

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02195

研究課題名(和文) 可視光の不規則照射による紫外線応答類似反応の誘導

研究課題名(英文) Induction of UV-stress responses by fluctuating visible light

研究代表者

河鱈 実之 (Kawabata, Saneyuki)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授

研究者番号：10234113

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)：LEDによる人工光型植物工場が普及しつつあるが、太陽光下における栽培と比較すると生産物の品質が劣ることがある。その原因としてLED光が紫外線を含まないことが考えられる。本研究ではLED植物工場において紫外線効果を代替する処理を開発することを目的とした。新たな光源を必要としない方法として、3秒周期から30分周期の点滅光を赤系リーフレタスに照射してその影響を調べたが、いずれの周期によってもアントシアニン合成の誘導は見られなかった。また、UV-B、UV-Aのいずれによっても十分なアントシアニン合成は認められなかった。一方、最も効果が高かったのは100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 以上のPPFDの青色光であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年普及しつつあるLEDを用いた野菜栽培において、可視光LEDでは露地栽培ではみられない傷害が発生したり着色不良を起こすことがある。その原因として紫外線の不足が考えられた。しかし、紫外線ライトを植物工場に導入することはコスト面から現実的ではなかった。この研究では、特にリーフレタスにおけるアントシアニンの蓄積に対しては紫外線の照射や変動光は有効でなく、一定強度以上の青色光が最も重要であることを示した。

研究成果の概要(英文)：Artificial light-emitting diode (LED) plant factories are becoming increasingly popular, but there are differences in the quality of products compared to cultivation under sunlight. One of the reasons for this may be that LED light does not contain ultraviolet light. The objective of this study was to develop an alternative treatment to the UV effect in plant factory.

Red leaf lettuce was irradiated with flashing lights with 3-second to 30-minute cycles as a treatment that does not require a new light source, and the effects of these cycles on anthocyanin accumulation were examined in red leaf lettuce. However, sufficient anthocyanin synthesis was not observed with either cycle of flashing light, nor with either UV-B or UV-A. On the other hand, the most effective light was blue light at PPFD of more than 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$.

研究分野：園芸学

キーワード：LED植物工場 アントシアニン 変動光

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

新しい園芸作物の栽培技術として植物工場の利用の拡大が進みつつある。植物工場は大きく分けると、太陽光利用型と人工光利用型にわけられ、作物種により利用が使い分けられている。人工光型の植物工場ではエネルギーコストの削減がもっとも重要な課題のひとつであり、LED が一般的に用いられる。しかしながら、LED を利用した作物栽培では、これまでの蛍光灯や HID ランプ(メタルハライドランプ、高圧ナトリウムランプ)などの光源を用いた栽培では見られなかった形態異常や障害が葉にみられることがある。たとえば、トマトの育苗では葉にカルスのような瘤状の組織が形成される。また、赤系レタスでは LED 下では十分な発色が得られないことも知られている。これらの異常は LED 光源に紫外線がほとんど含まれないことと関係していることが疑われている。実際にトマトの瘤病については紫外線である UV-B の照射によって防ぐことができたという報告がある。ストレスはアントシアニンなどの機能成分を生成するために有効であり、ストレスが少なく紫外線もない植物工場内の環境では、太陽光下での栽培で期待されるような機能性成分が蓄積しない懸念がある。

2. 研究の目的

紫外線 LED も開発されているが、可視光の LED 価格が大幅に低下したのに対して、紫外線 LED、特に UV-B 領域から UV-A 領域の紫外線を放射する LED は非常に高価なものであり、寿命も短く光強度も弱く、実用的ではない。紫外線を放射する蛍光灯等と組み合わせて利用することも考えられるが、実際の栽培では栽培棚が多段に設置されていて LED が近接照射されるため、紫外線蛍光灯を棚の間に挟み込むことは難しい。収穫前に栽培棚を平面に広げ一時的に紫外線を照射することも可能であるが、効率的な方法とは言えない。したがって、現状では、LED 型植物工場において光源に紫外線を含ませることは困難である。そこで、紫外線を照射せずに、LED 栽培でみられる障害を防ぐ方法の開発が望まれる。

