

閉鎖生態系生命維持システム (CELSS) を想定した
植物栽培に関する実験的考察*

(第1報, 光形態形成に及ぼす光照射周期の影響)

中西義孝*¹, 村上輝夫*²Experimental Studies of Plant Culture in View
of Controlled Ecological Life Support Systems (CELSS)
(1st Report, Influence of Irradiation Period on Photomorphogenesis)Yoshitaka NAKANISHI*³ and Teruo MURAKAMI^{*3}Oita University, Faculty of Engineering, 700 Dannoharu, Oita, 870-1192 Japan

Numerous attempts have been made to construct the controlled ecological life support systems (CELSS). The system will be a unique tool for researches such as test beds for the global change problem, the solutions for a zero-emission society and the large-scale life support system in outer space. The morphogenesis of plants in the system may be affected by the environmental change derived from the scale-down in ecological system. However, if the morphogenesis of plants is made clear, the high efficiency and intentional agriculture system will be put into practice. The purpose of this report is to elucidate the photomorphogenesis of plants under the variety of irradiation conditions. The experimental results showed that the changes in irradiation period had a dramatic effect on the germination, the differentiation and the growth of plants. In the 12 hours-cycle irradiation which was composed of 6 hours-bright and 6 hours dark, the growth was promoted, although the germination of peas was restricted. Mechanisms based on phytochrome, photosynthesis, circadian rhythm and source-sink relation were proposed to explain these behaviour.

Key Words: CELSS, Plant Culture, Photomorphogenesis, Phytochrome, Photosynthesis, Circadian Rhythm, Source-Sink Relation

1. 緒言

外因性内分泌攪乱化学物質 (環境ホルモン) や温室効果ガス等の物質循環研究施設 (地球環境シミュレータ), 廃棄物を出さない必要物資の生産技術 (ゼロエミッション工場) および宇宙環境での無支援生命維持システム等の開発を目的として, 閉鎖生態系生命維持システム (Controlled Ecological Life Support Systems; CELSS) や閉鎖型生態系実験施設 (Closed Ecology Experiment Facilities; CEEF) が建設され, 様々な基礎データや新しい知見が得られている^{(1),(2)}.

このようなシステムや施設では閉鎖系環境条件の中で物質循環を空調装置および物質処理装置により厳密に維持・制御し, エネルギーと情報だけが外部と交換される。しかしながら, 地球規模のバイオマスを施設規模まで縮小するため, 生態系内の動植物に過大なストレス (環境変化) を与える事態が発生する可能性も予想される。特に植物の発芽, 分化ならびに成長に与える影響は, 動物の呼吸環境や食物供給に直接かかわる問題であるので十分把握する必要がある。逆に, これらの把握・応用は, 生態系制御の有効な基礎データとも成り得る。例えば, 植物栽培モジュール内の光度, 光質, 明暗周期などの光

環境を調整することにより, 効率かつ計画的な食物生産が期待できる。

生体骨が力学的刺激に対して適応形態変化を行う⁽³⁾ことが知られている。植物の組織も重力屈性に代表されるように力学的環境に応じた適応形態変化を行い, その機構に関するモデル^{(4),(5)}も提唱されている。同時に, 植物の分化・成長は光の影響を顕著に受ける。分化に関して, 生体組織内に存在するフィトクローム (phytochrome) が特定の波長領域の光を選択的に吸収し制御作用を行う^{(6),(7)}ことが明らかとなっている。成長に関しては, 明反応とそれに続く暗反応とによって完結する光合成反応⁽⁸⁾が深く関与している。光合成の場をソース (Source), 光合成産物を材料として成長が行われる場をシンク (Sink) と考え, ソースの光合成能はそれ自体の生理状態ばかりでなくシンクが光合成産物をソースから取り去る能力にも支配される⁽⁹⁾という仮説のもとに, 植物の成長を解析する試みがなされている。

