

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04571

研究課題名(和文)短波長光照射による野菜の機能性二次代謝成分の制御

研究課題名(英文)Control of accumulation of functional phytochemicals of leaf vegetables by UV light irradiation

研究代表者

後藤 英司 (Goto, Eiji)

千葉大学・大学院園芸学研究科・教授

研究者番号：00186884

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、抗酸化成分の増加に効果的で、人工光型植物工場で有用なUV照射条件を探索することを目的とした。主な対象植物は赤系リーフレタスと赤ジンとした。ここでは赤系リーフレタスを用いた研究成果について報告する。異なるピーク波長のUVLEDとUV蛍光灯を組み合わせ照射し、UV波長がレタスの成長、総抗酸化能、抗酸化成分濃度、抗酸化成分の生合成に関わる遺伝子発現について調査した。その結果、310 nm付近をピーク波長とするUV光を、0.1から0.2 W m<sup>-2</sup>のUV強度で短期間照射することで、アントシアニン等の抗酸化成分の生合成・蓄積が促進されることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Red leaf lettuce grown under white light was used as the plant material. Three peak wavelengths (310, 325, and 340 nm) of UV lights at 0.5 Wm<sup>-2</sup> for 16 h were added to the white light for 3 d prior to harvest. Anthocyanin concentration and ORAC value of the leaves were measured every 8 h. mRNA gene expression of chalcone synthase (CHS) and the flavonoid 3-O-glucosyltransferase (UFGT) were also analyzed every 8 h. Anthocyanin concentration was significantly higher at 310 nm compared with 325 and 340 nm. Total ORAC values of the UV treatments were higher than in the control. CHS was highest at 310 nm, followed by 325 nm. UFGT increased with time, similarly to the anthocyanin concentration. These results indicated that UV-B light stimulated the biosynthesis of anthocyanin and other antioxidant polyphenols. From this research, we concluded that addition of UV light 1 to 3 d prior to harvest is effective for the production of functional phytochemical rich lettuce.

研究分野：植物環境工学

キーワード：紫外線 機能性成分 光質 アントシアニン 抗酸化能 植物工場 生理活性物質

### 1. 研究開始当初の背景

緑黄色野菜のうちの葉菜類は、生活習慣病予防や抗菌作用を持つ機能性二次代謝成分を葉・茎に蓄積し、環境変化に敏感な植物である。これらの野菜は植物工場や温室で栽培されているが、含有量が光環境条件によって大きく変動することが問題になっている。しかし、これら成分の生合成と光波長・光強度の関係を定量的に示す取り組みはなされておらず、成長との関係や他成分との競合についての知見も少なく、光環境制御法が確立できていないため、早期の研究進展が求められている。

### 2. 研究の目的

生合成および蓄積に有効な UV 波長、UV 強度および照射日数や、その UV 条件が抗酸化成分の蓄積に及ぼす影響を調査している例は少ない。本研究は、抗酸化成分の増加に効果的で、人工光型植物工場で有用な UV 照射条件を探索することを目的とした。主な対象植物は赤系リーフレタスと赤ジソとした。ここでは赤系リーフレタスを用いた研究成果について報告する。

まず UV 波長と機能性二次代謝物の生合成の関係 (試験 1) を調査し、次に UV 強度および照射日数とアントシアニン等の抗酸化成分との関係 (試験 2 および 3) を調査した。

### 3. 研究の方法

【試験 1】UV 波長がアントシアニンの生合成遺伝子の発現量に及ぼす影響

#### はじめに

アントシアニンは UV 領域に吸収の波長域を持つ。既往の研究から、アントシアニンの蓄積に有効な UV 波長域が明らかになりつつあるが、UV 波長とアントシアニンの生合成遺伝子の発現量との関係は調査されていないため、生合成が波長依存的な反応によるものか量的な反応によるものか明確ではない。試験 1 では、半値幅の狭い紫外線 LED を用いて、UV 波長とアントシアニンの生合成遺伝子の発現量との関係を調査した。