紫外線は、細胞の DNA、タンパク質、細胞膜に吸収されて物理的に傷害をあたえるほか、活性酸素種 (ROS) の発生を誘導する。この ROS がシグナルとなって様々なストレス応答を誘導すると考えられている。紫外線以外のストレスも ROS を発生させる原因となる。そこで何らかのストレスを植物に与えることにより、紫外線光源を用いずに紫外線と同等の効果を示す技術を開発することが本研究の目的である。

太陽光のストレスは、紫外線や強光だけでなく、雲や木々の葉によっても生じる。太陽光のちらつき、いわゆる fluctuating light に対する植物の応答について、そのメカニズムの研究が進んでいる。シロイヌナズナの実験によると、強光と弱光を交互に照射すると、チラコイド膜における光化学系とその後のエネルギーの伝達とのバランスがくずれ、ROS が発生すると考えられている。そこで、このストレス応答を利用すれば、大きなエネルギー消費をとまわずに ROS の発生を誘導し、さらには強光順化をさせられることが期待できる。

3. 研究の方法

植物工場で育苗したアブラナ属野菜苗の紫外線に対する反応

ブロッコリ‘ピクセル’、‘ハイツ’、‘ドシコ’、キャベツ‘サクセション’、コールラビ‘アスルスター’を白色 LED 下で 4 週間育苗した後に、太陽光下 (0.6-1.6W/m²) または UV-B LED 光 (0.3 - 1W/m²) においてその後の葉焼けの発生を調べた。また、同様に育苗したレタスに UV-A または UV-B 光を照射し、その後のアントシアニン蓄積を調べた。

赤系リーフレタスにおける点滅光・紫外線によるアントシアニンの蓄積

リーフレタス‘レッドパタピア’または‘レッドファイヤー’を用いた。白色光による明期 (16 時間) 中の光照射明暗周期を、3 分/1 分 (明/暗)、30 秒/10 秒 (明/暗)、3 秒/1 秒 (明/暗)、310nm (連続)+2 秒/1 秒 (明/暗)、2 秒/1 秒 (明/暗)、310nm (連続)、325nm (連続)、325nm (連続)+2 秒/1 秒 (明/暗)、365nm+2 秒/1 秒 (明/暗)、および白色光なしで赤青光 20 分/10 分 (明/暗) の処理区をもつけ、光照射条件による葉の着色を調査した。白色光および赤青光の光合成光子束密度は 150μmol/m²s とするよう設定した。

赤カブ芽生えにおける紫外線によるアントシアニン蓄積

赤カブ‘津田蕪’あるいは‘あやめ雪’を暗黒下で湿った紙上に 1 列に並べて播種し、高さが 1 - 2 cm 程度になった段階で、UV-B から UV-A 領域の紫外線、および青色光を LED により照射した。光照射処理開始時に下胚軸を 4 分割する位置にインクでしるしをつけ、下胚軸、紫外線および青色光によるアントシアニンの蓄積を 4 画分ごとに調査した。

赤系リーフレタスにおける青色光によるアントシアニン蓄積の誘導

赤系のリーフレタス‘レッドパタピア’または‘レッドファイヤー’を用いた。幅 130 cm 高さ 45 cm 幅 40cm のアルミ製ボックスのなかに、NFT 栽培のためのトレータンクを入れ、ボックス上面に白色光 LED および青色光 LED を固定した。アルミボックスにはサーモスタット付きの小型ファンを取り付け、ボックス内部の温度が一定になるように調節した。白色光は明期 16 時間暗期 8 時間、PPFD 200 μmol/m²s とし、青色光の強さと点滅周期を各種設定した。植物工場内で 3 週

