ナスとピーマンの乾物生産ならびに葉の光生理障害と SOD 活性に及ぼす連続光強度の影響

梶田正治¹・山口朋之¹・村上賢治¹・向阪信一²

¹ 岡山大学農学部 700-8530 岡山市津島中 1-1-1

² 松下電工株式会社・電気エンジニアリング総合部 571-8686 大阪府門真市門真 1048

Effects of Continuous Light Intensity on Dry Mass Yield, Light-induced Leaf Injury and Superoxide Dismutase Activity in Pepper and Eggplant

Masaharu MASUDA¹, Tomoyuki YAMAGUCHI¹, Kenji MURAKAMI¹ and Shinichi KOSAKA²

¹ Faculty of Agriculture, Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka, Okayama 700-8530, Japan

² Matsushita Electric Works, Ltd., 1048 Kadoma, Osaka Prefecture 571-8686, Japan

Abstract

Dry mass production and leaf area in relation to leaf injury and superoxide dismutase (SOD) were evaluated for eggplant (*Solanum melongena* L.) and pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings grown in continuous light at different intensities with metalhalide and high-pressure sodium lamps.

Continuous light-induced leaf injury occurred in eggplants even at 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD. When the 2nd leaf unfolded under daily 12h light-12h dark cycle, the eggplants were transferred to three levels of light intensity; 100(low), 250(medium), 480(high) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. After 8 days, the SOD activity in the 3rd leaves showing no leaf injury at low light intensity was higher than that showing chlorosis or necrosis at high light intensity. However, after 16 days when the seedlings grown at low light intensity developed leaf-necrosis, SOD activities decreased to a low level, similar to those at medium and high light intensities. SOD activity increased gradually with time under continuous light up to the point of leaf injury, and decreased rapidly thereafter. These results suggest that the superoxide radical is associated with leaf injury.

In contrast, pepper plants grew vigorously without any leaf injury, and the dry weight was the highest at a light intensity of 300~400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and the largest leaf area at 150~200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. SOD activity in pepper plants was relatively lower and more stable compared to that of eggplants, and the pepper plants also seemingly well adapted to continuous light at an optimum intensity of 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for dry mass production in a closed environmental system.

Keywords : continuous light intensity, dry mass production, eggplant, leaf injury, pepper, superoxide dismutase

緒 言

地球は生誕以来、一日の周期を24時間の明暗サイクルで自転しているが、めぐり来る『夜』は植物にとってどのような意味を持つのであろうか？ 植物の生育に及

2001年 8月31日受付

2001年 11月30日受理

ばす連続照明の影響については一般に花成・開花反応が対象になり、実験結果の多くは日長反応の延長線において論議されることが多かった。

著者らは、花成が日長に影響されないナス科作物を対象に夜の意義を探ろうとして研究に着手し、いわゆる中性植物として分類されるナス科ではナスが連続光に最も敏感で葉に激しいネクロシスを呈すること、ピーマンは障害なく、生育はむしろ連続光で促進されることを明らかにした¹⁾。同科のトマトに関しては古くから多くの研究がなされており²⁻⁴⁾、この障害には炭素代謝、特にデンプンの異常集積が関係するとされている⁵⁾。著者ら⁶⁾もトマトが正常に生育するには、25°C 一定条件で少なくとも4時間の夜が必要であることを認めた。ジャガイモについては、米国航空宇宙局(NASA)で研究が展開され、障害発現に品種間差があること⁷⁾、塊茎の大きさによっても反応の異なること⁸⁾などが報告されている。

著者の1人は、連続光下のナス葉ではデンプン集積が著しく、障害発現に関与すると考えられる活性酸素、その消去系酵素の一つである SOD 活性が急速に上昇すること、一方、ピーマンでは連続光下に移してもデンプン集積がほとんど見られず SOD 活性も変化しないことを明らかにした^{9,10)}。このように、この両作物は連続光に対して全く対照的な反応を示すが、連続光の光強度と生育反応ならびに障害強度と SOD 活性の関連性については未だ明らかとはなっていない。また、蛍光灯の光強度 120~150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 連続光の閉鎖空間においてピーマンの果実生産は可能であるとしたが^{10,11)}、乾物生産からみた最適光強度については不明である。本研究はメタルハライドランプおよび高圧ナトリウムランプを用い、連続光の光強度がナス、ピーマンの生育と障害発現に及ぼす影響ならびに葉の障害強度と SOD 活性の関連性について明らかにしようとしたものである。

材料および方法

ピーマン品種‘京みどり’とナス‘千両’を 28°C 暗黒下で発芽させた。それらを 2 cm 角のロックウールブロックにあげ、温度 25°C、湿度 70%、12 時間明暗サイクルの恒温室に移した。光強度は白色蛍光灯 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とした。第1本葉展開時に上記の苗をブロックのままさらに大きなロックウールキューブ(7×7×5 cm)に差し入れた。灌水は、大塚 A 処方の 1/2 濃度培養液を用い1日1回行った。