本研究の目的は, 様々な光照射条件での高等植物の発芽, 分化ならびに成長を観察し, CELSS内での植物栽培に関する一指針を得ることにある。

2. 実験方法

2.1 実験対象および栽培装置 実験対象としてスナップ豌豆 (つるあり, 以下豌豆と略す), つまみ葉大

* 原稿受付 1998年9月30日。

*¹ 正員, 大分大学工学部 (☎870-1192 大分市日野原700)。*² 正員, 九州大学工学部 (☎812-8581 福岡市東区箱崎6-1-1)。

E-mail: yoshi@cc.oita-u.ac.jp

根 (以下大根と略す) および, つるなしいんげん (すじなし・テンダーグリーン, 以下いんげんと略す) を用いた. これらの選択理由は, 1) 食用植物である, 2) 同系統の植物が多く植物学的実験対象となっている, ならびに 3) 種子の入手が容易である, ことである.

栽培装置の概略を図1および2に示す. 各装置とも暗室構造とし, 光源として植物育成用ランプ(400~700nm)を設置した. 種子の大きさや発芽後の植物の大きさにより, 装置および培地を選択した. 豌豆には図1の装置を採用した. 種子を焼製岩 (パーライト) に蒔種し水耕栽培を行った. 水耕園芸専用肥料を溶解した培養液にポンプを用いて外部空気を供給した. 大根の種子は小さく, 図1の空気供給法では蒔種した種子が不安定となる. そのため, 大根の栽培には図2の装置を用いた. 培養液をポンプにて循環させることにより, 培養液中への空気の溶解を行った. 換気装置により強制的に栽培室内の空気循環を行った. いんげんの場合, 発芽後の植物が大きく, 焼製岩中の根張りでは植物体を支持することが困難であった. そのため, 無菌土中に蒔種した. このときの栽培室には図2の暗室を用い, 定期的に無菌土に蒸留水を散布した.

2.2 実験条件および評価方法 光照射条件を表1に示す. 連続的な暗条件 (A)と明条件 (H) の他に, 明期と暗期の比率が1:1で光照射周期の異なる条件B~Gを設定した. 豌豆は10日間 (各条件48種子, 温度20℃), 大根といんげんは20日間 (各条件24種子, 温度25℃) を栽培期間とした.

対象物の発芽, 分化および成長を評価するため, 以下の評価パラメータを設定した. はじめに豌豆といんげんに対する評価パラメータの設定を行う. 蒔種からの経時的な発芽率 (germination ratio) を観察すると共に, 発芽効率の評価パラメータとして, 計測された発芽曲線から発芽指数 (germination index, 式(1)) を算出した. 発芽指数は横軸 (栽培日数) と直線近似された発芽曲線にて構成される三角形の面積に相当する.

(germination index) =

$$a \times (\text{germination ratio at harvesting time}) \times \{(\text{harvesting time}) - (\text{first germination time})\} \dots (1)$$

ここに, a は定数であり, 本報では $a=0.05$ (1/%・day)とした.

発芽後の成長モデル⁽¹⁰⁾として様々な式が求められ, 植物工場での生産計画等への応用が試みられている. 本報では単純化のため, 発芽後の成長と栽培期間が直線近似できると仮定し, 身長増加率 (height growing rate, 茎に適用, 式(2)), 面積増加率 (area growing rate, 葉に適用, 式(3)) および乾重量増加率 (weight growing rate, 葉・茎

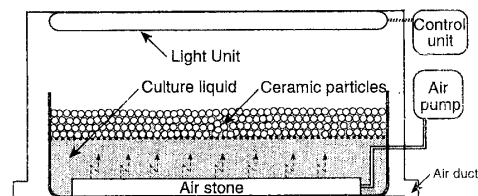


Fig.1 Plant culture system (for pea)