#### 材料および方法

供試植物は赤系リーフレタス (*Lactuca sativa* L.、'レッドファイヤー') とした。第 1 表の環境条件で 17 日間育苗し、UV 照射を開始した。UV 光源として、310、325 および 340 nm をピーク波長とする 3 種の紫外線 LED (UV-LED) を用いた。UV 照射は、明期 (16 h d<sup>-1</sup>) に 0.5 W m<sup>-2</sup> の UV 強度で 3 日間行った。主光源として、育苗期間には昼白色蛍光灯、UV 照射期間には赤色 LED (ピーク波長 660 nm) を使用した。調査項目はアントシアニンの生合成遺伝子 (生合成経路の上流の CHS および下流の UFGT) の発現量とした。UV 照射開始後 0 h から 72 h まで、8 h おきに経時変化を調査した。

【試験 2】UV 強度および UV 照射期間がアン

トシアニンの蓄積に及ぼす影響

#### はじめに

試験 1 で用いた UV-LED は着色不良の改善に効果があるが、寿命が短く、発光強度が低い光源である。そのため、UV-LED に代わり実用化がしやすい UV 光源が開発されることが期待される。試験 2 では、近年開発された UV 付加白色蛍光灯を用いて、アントシアニンの蓄積に対して効果的な UV 強度および照射期間を明らかにすることを目的とした。

#### 材料および方法

供試植物は試験 1 と同様とした。第 1 表の環境条件で 28 日間育苗し、UV 照射を開始した。主光源として、播種後 14 日目までは昼白色蛍光灯、播種後 15 日目以降は昼白色 LED を使用した。UV 照射には、一般の昼白色蛍光灯と可視光域の分光分布は同じで、UV を付加した UV-B 付加白色蛍光灯 (UV-FL、試作品) を用いた。UV 領域におけるピーク波長は、試験 1 でアントシアニンの生合成に適すると示された 310 nm である。UV 照射は明期 (16 h d<sup>-1</sup>) に 0.0 (対照区)、0.1、0.2、0.3、0.5 W m<sup>-2</sup> の UV 強度で 6 日間行った。調査項目はアントシアニン濃度とした。UV 照射開始後 2 日目から 6 日目まで、経日変化を調査した。

【試験 3】UV 照射が生育および抗酸化成分の蓄積に及ぼす影響

#### はじめに

試験 2 で示された 0.2 W m<sup>-2</sup> 以下の UV 照射条件で、リーフレタスの生育に悪影響がみられない場合、本条件は生育阻害を起こさずにアントシアニンの蓄積量を高められる UV 照射条件であると言える。また、既往の研究で、UV 照射によりアントシアニン濃度が増加するにつれて、抗酸化能も増加する傾向がある (Lee ら、2014) ことが報告されている。したがって、抗酸化成分の蓄積についても、試験 2 で示された UV 照射条件下で促進された可能性がある。試験 3 では、試験 2 で示された UV 照射条件が、生育阻害を起こさずに抗酸化成分の生合成を促進する条件か否かを調査した。

#### 材料および方法

供試植物および育苗方法は試験 2 と同様とした。試験中の PPFD は 150 および 250 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> の 2 水準を設けた。UV 照射は 0.0 (対照区)、0.1、0.2 W m<sup>-2</sup> の UV 強度で 5 日間行った。調査項目は、地上部生体重、全乾物重、含水率、葉面積、クロロフィル濃度 (以上、生育の指標)、葉色 (色度 a\*)、アントシアニン濃度、総ポリフェノール濃度および抗酸化能とした。色度 a\* は、値が大きいほど葉に赤みがあることを示す。

第1表 育苗および試験時の環境条件

明期	16 h d <sup>-1</sup>
PPFD <sup>z</sup>	150 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
気温	25/20 (明期/暗期)
相対湿度	70%
CO <sub>2</sub> 濃度	1000 μmol mol <sup>-1</sup>