光強度と乾物生産

第2本葉が完全に展開し第3葉が展開しかけた頃に温

度 25°C、湿度は未制御、光強度の異なる連続光の下に移した。光源にはメタルハライドランプ(東芝 400 形)を用い、光強度は、光源と草冠の距離を調節することにより 40~250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲で 15 段階を設けた。ナスは処理 10 日後にいずれの光強度区においても葉にクロシスが認められたので、その時点で茎葉の乾物重を測定した。ピーマンは正常に生育したので、処理 16 日後に各個体の葉面積を測定し(林電工, Model-1 AAM-7)、その後、80°C で 72 時間乾燥させ茎葉の乾物重を測定した。

さらに、試験 I のメタルハライドランプに高圧ナトリウムランプ(東芝 360 形)を併用して最大 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲まで光強度域を拡大し、これを試験 II として同様に連続光処理を行った。

光強度と SOD

第2本葉展開時に、個体を試験 II と同じ環境条件の連続光下に移した。試験区としては、100, 250, 480 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の3処理区を設定した。ピーマン、ナスともに各処理6株を供試した。処理開始後8、16日目に3個体ずつ連続光下で展開した第3本葉を採取し、直ちに液体窒素で凍結後、-20°C のストッカーに保存し、各葉の SOD 活性を測定した。また、ナス第3葉展開開始の苗を供試して連続光照射に伴う SOD 活性の経時的变化を処理8日目まで求めた。

葉位と SOD

第2本葉が展開し、第3本葉が少し展開しかけた頃に、温度 25°C、相対湿度 70%、光強度は白色蛍光灯 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で連続光処理を開始した。

処理開始4日目に第1, 2, 3本葉を採取、処理開始8日目には第1, 2, 3, 4本葉を採取し直ちに液体窒素で凍結させ、-20°C のストッカーに保存した。その後、各葉の SOD 活性を riboflavin 添加 NBT 法^{12,13)}により測定した。

SOD 測定法

採取葉は直ちに液体窒素で処理し-20°C のストッカーに保存し適宜分析に供した。試料は水中に置いた乳鉢で PVP を少量加え磨砕した後、pH7.8 の 0.1 M リン酸緩衝液 6 ml を加え完全に粉砕後ミラクロスで濾過した。ろ液は 0°C で 20 分間 11,000 rpm で遠心分離した後、上清を別の試験管に移し 10 ml に定容した。この粗抽出液から 0.1 ml 採取し反応液を加え NBT 法により発色させた⁹⁾。試験管に入れた 3 ml の反応液は酵素反応を安定化させるため、被検液区、水対照区とも光照射直前に 37°C 前後の湯煎で 3 分間保温した。光照射は蛍光灯 2 本(170 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)を用い 3 分間行った。照射後、直ちに暗黒にし 560 nm の吸光度を分光光度計(日立

Model-101)で測定した。SODの活性は、50%還元抑制を1単位とした以下の式により算出した¹³⁾。

$$\text{SOD}(\text{Unit} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{Fw}) = \{(S2 - S1) \div (v2 - v1) - 1\} \times 10 / m \div \text{Fw}$$

ただし、S1 : Blank-dark の吸光度

S2 : Blank-light の吸光度

v1 : 試料-dark の吸光度

v2 : 試料-light の吸光度

m : 定容管から分取した液量

Fw : 葉の生体重(g)

なお、吸光度が0.1以下となった場合は、粗抽出液の量を少なくすることによって、吸光度値が0.1~0.6の範囲に入るよう調整した。

結果および考察

光強度と乾物生産

両者の関係を Fig. 1 に示した。ピーマン、ナスとも乾物重は、光強度40~250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲において光強度が増すに連れて直線的に増大した。しかし、光強度に対する乾物の増加率はピーマンが1.0(Dw. g/plant/100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)で、ナスは0.25(Dw.g/plant/100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)と低かった。ピーマンはいずれの光強度においても旺盛に生育したのに対してナスは処理1週後から葉にクロロシスを発現し、その程度は時間の経

Fig. 1 Dry mass production in eggplants and peppers as affected by continuously different light intensities using metalhalide lamps (Exp. I), and metalhalide and high-pressure sodium lamps (Exp. II). Uniform seedlings were transferred to continuous light from daily 12h light-12h dark cycle at the 2nd true leaf unfolded growing stage. Open and closed symbols represented normal and chlorosis leaves, respectively.