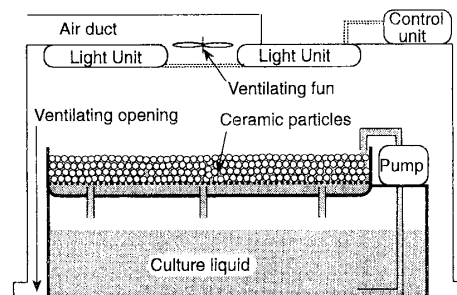


Fig.2 Plant culture system (for radish and kidney bean)

Table 1 Culture conditions

	Light on / Light off	Irradiation ratio, %	Irradiation period
A	0 h / 24 h	0	—
B	1 min / 1 min	50	2 min
C	5 min / 5 min	50	10 min
D	1 h / 1 h	50	2 h
E	6 h / 6 h	50	12 h
F	12 h / 12 h	50	24 h
G	24 h / 24 h	50	48 h
H	24 h / 0 h	100	—

に適用, 式(4)) を算出した.

$$(\text{height growing rate}) = H / T \dots (2)$$

$$(\text{area growing rate}) = S / T \dots (3)$$

$$(\text{weight growing rate}) = M / T \dots (4)$$

ここに H , M , S および T は, 栽培期間終了時のそれぞれ各個体の身長 (h_i), 本葉の面積 (s_i), 乾重量 (m_i) および発芽後の育成時間 (t_i) の総和であり, 式 (5) ~ (8) にて定義される.

$$H = \sum_i h_i \dots (5)$$

$$M = \sum_i m_i \dots (6)$$

$$S = \sum_i s_i \dots (7)$$

$$T = \sum_i \{(\text{harvesting time})_i - (\text{germination time})_i\} \dots (8)$$

乾重量は栽培期間終了後の対象物を真空乾燥機にて乾燥させ計量した。

つぎに、大根に対する評価パラメータの設定を行う。

図3に栽培期間終了後の大根の例を示す。子葉発現の後、対生配置の本葉が順次発現する。図のように茎と葉柄の明瞭な識別が難しいこと、および種子が小さく発芽の確認が難しいこと等から、栽培期間終了後の本葉の発現数と各本葉の長さおよび面積を計測・評価した。

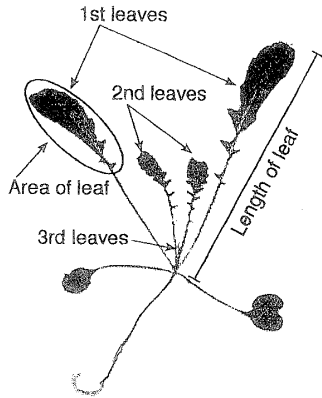


Fig.3 Definitions of the length and the area of radish leaves

3. 結果および考察

3.1 豌豆の場合 図4に発芽曲線の例を、図5に発芽指数 (式(1)) をそれぞれ示す。完全な暗条件 (0h/24h) もしくは内生リズム^{(11),(12)}とほぼ同じ光照射周期 (12h/12h) 以外の場合には発芽効率の顕著な低下が観察された。種子は吸水により代謝活性の変化が起こり、フィトクロームの作用が現れると考えられている。光エネルギーレセプターであるフィトクローム (図6) は赤色光 (600~700nm) を吸収するPr型と、近赤外光 (700~800nm) を吸収するPfr型の二つの形で存在⁽⁶⁾することが知られている。一般にPfr型が生理的に活性なフィトクロームと考えられている。Borthwickら⁽¹³⁾によりレタス種子の発芽が赤・近赤外光可逆反応の影響を受けることが見出されて以来、同様の反応が多数の植物で観察されているが、本実験結果より種子の発芽は光照射周期の影響も受けることが明らかとなった。