間育苗したリーフレタス苗を 8 株ずつ定植し，2 週間後に収穫して葉の着色を調べた．

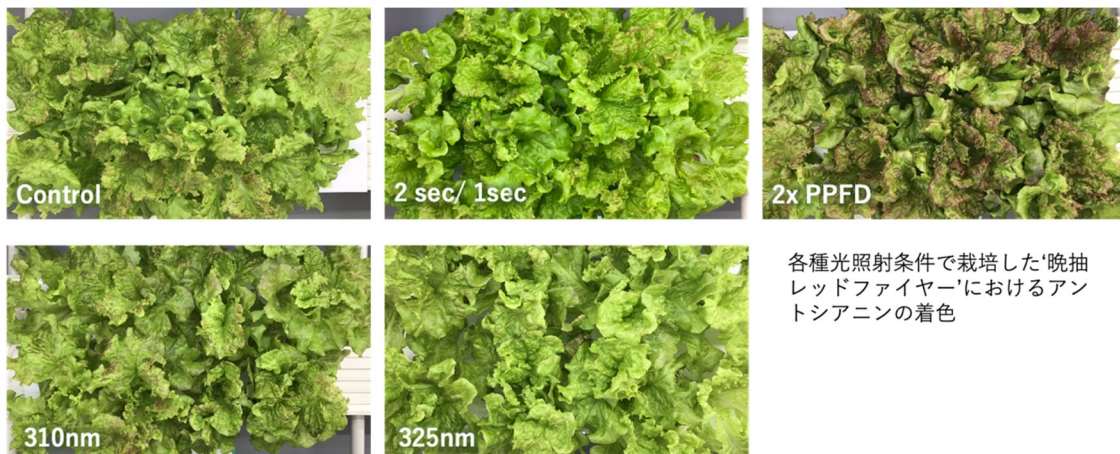
4．研究成果

植物工場で育苗したアブラナ属野菜苗の紫外線に対する反応

ブロッコリ 'ピクセル' では太陽光下および UV-B 照射により葉焼けが発生した．このときの UV-B 強度は 0.6-1.6W/m²であった．苗の育苗時のストレス条件により，葉に障害が発生する UV-B 強度が異なるようであった．全くストレスが加わらない白色 LED のみによる育苗では，0.3W/m²の 3 時間照射で葉の褐変などの傷害が発生した．また，傷害は若い葉ほど発生が少なかった．播種 3 週間後と 4 週間後の本葉の抽出液の吸光度を調べたところ，葉中のフェノール物質の蓄積量が齢と共に低下しており，若い葉ではフェノール物質の蓄積により紫外線に対する耐性が高まったと考えられた．また，単独の照射と比較して，UV-B に白色光を組み合わせた照射で葉焼けの程度が有意に低く抑えられた．

赤系リーフレタスにおける点滅光・紫外線によるアントシアニンの蓄積

白色光および赤青光による 3 秒から 4 分周期の滅光処理では，いずれの組み合わせでもアントシアニン蓄積は促進されなかった．また，UV-B 光を照射しながら点滅光処理を行っても着色促進効果は認められなかった．実験当初では，点滅光による効果を期待したが，アントシアニン合成を誘導するほどの効果は認められなかった．



