irradiation using three types of UV light source with a peak at 320, 310, and 290 nm, on anthocyanin (ANT) concentration in red perilla leaves. The levels of UV were set at 3.0 W m^{-2} . The plants were harvested at 6 days after the start of UV irradiation (16 h d^{-1}). Leaf position was counted from the stem base of main shoot. Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test ($n = 6$).

1.4 考察

本試験では、照射開始後 1 日で 290 区の植物体の葉色が赤色から緑色に変化した。この葉色の変化は UV が直接照射されている向軸側のみでみられ、UV が照射されていないと考えられる胚軸側の葉色は変化しなかった。本試験では、UV 照射区において ANT 濃度が著しく低下した。ただし、葉色が緑色に変化したのは 290 区のみであり、310 および 330 区では葉色は Control と差はなかった。これらのことから、UV 照射による葉色の変化の理由として、葉の表面に含まれている ANT が分解され無色化した、または ANT の生合成量が著しく減少したことが考えられた。また、この結果はアカジソ葉への UV-B 照射によって ANT 濃度が低下したことを報告している Ota ら(2017) および Nishimura ら(2008)と一致した。

節位別の葉の含水率は、第 6 節葉を除いて 290 区で他の区よりも小となる傾向がみられ、特に第 4 および第 5 節葉において 290 区で Control よりも優位に小となった。290 区の UV 光源は、297 nm にピーク波長を持ち、他の処理区で使用した UV 光源よりも 300 nm 以下の UV を多く放射している。遺伝子の主要な成分である核酸や、タンパク質はそれぞれ 260 nm、280 nm 付近に紫外線の吸収ピークがあり、インドール酢酸のような植物ホルモンなど多くの生体物質も UV に吸収のピークがある。これらの物質の多くは紫外線を吸収すると損傷を受け、場合によっては破壊される(野内, 2001)。このため、本試験 290 区では、これらの物質が著しく損傷または破壊されたことにより、含水率の低下や枯れが観察されたと考えられた。また、本試験の範囲では 6 日間 UV 照射を行う場合でも 300 nm よりも短波長の光をほとんど含んでいない 310 や 330 区では、生育の抑制や外観上の変化は引き起こされないことが示された。

試験開始日の第 5 節および第 6 節葉は、それぞれ展開開始後 6-9 日、0-3 日であった。本試験では、いずれの節位の葉も展開中であったが、UV の照射開始時期の葉齢がより若かった第 6 節葉でのみ、PA 増加した。このため、展開初期の葉ほど UV 照射によって PA 濃度が増加しやすいと考えられた。UV 照射による、PA 濃度の増加の理由として、ROS の発生量の増加によるトリコーム数の増加や PA 生合成量の増加が考えられた。本試験で用いた品種は薬用のアカジソの生産に使用されている品種ではないが、アカジソは品種によらずトリコームに PA を蓄積させているため、同様の手法を用いることで、薬用品種でも同様の結果を得られる可能性がある。また、本試験では、PA 濃度は 3 日間の UV 照射では 290 および 310 区で Control よりも大となったが、6 日間照射では処理区間での差はみられなかった。

以上より、310 nm にピーク波長をもつ光源を用いて 3.0 W m^{-2} の UV を 3 日間照射することで、生育抑制や葉の変色を伴わずに展開初期の葉の PA 濃度が増加することが示された。ただし、本試験の範囲では 3 日間の UV 照射が RA および LU 濃度やトリコーム数および体積に及ぼす影響は不明であり、PA 濃度の増加に有効な葉齢の範囲は不明瞭であった。

2. 気温が食用アカジソの生育および生理活性物質濃度に及ぼす影響

2.1 目的

これまで、短期間(6d程度)の気温処理がアカジソの生理活性物質の濃度に及ぼす影響について調査した例は報告されていない。そこで、本試験では短期間の気温がアカジソの生育、PA および ANT 濃度に及ぼす影響を明らかにした。