図7に発芽後の身長増加率を、図8に乾重量増加率を示す。光が照射される条件では緑色の幼植物形態を示したが、暗条件 (0h/24h) では緑色とはならず、黄白色でひょろひょろと長く、頂芽がかま形に曲がった特徴的な外観 (もやし形態) を有していた。Downsら⁽⁷⁾は、このような形態がフィトクロームPr型からPfr型への転換を促す赤色光を毎日2分間照射することにより回復することを示した。しかし、本実験では光照射周期2分 (1min/1min) の結果より、それより短い光照射時間 (1分) でも通常の形態となる場合があることが確認された。

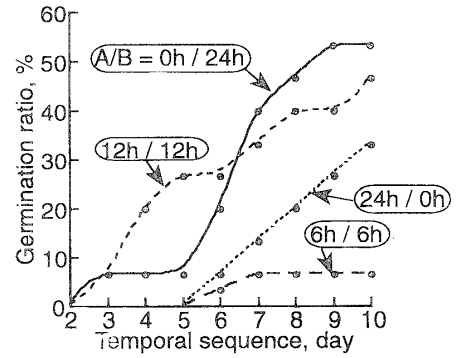


Fig.4 Influence of irradiation condition on germination ratio in peas (N=48, A/B indicates Light on/Light off)

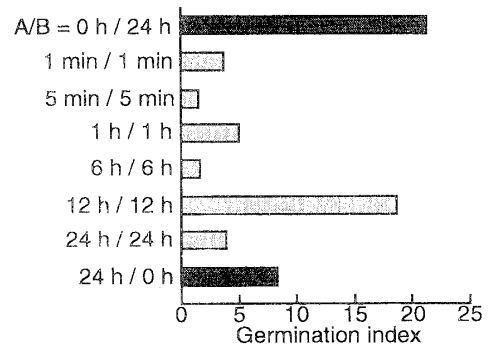


Fig.5 Influence of irradiation condition on germination index in peas (A/B indicates Light on/Light off)

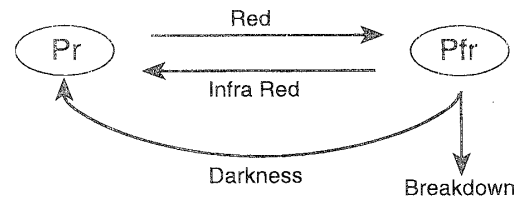


Fig.6 Reversible photoreaction of phytochrome

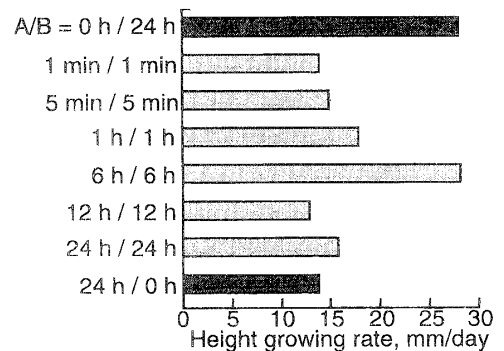


Fig.7 Influence of irradiation condition on height growing rate in peas (A/B indicates Light on/Light off)

フィトクローム Pfr型は近赤外光照射により急激にPr型に変換されるが、暗所での変換または分解は遅い (図6)。その結果、光照射周期2分 (1min/1min) においてもPfr型の累積が発生し、通常の形態を有したも

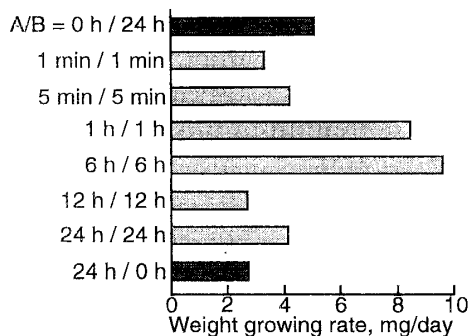


Fig.8 Influence of irradiation condition on weight growing rate in peas (A/B indicates Light on/Light off)