<sup>z</sup>栽培パネル面上の光合成有効光量子束密度

#### 4. 研究成果

##### 【試験1】

*CHS* の mRNA 発現量は、310 nm 区で UV 照射 8 h 以降、325 nm 区で 32 h 以降に上昇した。340 nm 区での *CHS* の mRNA 発現量は、他の UV 照射区と比較して小となる傾向がみられた (第1図(A))。UV の波長が短いほど *CHS* の mRNA 発現量の上昇が早くみられ、発現量も大となる傾向がみられた。本試験では同一の UV 強度 (0.5 W m<sup>-2</sup>) としているが、短波長ほど光量子あたりのエネルギーが高いため、UV に対する葉内の防御反応がより引き起こされ、*CHS* の mRNA 発現量の上昇が早くなったと考えられた。*UFGT* の mRNA 発現量について、310 nm および 340 nm 区に着目すると、明期開始後に上昇、暗期開始後に下降する傾向がみられた (第1図(B))。

そのため、UV 照射の時間に合わせて発現量が変動していると考えられた。試験区ごとに比較すると、310 nm 区では *CHS* および *UFGT* の発現が早期から上昇すること、325 nm 区では 310 nm 区と比較して両遺伝子の発現の上昇時期が遅いこと、340 nm 区では下流の *UFGT* の発現量は上昇したが上流の *CHS* の発現量はほぼ変わらないことが明らかとなった。したがって、310 nm および 325 nm では時期が異なるもののアントシアニンの生合成が促進されること、340 nm では生合成経路が十分に活性化しない可能性が考えられた。試験1と同一の UV 条件ではアントシアニン濃度が 310 nm 区で最も大となること、340 nm 区で対照区と同等であることが明らかとなっている。そのため、*CHS* および *UFGT* 両遺伝子の発現量が大きくなるのがアントシアニンの蓄積量を高めるのに必要であると示唆された。本試験より、アントシアニンの生合成は波長依存的事であること、特に 310 nm 付近の波長がアントシアニンの生合成の促進に適すると示唆された。

##### 【試験2】

0.1 W および 0.2 W 区のアントシアニン濃度は、UV 照射 4 日目から 5 日目にかけて上昇し、UV 照射 5 日目に対照区と比較して大となった。0.3 W 区のアントシアニン濃度は、対照区と同程度の値または対照区と比較して小となった (第2図)。0.5 W 区は 0.3 W 区と同様の傾向であった (データ略)。試験1では 0.5 W m<sup>-2</sup> の UV 強度でアントシアニンの生合成の促進効果が示唆されたが、試験2

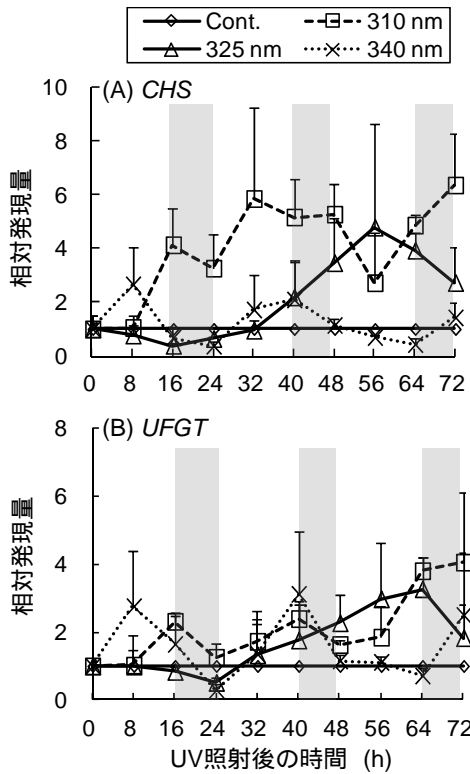
では同一の UV 強度でも異なる傾向であった。既往の研究から、290 nm 付近の UV では、赤系リーフレタスのアントシアニンの蓄積量は高められないことが明らかとなっている。試験1の UV-LED は 290 nm 以下の光波長をほとんど含まないが、試験2の UV-FL は微量含んでいる。試験2の 0.3 W m<sup>-2</sup> 以上の UV 強度では 290 nm 以下の UV の照射強度が高く、アントシアニンの生合成および蓄積に負の影響をもたらした可能性が考えられた。本試験より、UV-FL では 0.2 W m<sup>-2</sup> 以下の UV 強度で5日間 UV 照射を行うことで、アントシアニンの蓄積量を高められる可能性が示唆された。