2.2 材料および方法

2.2.1 供試材料および栽培方法

試験には、アカジソ(‘芳香赤しそ’(中原採種場(株)))を供試し、人工気象室内で育苗を行った。本試験で用いた品種のペリルアルデヒド濃度は、薬用品種と比較して 1/10 以下である。種子を水道水に浸水し、1週間後に発根および発芽がみられたものをウレタンマットに移植した。乾燥を防ぐために、ウレタンマットに移植後7日間は播種面にサランラップを被せて保湿した。灌水には、播種後14日目までは水道水、その後は大塚 A 処方 1/4 単位培養液を与えた。播種後28日目に湛液水耕装置に定植した。試験には、播種後42日目の苗を使用した。栽培中の光源には白色蛍光灯を用い、環境条件は付録 1.2 と同様とした。

2.2.2 処理区

試験はインキュベータ内で行った。インキュベータ内の気温を 10、15、25、30°C に設定し、それぞれのチャンバ内に 10 株ずつ定植した。光源は電球色のツイン蛍光灯とし、その他の条件は育苗時と同一とした。

2.2.3 測定および算定項目

測定および算定項目は乾物重、含水率、PA および ANT 濃度とした。PA および ANT については第4-第6節葉を分析対象葉とした。処理開始後6日に各処理区6株ずつ生育、PA および ANT の濃度を調査した。PA および ANT の分析方法および乾物重あたりの濃度の算定方法については、2.2.4 と同様とした。

2.3 結果

生育

処理開始後 6 日における総乾物重は気温 10 °C および 15 °C で 25 °C よりも有意に小となり、主な収穫部位である主枝葉の乾物重は気温 10 °C で 25 °C よりも有意に小となった (Table S2.1)。根の乾物重は気温 10 °C および 15 °C で 25 °C よりも有意に小となった。含水率は、第 4 および第 5 節葉で気温 10 °C が最小となった (Table S2.2)。平均節数は、気温 10 °C 15 °C で 6 節、気温 25 °C および 30 °C で 7 節となった。

ペリラルデヒド (PA) およびアントシアニン (ANT)

第 4 および第 5 節葉の PA 濃度は、気温 15 °C でその他の処理区よりも大となる傾向がみられ、30 °C と比較すると有意に大となった (Fig. S2.1)。第 6 節葉の PA 濃度は、気温が低いほど高くなる傾向がみられた。

第 6 葉の ANT 濃度は、15 °C が他の処理区よりも大となった (Fig. S2.2)。その他の節位についても気温 10 °C および 15 °C で気温 25 °C や 30 °C よりも ANT 濃度が高くなる傾向がみられた。

Table S2.1 Effects of air temperature on dry weight (g/plant) of main leaves, main stem, root, and other parts of red perilla plants.

Air temperature (°C)	Leaf position				
	2	3	4	5	6
10	85.5	81.7	79.8 b	80.1 b	84.9
15	85.9	82.8	83.0 a	83.2 a	84.0
25	86.6	84.7	84.1 a	85.5 a	86.0
30	86.5	84.4	84.2 a	83.6 a	86.5

Air temperature was set to 10, 15, 25, and 30 °C. The plants were harvested at 6 days after the start of each treatment. Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

Table S2.2 Effects of air temperature on water content (%) in main leaves of red perilla.

Air temperature (°C)	Main shoot		Lateral shoot	Root	Total
	Leaves	Stem			
Before treatment	1.04	0.50	0.12	0.37	2.02
10	1.74	0.70 b	0.30	0.50 b	3.08 b
15	1.61	0.74 ab	0.30	0.53 b	3.19 b
25	1.81	0.97 a	0.78	0.84 a	4.39 a
30	1.75	0.82 ab	0.70	0.70 ab	3.96 ab

Air temperature was set to 10, 15, 25, and 30 °C. The plants were harvested at 6 days after the start of each treatment. Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