のと考えられる。身長増加率 (図7) は完全な暗条件 (0h/24h) と光照射周期12時間 (6h/6h) の場合に大となり、乾重量増加率 (図8) は光照射周期が2時間 (1h/1h) と12時間 (6h/6h) の場合に大となった。完全な暗条件 (0h/24h) の結果は肉眼所見を反映しているものと思われる。また、通常の光照射周期である24時間 (12h/12h) の半分である12時間周期 (6h/6h) のとき伸長・重量ともに成長が著しいことが確認された。成長に影響を与える光合成は、光化学反応により還元型助酵素ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADPH), アデノシン三リン酸 (ATP) および酸素を生成する明反応過程と、明反応生成物質を用い二酸化炭素を糖に同化させる暗反応過程に分けられる。従って、光照射を連続的に与えた場合には暗反応の進行している間に照射された光は無効、すなわち光合成の飽和⁽⁸⁾となる。また、連続照射ではソース能がシンク能を上回る可能性があり、葉の糖濃度が高まり光合成能が低下⁽⁹⁾すると考えられている。光合成の飽和現象を解消するために行われたクロレラ間欠照明実験⁽⁸⁾によれば、20ms程度の暗期をとれば光合成能が高まること示されていたが、本実験で用いたような高等植物に対しての研究はほとんどなされていなかった。実験結果は高等植物に関しては、光照射周期の減少は必ずしも成長促進とはならず、最適光照射周期が存在することが明らかとなった。この原因として、クロレラなどの藻類よりも、高等植物は内生リズムの影響が大きいことが予想される。そのため、光照射周期の変化による内生リズムの乱れが成長を阻害すると考えられる。

3. 2 大根の場合 図9と10に栽培期間終了後の葉の長さや面積の測定結果を示す。豌豆の場合と同様に、完全な暗条件 (0h/24h) では緑化と分化が確認されず、光照射周期12時間 (6h/6h) の葉の面積 (図10) は、他の光照射群のそれよりやや大となった。しかし、完全な明条件 (24h/0h) は最大の成長を示した。この原因として、葉菜類である大根は種子が小さく幼植物段階から光合成産物による成長を主とするためシンク能が高いこと、植物全体に対し葉が大きく葉自身もシンクとしての役割が

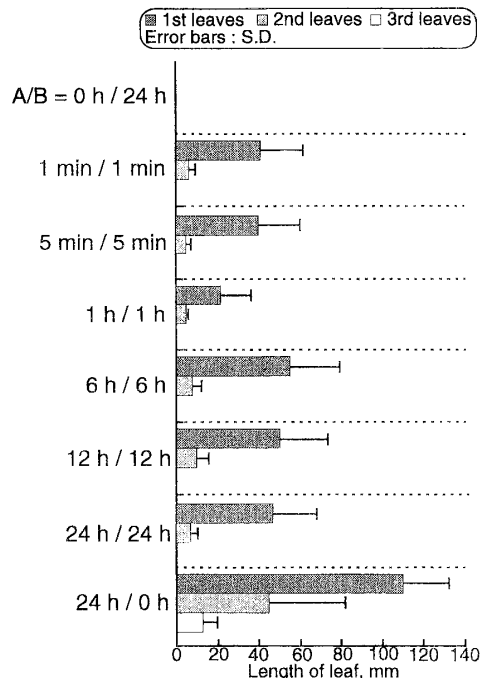


Fig.9 Influence of irradiation condition on length of leaves in radishes (N=24, A/B indicates Light on/Light off)