また，UV-B の照射でも顕著なアントシアニン蓄積はみとめられず，最も効果があったのは LED 本数を 2 倍にして光強度を高めた区であった．

赤カブ芽生えにおける紫外線によるアントシアニン蓄積

カブ芽生えにおいて紫外線とアントシアニン生成との関係を知るために，UV-B から青色光の範囲の波長による下胚軸におけるアントシアニンの蓄積を調べた．芽生えに青色光または UV-A (365nm) を照射すると子葉に葉緑体が蓄積するが，UV-B(310nm)照射では子葉は黄色のままである．暗黒下の芽生えではアントシアニンがほとんど見られないが，青色光により明らかにアントシアニンが生成されている．光強度 0.25 ~ 2.50W/cm² の範囲ではアントシアニン蓄積量は光強度と比例関係にあった．特に蓄積が多かったのは下胚軸上部であった．一方，0.25 ~ 0.50 mW/cm² の範囲の UV-A はアントシアニンの生合成を誘導するが，それを超える高強度の UV-A はアントシアニンの生合成を阻害した．1.00 mW/cm² の UV-A 光を照射すると，アントシアニンは子葉直下の下胚軸に集中した．0.002 ~ 0.010 mW/cm² の範囲の UV-B は，センサーが検出できる最も低い光量にもかかわらず，下胚軸は高いアントシアニン濃度を示した．UV-B の強度が 0.010 mW/cm² を超えると下胚軸全体のアントシアニンは減少した．

次に UV-B，青色，UV-A，UV-B の相乗効果について調べた．UV-B を固定して青を変化させた場合，青色光の強度を 1.0W/cm² まで上げると，アントシアニンは著しく増加した．UV-A 単独光では，下胚軸全体のアントシアニンは 0.50mW/cm² でピークに達したが，青色光との組み合わせでは，UV-A が 0.75 mW/cm² がピークとなった．さらに UV-A 強度を高めるとアントシアニン蓄積は減少した．

紫外線の活性酸素生成への効果を蛍光色素 DCFH-DA により測定したところ，低照射強度 UVA(0.5 mW/cm²) に比べ，高照射強度の UV-A(1.5 mW/cm²) は強い蛍光を示し，高照度 UV-A により，より多くの活性酸素が生成されることを示した．

赤系リーフレタスにおける青色光によるアントシアニン蓄積の誘導

赤系のリーフレタス 'レッドファイヤー' では，アントシアニン蓄積量は紫外線よりも青色光の影響が強かった．そこで青色光の PPFD，照射時間とアントシアニン蓄積との関係を調べた．その結果，最低 100 μmol/m²s 以上の PPFD の光を照射しないとアントシアニン合成は促進されなかった．それ以上のエネルギーの青色光を照射した場合，アントシアニンの蓄積は光の強さと照射時間両方に依存した．100 μmol//m²s では 16 時間照射により十分な着色が得られたのに対し，200 μmol/m²s では 4 時間で十分であった．またそれ以上の強さの青色光はアントシアニン合成のさらなる蓄積には効果がなく，400 μmol/m²s，16 時間照射でも効果に差は認められなかった．

以上まとめると、可視光 LED のみを用いる植物工場でアントシアニン蓄積タイプの葉菜類を栽培した場合、露地栽培でみられるようなアントシアニンの蓄積は見られなかった。一般にアントシアニン蓄積には紫外線が有効であることが示されているが、リーフレタスの場合には紫外線の効果は限定的であり、むしろ高光強度の青色光の効果が大きかった。青色光による着色促進は PPFD が $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 以上ないと効果がみられず、閾値が存在するという点でカブ芽生えの下胚軸でみられる UV-A 反応と類似していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Song Hyon Dok, Yang Jianfei, Mun Nam Hyok, Chen Bowei, Chen Yunzhu, Kim Pyol, Kawabata Saneyuki, Li Yuhua, Wang Yu | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 BrLETM2 Protein Modulates Anthocyanin Accumulation by Promoting ROS Production in Turnip (Brassica rapa subsp. rapa) | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 3538 ~ 3538 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22073538 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Yang Jianfei, Song Hyon Dok, Chen Yunzhu, Chen Bowei, Kim Minjun, Kim Pyol, Kawabata Saneyuki, Li Yuhua, Wang Yu | 4. 巻 162 |
| 2. 論文標題 A single amino acid substitution in the R2R3 conserved domain of the BrPAP1a transcription factor impairs anthocyanin production in turnip (Brassica rapa subsp. rapa) | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Plant Physiology and Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 124 ~ 136 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plaphy.2021.02.011 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|