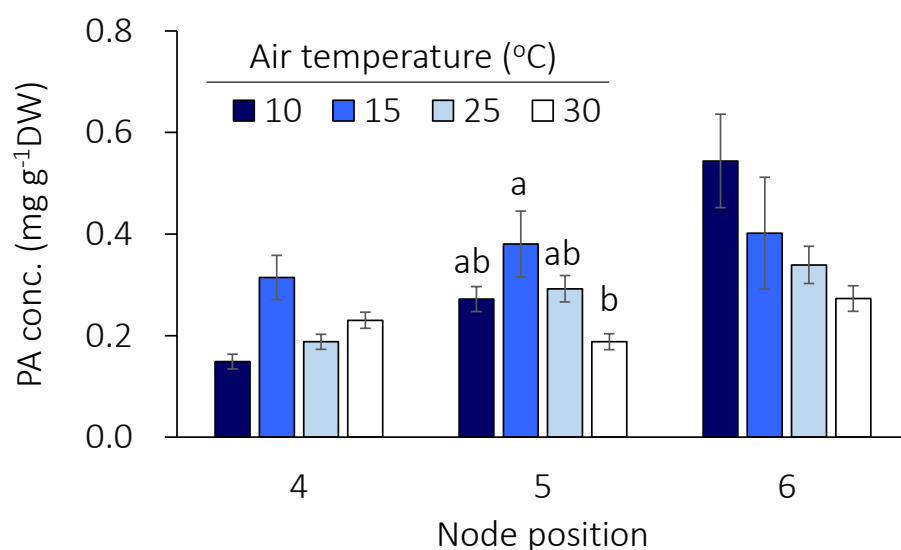


Fig. S2.1 Effects of air temperature on perillaldehyde (PA) concentration in red perilla leaf. Air temperature was set to 10, 15, 25, and 30 °C. The plants were harvested at 6 days after the start of each treatment. Vertical bars indicate SE ($n = 6$). Different letters indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

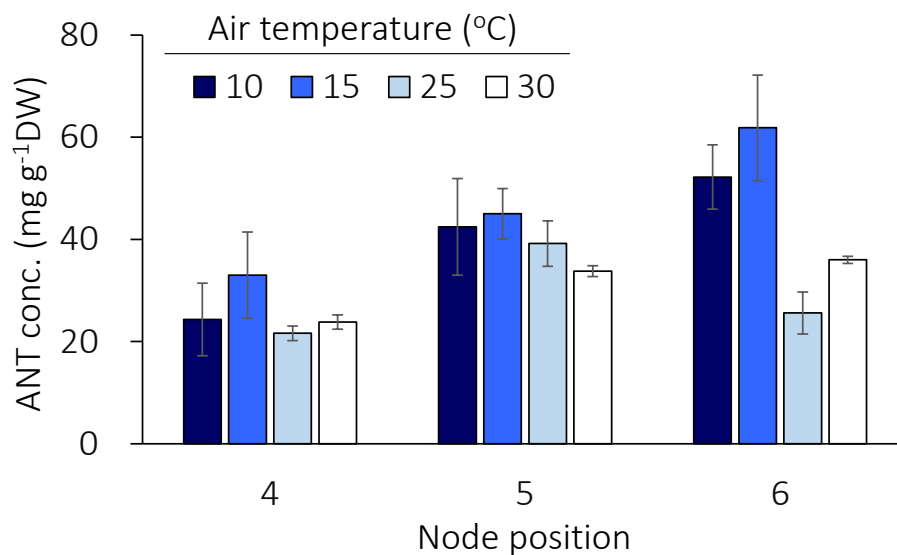


Fig. S2.2 Effects of air temperature on anthocyanin (ANT) concentration in perilla leaf. Air temperature was set to 10, 15, 25, and 30 °C, respectively. The plants were harvested at 6 days after the start of each treatment. Vertical bars indicate SE ($n = 6$).