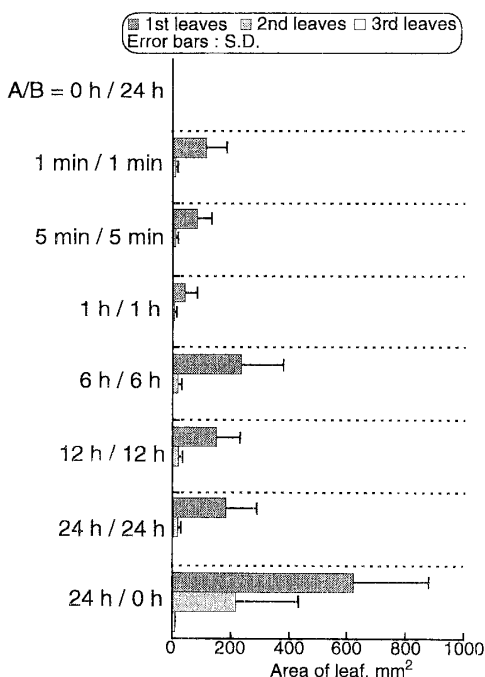


Fig.10 Influence of irradiation condition on area of leaves in radishes (N=24, A/B indicates Light on/Light off)

大きいことが予想される。

3. 3 いんげんの場合 図11に発芽曲線の例を示す。栽培日数10日目の発芽率は、豌豆の場合 (図4) と同様に完全な暗条件 (0h/24h) と光照射周期24時間 (12h/12h) の場合が大きくなる傾向が観察された。しかしながら、発芽がほぼ終了するまでの発芽率曲線

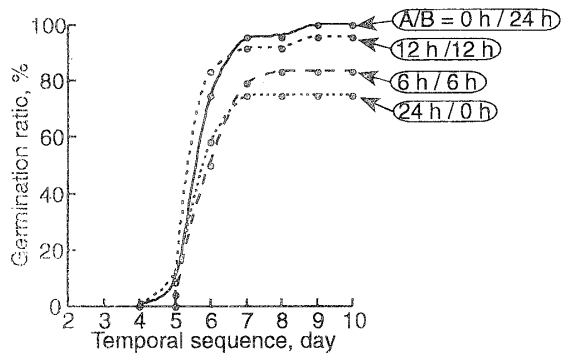


Fig.11 Influence of irradiation condition on germination ratio in kidney beans (N=24, A/B indicates Light on/Light off)

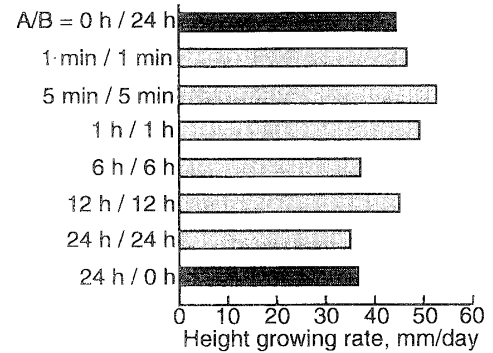


Fig.12 Influence of irradiation condition on height growing rate in kidney beans (A/B indicates Light on/Light off)

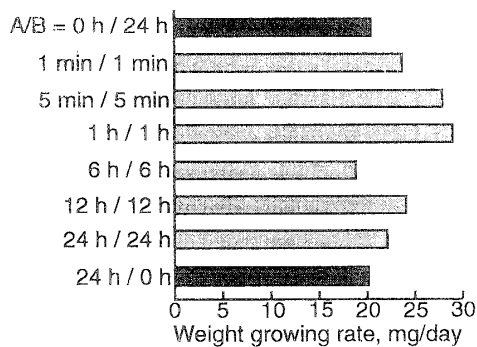


Fig.13 Influence of irradiation condition on weight growing rate in kidney beans (A/B indicates Light on/Light off)

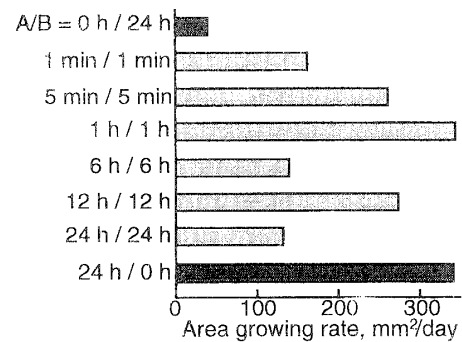


Fig.14 Influence of irradiation condition on area growing rate in kidney beans (A/B indicates Light on/Light off)