##### 【試験3】

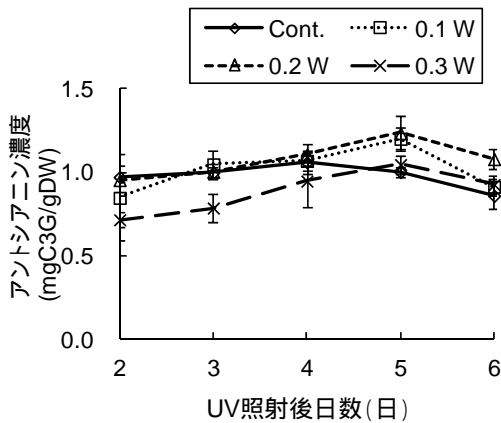
いずれの PPFD においても、試験区間で生育に有意差はみられなかった (データ略) ため、生育障害が起こらなかったと考えられた。色度 a\* は UV 照射区で大となり、また対照区と UV 照射区の数値の差は PPFD が高いほど大となる傾向がみられた (第2表)。したがって、外観上の葉の着色程度は、UV 照射によって大となること、高 PPFD 下ほど葉が赤みを持つことが示された。UV 照射区のアントシアニン濃度が対照区と比較して大となった (第3図(A)) ことから、試験区間の葉色の違いはアントシアニンの蓄積量の違いに起因することが示唆された。UV 照射区のアントシアニン濃度、総ポリフェノール濃度および抗酸化能は、いずれの PPFD でも対照区と比較して大となる傾向がみられ (第3図)、アントシアニン濃度は試験2と同様、UV 照射により増加した。したがって 0.1 から 0.2 W m<sup>-2</sup> の UV 強度は、アントシアニンの蓄積を高めるのに有効な強度の範囲内であったと考えられた。PPFD が高いほど、UV 照射によるアントシアニン等の抗酸化成分の蓄積の促進効果があった。この理由として、PPFD が高いほど光合成産物量が多くなり、抗酸化成分の生合成に用いられたと考えられた。試験2および3より、生育も考慮した上で抗酸化成分の蓄積量を高めるためには、UV 強度 0.1 から 0.2 W m<sup>-2</sup> で5日間の UV 照射が良いことが明らかとなった。

##### 【まとめ】

310 nm 付近をピーク波長とする UV 光を、0.1 から 0.2 W m<sup>-2</sup> の UV 強度で短期間照射することで、アントシアニン等の抗酸化成分の生合成・蓄積が促進されることが明らかとなった。また、本研究で示された UV 条件で抗酸化能が増加したことから、人工光型植物工場において抗酸化成分を高蓄積した赤系リーフレタスの生産が可能となることが示唆された。



第1図 異なるピーク波長のUVが赤系リーフレタスのCHSおよびUFGTの発現量に及ぼす影響【試験1】。分析対象葉は出葉直後の葉から数えて3番目の葉とし、リアルタイムPCR法によりmRNA発現量を測定した(n=3)。内部標準遺伝子にはActinを用いた。UV照射区のmRNA発現量は対照区を1.0とした時の値を示した。図中の灰色の領域は暗期を、バーは正方向への標準誤差を示す。