2.4 考察

乾物重および節数の結果より、気温 10 °C および 15 °C では、25 °C および 30 °C と比較して生育が抑制されたと考えられた。また、気温を 10 °C 下では含水率が低下することが示された。

本論文の第 3 章では、UV 照射によって展開開始後 3 日の葉でのみ PA 濃度が増加した。他方、本試験では処理開始時に展開を始めていた第 4 節葉についても気温 15 °C で他の処理区よりも PA 濃度が有意に増加した。この理由として、葉の生育の遅延が考えられる。第 2 章の結果からアカジソの PA 濃度は、葉の成長が進むほど低下する。葉の生育速度や出葉速度を処理区間で比較すると、気温 15 °C では気温 25 °C および 30 °C よりも 1 節分遅れていた。さらに、第 6 節における気温 25 °C および 30 °C の PA 濃度は、第 5 節における 15 °C と同程度であった。これらのことから、気温 15 °C では気温 25 °C や 30 °C よりも葉の成長が抑制されたことにより、第 4 節葉の PA 濃度が増加したと推察される。また、アカジソでは気温 10 °C または 15 °C で 6 日間栽培すると 25 や 30 °C 栽培した場合よりも ANT 濃度が増加することが明らかとなった。ただし、気温 10 °C では ANT 濃度の増加効果は小さいことが示された。

以上より、短期間の低気温処理(気温 10 °C または 15 °C)では生育が遅れることで PA 濃度が増加し、気温 15 °C では ANT 濃度が増加するものの、株全体の生育が抑制されることが明らかとなった。他方、高気温条件として用いた気温 30 °C では生育は抑制されないものの ANT 濃度が低下することが示された。

3. 培養液温が食用アカジソの生育および生理活性物質濃度に及ぼす影響

3.1 目的

付録 2 章より、食用アカジソでは気温が低いほど ANT 濃度が増加するものの、低気温処理では生育が抑制されることが示された。既往の研究では、地下部温度を低くすることで植物の生理活性物質の濃度が増加することが報告されており (Voipio and Autio, 1994; Sakamoto and Suzuki, 2015)、培養液温のみを低くした場合には地上部の乾物重は低下しないことも多く報告されている (Beauchamp and Lathwell, 1967; Cumbus and Nye, 1982)。そこで、本試験では食用のアカジソを用いて地下部温度が生育および生理活性物質の濃度に及ぼす影響を調査した。

3.2 材料および方法

試験には、アカジソ(‘芳香赤しそ’(中原採種場(株)))を供試し、人工気象室内で育苗を行った。本試験で用いた品種のペリルアルデヒド濃度は、薬用品種と比較して 1/10 以下である。種子を水道水に浸水し、1 週間後に発根および発芽がみられたものをウレタンマットに移植した。乾燥を防ぐために、ウレタンマットに移植後 7 日間は播種面にサランラップを被せて保湿した。灌水には、播種後 14 日目までは水道水、その後は大塚 A 処方 1/4 単位培養液を与えた。播種後 28 日目に湛液水耕装置に定植した。試験には、播種後 42 日目の苗を使用した。栽培中の光源には白色蛍光灯を用い、その他の環境条件は 1.2 と同様とした。

処理区は、明期中の培養液温度を 10、20、25 °C に制御する 3 区 (T10、20、25) と培養液温を制御しない Control (23–25 °C 程度) とした。培養液温は 4.3.2 と同様の方法で制御した。

3.3 結果

3.3.1 生育

本試験の明期中の培養液温度の平均は、Control で 24.6 °C、T10 で 11.5 °C、T15 で 15.7 °C、T20 で 20.8 °C となった。処理開始後 6 日目の葉および茎の生体重、部位別の乾物重は、処理区間で有意差はみられなかった (Table S3.1)。よって、6 日間の処理であれば培養液温を 10 °C または 15 °C 程度の低温にしても生育は抑制されないことが示された。

3.3.2 生理活性物質

ペリルアルデヒド (PA)

処理開始後 6 日の乾物重あたりの PA 濃度は、第 4 および第 5 葉において培養液温度が低いほど増加する傾向がみられた (Fig. S3.1 (A))。葉面積あたりの PA 濃度についても同様の傾向を示した (Fig. S3.1 (B))。

ロズマリン酸 (RA)

処理開始後 6 日の RA 濃度は、第 4 葉においては T10 および T15 で、第 5 葉においては T10 で Control よりも有意に大となった (Fig. S3.2)。

ルテオリン (LU)

処理開始後 6 日の LU 濃度は、処理区間で有意差はみられなかった (Fig. S3.3)。

アントシアニン (ANT)

処理開始後 6 日の ANT 濃度は、第 4 葉において T20、T15、T10 で Control よりも大となる傾向がみられた (Fig. S3.4)。第 5 葉においては T20 で最大となる傾向がみられた。

Table S3.1 Effects of nutrient solution temperature (NST) on growth of red perilla.