は全条件でほぼ同じであった。これらは、いんげんの培地に無菌土を用いたことが原因と考えられる。多孔質構造で白色の焼製岩中と比較し、無菌土中は照射光が透過しにくい。そのため、吸水活性したいんげん種子に及ぼす光照射周期の影響が現れにくいと考えられる。

身長増加率、乾重量増加率および面積増加率を図12、13および14にそれぞれ示す。光照射周期10分 (5min/5min) のとき身長増加率が最大となった。乾重量増加率と面積増加率は光照射周期2時間 (1h/1h) のとき最大となった。豌豆 (図7, 8) や大根 (図9, 10) では増加率が增大する傾向にある12時間周期 (6h/6h) の場合、いんげんでは各増加率とも減少する傾向が観察された。これらの結果より、植物の種類によって成長率が最大となる光照射周期が異なることが考えられる。さらに、同じ植物でも部位によって成長率が最大となる光照射周期が異なることも推測できた。本報の光照射周期条件は、明暗比を1:1に限定した。今後、光照射条件および実験対象植物種を増やし、詳細な検討を行う予定である。

4. 結言

閉鎖生態系生命維持システム (CELSS) 内での植物栽培を想定し、植物の形態形成等に影響を与える諸因子の一つとして光照射周期に着目した。植物の例として豌豆、大根およびいんげんを対象とした実験の結果をまとめると以下ようになる。

- (1) 種子の発芽効率は光照射の影響を受けた。豌豆の場合、完全な暗条件と光照射周期24時間 (12時間明期/12時間暗期) のとき高い発芽効率を示した。
- (2) 光照射周期が2分 (1分明期/1分暗期) の場合にも、3種とも発芽後の植物の分化と緑化が確認された。分化に至る機構として、生理的に活性化フィトクロームPfr型の累積作用を提案した。
- (3) 植物の成長率は、光照射周期24時間よりも短い、ある特定の周期にて最大値を示した。豌豆の場合には、光照射周期12時間 (6時間明期/6時間暗期) のとき高い成長率を示した。この原因について光合成反応 (明反応と暗反応の関係)、シンクとソース、および内生リズムの観点から考察した。
- (4) 同じ植物でも部位によって成長率が最大となる光照射周期が異なることが推測できた。

最後に、実験に協力頂いた九州大学工学部門田孝洋君に謝意を表す。

文献

- (1) たとえば,丸山,平成10年度CELSS学会学術講演会講演集,(1998),15- 20.
 - (2) Alling,A. and Nelson,M., LIFE UNDER GLASS -The Inside Story of Biosphere 2-, (1996), Synergetic press.
 - (3) Cowin,C.S.,J.Biomech.Eng.,108,(1986),83-88.
 - (4) 尾田十八,BME,6,10,(1992),31-41.
 - (5) 野方,瀬尾,機講論,97-72,(1998),284-285.
 - (6) Siegelman,H.W. and Butler,W.L., Ann. Rev.Plant Physiol.,16,(1965),383-392.
 - (7) Downs,R.J., Plant Physiol.,30,(1955),468-472.
 - (8) 藤茂宏,光合成-明反応研究の流れ-,(1982),東京学術出版会
 - (9) 藤田耕之輔,ソース・シンク関係と植物生産,(1991),朝倉書店
 - (10) 例えば,高辻,植物工場学会誌,4,2,(1993),118-122.
 - (11) Bünsow,R.,Planta, 42,(1953),220-252.3
 - (12) Cumming,B.G.,Can.J.Botany,45,(1967),2173-2193.
 - (13) Borthwick,H.A.,Hendrick,S.B.,Parker,M.W., Tool,E.H.andTool,V.K.,Proc.Nat.Acad.Sci. USA,38,(1952),662-666.
-