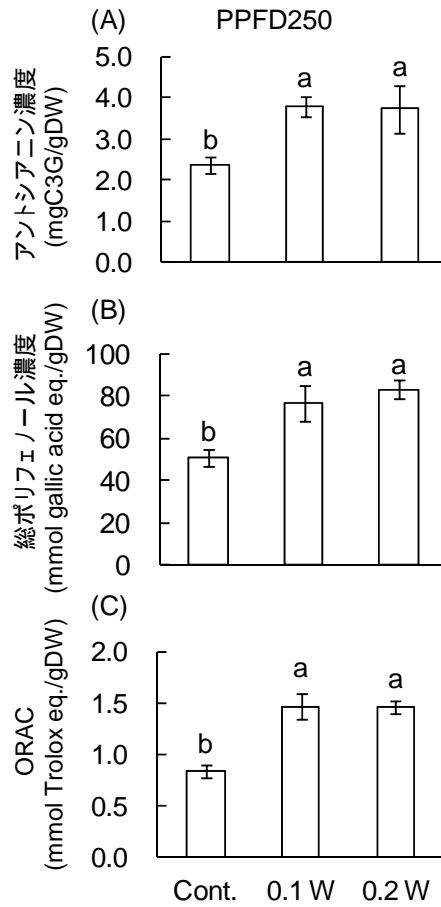


第2図 UV強度が赤系リーフレタスの乾物重あたりのアントシアニン濃度に及ぼす影響【試験2】。分析対象葉は出葉直後の葉から数えて4番目の葉とした。図中のバーは標準誤差を示す(n=2-6)。抽出液の吸光度を分光光度計で測定し、シアニジン-3-グルコシド当量(C3G)として算出した。

第2表 UV照射が赤系リーフレタスの葉色<sup>z</sup>に及ぼす影響【試験3】

試験区	色度 a*	
	PPFD	
	150	250
Cont.	-14.7±1.4	-12.6±1.9
0.1 W	-11.9±1.7	-4.1±2.7
0.2 W	-11.5±1.5	-3.0±3.1

<sup>z</sup>測定対象葉は出葉直後の葉から数えて4番目の葉とし、葉身の中心部を色彩色差計で測定した(n=5-6)。マンセル表色系の番号および記号で示された値を表色系変換ソフトを用いてL\*a\*b\*に変換した。本表ではa\*(+は赤色方向、-は緑色方向)の値を示す。



第3図 UV照射が赤系リーフレタスの乾物重あたりの抗酸化成分の蓄積量に及ぼす影響【試験3】。分析対象葉は出葉直後の葉から数えて4番目の葉とした(n=5-6)。

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

E. Goto, K. Hayashi, S. Furuyama, S. Hikosaka and Y. Ishigami. 2016. Effect of UV light on phytochemical accumulation and expression of anthocyanin biosynthesis genes in red leaf lettuce. Acta Hort. 1134: 179-185.

〔学会発表〕(計 4 件)

Goto, E., Ide, M., Hayashi, K., Ogawa, E., Saito, Y. and Hikosaka, S. 2017. Enhancement of phytochemical accumulation and antioxidant capacity of plants by addition of UV light and/or control of nutrient solution temperature. ISHS Meeting on GreenSys2017. Beijing, China. Aug. 2017.

Eiji Goto. Technology development and commercialization of high value added plant production in plant factory. The International Symposium on Commercialization of Smart Farm (GARES Symposium), (May 12, 2016). Gyeonggi-do, Korea.

Eiji Goto. Effect of UV light on phytochemical accumulation and antioxidant capacity in red leaf lettuce. 13th China International Forum on Solid State Lighting (13th SSLCHINA), (Nov.16, 2016). Beijing, China.

Eiji Goto. Environmental control for high value added plant production in a greenhouse and a plant factory. Joint-Workshop for Plant Factory, (Dec.27, 2016). Seoul, Korea.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：

権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

後藤 英司(Goto, Eiji)  
千葉大学大学院園芸学研究科・教授  
研究者番号：00186884

(2)研究分担者

彦坂 晶子(Hikosaka, Shoko)  
千葉大学大学院園芸学研究科・准教授  
研究者番号：50345188

兼子 敬子(大橋 敬子)(Ohashi, Keiko)  
玉川大学農学部・教授  
研究者番号：50332599

石神 靖弘(Ishigami, Yasuhiro)  
千葉大学大学院園芸学研究科・助教  
研究者番号：50361415

(3)連携研究者

( )

研究者番号：

(4)研究協力者

( )