Treatment code	Fresh weight (g/plant)		Dry weight (g/plant)				Leaf area (cm ²)	Specific leaf weight (gDW m ⁻²)
	Main leaves	Main stem	Main leaves	Main stem	Root	Total		
Control	7.83	4.44	1.21	0.43	0.42	2.05	530.6	22.8
T10	7.13	4.19	1.11	0.43	0.40	1.94	464.9	24.1
T15	7.17	3.98	1.07	0.39	0.43	1.89	448.2	23.4
T20	8.04	4.26	1.08	0.38	0.45	1.91	520.3	20.6

Treatments were applied for 6 days. NSTs of the control, T10, T15 and T20 were 24.6, 11.5, 15.7, and 20.8 °C, respectively.

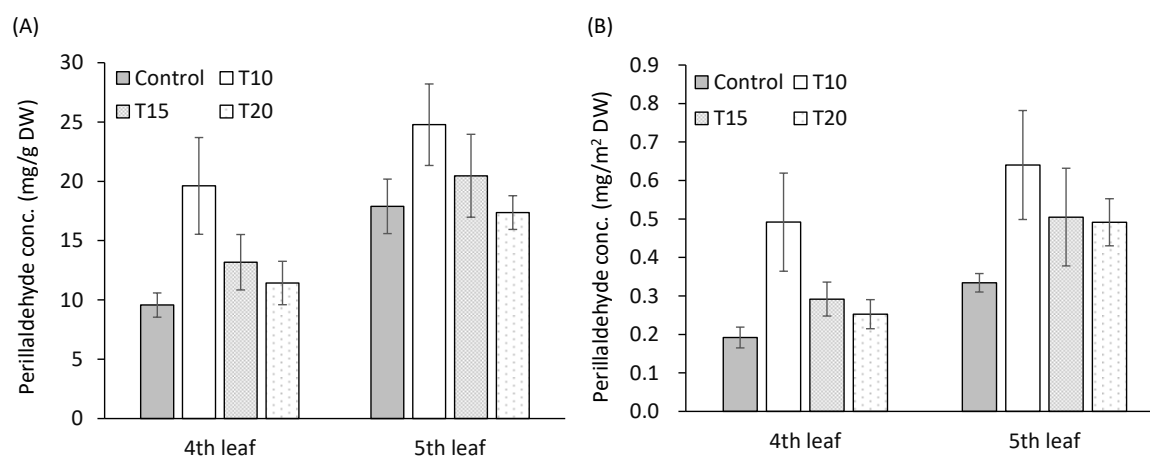


Fig. S3.2 Effects of nutrient solution temperature (NST) on perillaldehyde concentration in red perilla leaf. NSTs of the control, T10, T15, and T20 were 24.6, 11.5, 15.7, and 20.8 °C, respectively. Leaf number was counted from the cotyledons. The plants were harvested at 3 days after the start of each treatment. Vertical bars indicate SE ($n = 5$).

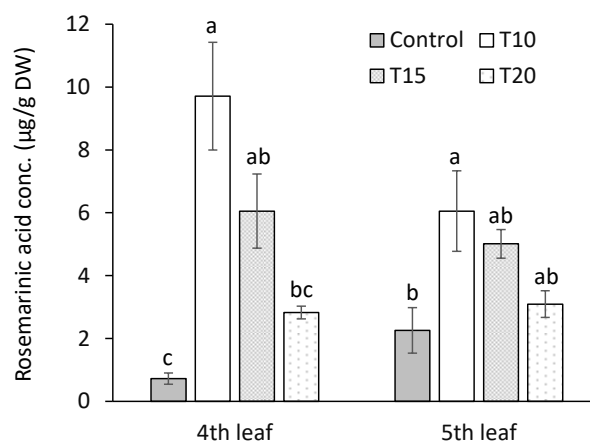


Fig. S3.3 Effects of nutrient solution temperature (NST) on rosmarinic acid concentration in red perilla leaf. NSTs of the control, T10, T15, and T20 were 24.6, 11.5, 15.7, and 20.8 °C, respectively. Leaf number was counted from the cotyledons. The plants were harvested at 3 days after the start of each treatment. Vertical bars indicate SE ($n = 5$). Different letters indicate significant differences among the treatments at $P < 0.05$ by Tukey-Kramer's test.

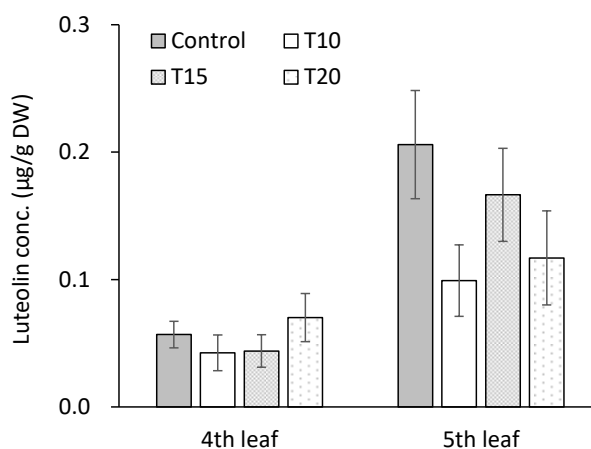


Fig. S3.4 Effects of nutrient solution temperature (NST) on luteolin concentration in red perilla leaf. NSTs of the control, T10, T15, and T20 were 24.6, 11.5, 15.7, and 20.8 °C, respectively. Leaf number was counted from the cotyledons. The plants were harvested at 3 days after the start of each treatment. Vertical bars indicate SE ($n = 5$).

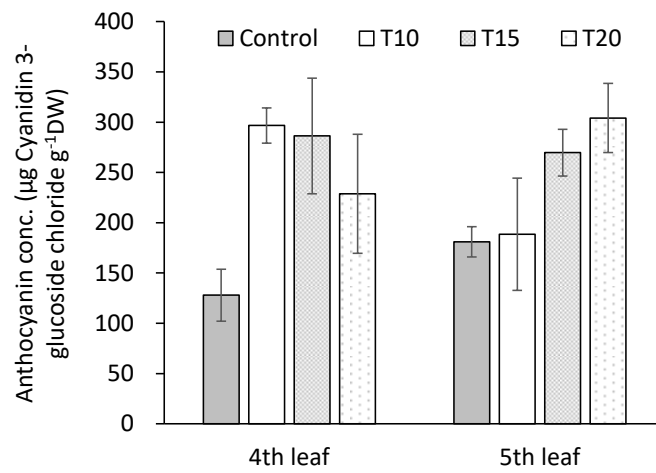


Fig. S3.5 Effects of nutrient solution temperature (NST) on anthocyanin concentration in perilla leaf. NSTs of the control, T10, T15, and T20 were 24.6, 11.5, 15.7, and 20.8 °C, respectively. Leaf number was counted from the cotyledons. The plants were harvested at 3 days after the start of each treatment. Vertical bars indicate SE ($n = 5$).

3.4 考察

PA は葉の裏側表面のトリコームで生合成、蓄積される。また、トリコームの形成は、ROS の発生により誘導されることが報告されている (Nagata et al., 1999)。本試験においては低温の区ほど乾物重あたりおよび葉面積あたりの PA 濃度が増加したことから、根圏が低温に曝されたことで植物体内に ROS が発生し、葉のトリコームの形成が誘導されたと考えられた。

RA はフェニルプロパノイド類に分類され、フェニルプロパノイド生合成経路で生合成される化合物である。フェニルアラニン-ヒドロキシケイヒ酸系路の最初の反応では、シキミ酸経路で生合成されたフェニルアラニンがフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) によって触媒される。PAL の活性は様々な環境要因によって制御されており、低栄養条件や傷害によって PAL をコードしている遺伝子の発現が高まることが報告されている (桜井ら, 2008)。このため、低温条件である T10 で RA 濃度が Control よりも増加したと考えられた。

LU は、フラボノイド類に分類され、フラボノイド生合成系路で生合成される。この経路はフェニルアラニン-ヒドロキシケイヒ酸系路の下流に位置する。フラボノイド生合成経路は、カルコン酸シンターゼ (CHS) の反応で開始する。既往の研究では、CHS をコードする遺伝子についても低温条件や傷害で発現量が高まることが報告されている (Leyva et al., 1995)。しかし、本試験において LU の濃度は増加しなかった。アカジソの LU は ANT の上流に位置する化合物 (ナリンゲニン) から生合成される。本試験の結果より、食用アカジソの場合、根圏の低温はナリンゲニンから ANT への生合成を促進し、LU への生合成には影響を及ぼさないと考えられた。

植物の ANT 濃度は、気温もしくは培養液温に影響を受けることが多く報告されており、水耕栽培されているレタスでは、培養液温度を気温よりも 2–5 °C 低く制御すると培養液温を制御しない区に比べて、ANT 濃度が増加したことが報告されている (Voipio and Autio, 1994)。T20、T15、T10 では Control よりも培養液温度が 3–13 °C 程度低く制御できていたことから、第 4 葉において既往の研究と同様な傾向がみられたと考えられた。

以上より、気温 25°C の場合、培養液温度を 6 日間、10 または 15 °C に制御することで生育を阻害せずに培養液温を制御しないよりも食用アカジソの PA、RA および ANT 濃度が増加することが示された。よって、低培養液温処理は、アカジソの生理活性物質の濃度を効率的に増加させる方法として有用であると考えられた。

引用文献

- Leyva A, Jarillo J A, Salinas J, Martinez-Zapater J M, 1995: Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a light-dependent manner. *Plant Physiology* **108**, 39-46.
- Nagata T, Todoriki S, Hayashi T, Shibata Y, Mori M, Kanegae H, Kikuchi S, 1999: γ -Radiation induces leaf trichome formation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **120**, 113-120.
- Nishimura T, Ohyama K, Goto E, Inagaki N, Morota T, 2008: Ultraviolet-B radiation suppressed the growth and anthocyanin production of *Perilla* plants grown under controlled environments with artificial light. *Acta Horticulturae* **797**, 425-429.
- Nishimura T, Ohyama K, Goto E, Inagaki N, 2009: Concentrations of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of *Perilla* plants as affected by light quality under controlled environments. *Scientia horticulturae*, **122**, 134-137.
- 野内勇, 2001: 紫外線(UV-B)増加に対する植物の反応. 大気環境変化と植物の反応. 野内勇 編著. 養賢堂, 東京. pp. 241-283. 2001.
- Ota N, Nabeshima T, Osakabe M, Aoki S, Awano T, Hosokawa M, 2017: Difference between Nighttime and Daytime UV-B Irradiation with Respect to the Extent of Damage to *Perilla* Leaves. *The Horticulture Journal* **86**, 349-356.
- Sakamoto M, Suzuki T, 2015: Effect of root-zone temperature on growth and quality of hydroponically grown red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Red Wave). *American Journal of Plant Sciences* **6**, 2350-2360.
- 桜井英博, 柴岡弘郎, 芦原坦, 高橋陽介, 2008: 二次代謝物質の生合成. 植物生理学概論, 培風館, 東京. pp.67-98.

Voipio I, Autio J, 1994: Responses of red-leaved lettuce to light intensity, UV-A radiation and root zone temperature. *Acta Horticulturae* **399**, 183-190.

Beauchamp E G, Lathwell D J, 1967: Root-zone temperature effects on the early development of maize. *Plant and Soil* **26**, 224-234.

Cumbus I P, Nye P H, 1982: Root zone temperature effects on growth and nitrate absorption in rape (*Brassica napus* cv. Emerald). *Journal of Experimental Botany* **33**, 1138-1146.