過とともに進行し、個体によってはネクロシスにまで至った。

さらに光強度を高めてピーマンの生育反応を調査したところ、個体の最大乾物重は光強度400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 付近にそのピークが認められ、500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ になると葉全体にクロロシスが発現した。しかし、ネクロシスには至らなかった。本試験では、湿度の制御は行わず光源にはメタルハライドランプと高圧ナトリウムランプを併用したが、湿度60%制御下でメタルハライドランプ単用で行った試験でも300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 付近に乾物重のピークが認められたことから¹⁴⁾、連続光下のピーマンは、光強度300~400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で光合成効率が最大になるものと推察された。また、これまでピーマンは連続光下で旺盛に生育するとしてきたが、本試験で光強度を500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ まで上げたとき、わずかにクロロシスが生じたことから、この光レベルで連続光にすると葉での炭素代謝に異常をきたすのではないかと考えられた。光強度が150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ でも炭酸ガス濃度を1200 ppm以上にすると同現象が認められる¹¹⁾。これは、連続光下のナス¹⁵⁾やトマト^{5,16)}で見られるようなデンプンの異常蓄積によるものと推察される。著者ら¹⁰⁾は、光強度150~200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の下で800 ppmの炭酸ガス濃度が果実生産には好適としているが、本試験の乾物生産の最適光強度300~400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とした時に炭酸ガス800 ppmでさらに乾物生産が上昇するかどうかは検討を要する課題である。

連続光強度400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に上げても葉に障害が生じなかったピーマンについて光強度と葉面積の関係を Fig. 2 に示した。葉面積は、光強度が増すにつれてほぼ直線的に増大し200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 付近でピークに達し、

Fig. 2 Leaf enlargement in pepper plants as affected by continuously different light intensities. Exp. I and II were similar to those in Fig. 1.

200~300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 間で急速に減少した。それ以上の光強度域では減少割合が緩やかとなった。Fig. 1 の乾物生産および Fig. 2 の葉面積の最適光強度からみて、葉面積の拡大をはかりつつ効率的乾物生産を行うための最適光強度は 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 付近にあると考えられた。

光強度と SOD

連続光処理 8 日後には 250, 480 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区のナス第 3 葉でクロロシスが発現し、16 日後になると 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区を含めて総ての処理区でネクロシスに発展した。ナスの障害は光強度が低くなるほど発現までの日数が長くなることは分かっているが¹⁷⁾、これらの葉ではデンプンの蓄積が徐々に進み、ある閾値を越えるとネクロシスが生じるのではないかと考えられる。

葉の SOD 活性についてみると、ナスは 250, 480 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区とも処理 8 日後の活性と 16 日後の活性に差はなかったが、100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区ではネクロシスにまで発展した 16 日後の方が 8 日後の無障害葉よりも低くなった (Fig. 3)。これらの結果から、葉の障害が激

しくなると活性酸素生成が鈍るため SOD 活性も低下するのであると考えられた。

一方、ピーマンの SOD 活性は、処理 8 日後には、250, 480 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区での活性は 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 区と比べて高かったが、16 日後になるとその活性は 8 日後の約 1/2 に低下し、SOD 活性の変動に一定傾向を認めることはできなかった (Fig. 3)。つぎに、葉の障害程度と酸素ラジカル生成との関係を推測するため、ナス第 3 葉展開始めの苗を供試して SOD 活性の経時変化を調べたところ、連続光照射の日数とともに SOD 活性は上昇し処理開始 6 日後、クロロシスがわずかに認められたときに、その活性はピークとなりその 2 日後の厳しいネクロシス発生段階では照射開始時の活性レベルまで低下した (Fig. 4)。

葉位と SOD

ナスは、連続光処理 4 日後ではいずれの葉位にも障害の発現は見られなかったが、8 日後には第 3 本葉にクロロシス、第 4 本葉にネクロシスが発現した。特に第 4 本葉の障害は、葉がえぐれて穴があくほど激しいものであった。

ナスの SOD 活性は、処理 4, 8 日後のいずれも上位葉ほど低くなる傾向にあり、非発現の第 1, 2 本葉のほうが高くなった (Fig. 5)。障害が発現しなくても長く光にさらされていると SOD 活性が高まってくるので、SOD 活性の上昇を葉の障害発現に直接に関連づけることは非常に難しい。しかし、Fig. 4 に見られるように少なくとも SOD 活性の急激な上昇が障害発現に先行していることから、ナスの障害発現には酸素ラジカルが関与してい

Fig. 3 SOD activity in the 3rd true leaf of eggplants and peppers as affected by continuously different light intensities. SOD activities were measured on the 8th and 16th days from the beginning of the continuous light treatment.

Fig. 4 Changes in SOD activity in the 3rd true leaf of eggplants under continuous light at a PPFD of 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Seedlings were transferred to continuous light in the early stage of the 3rd true leaf unfolded.

Fig. 5 Comparison of SOD activities in leaves at different nodes between eggplants and peppers grown under continuous light at a PPFD of $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Plants grown in a daily 12h light-12h dark cycle until the 2nd true leaf unfolded, were transferred to continuous light, and the 1st, 2nd, 3rd and 4th leaves were analyzed on the 4th (triangle) and 8th days (circle).

るものと考えられた。

一方、ピーマンは、4, 8日後とも障害発現は見られず旺盛に生長し、葉のSOD活性は葉位間で差が無くナスより低く安定していた。村上¹⁸⁾は、カボチャ属の連続光耐性における品種間差異について調べ、耐性品種‘日向 No. 14’は感受性品種‘バターナッツ’とは異なり連続光下でSOD, APX活性が上昇しないことを明らかにしている。これらの結果から、連続光感受性品種では、連続光により酸素ラジカルが生成される何らかのストレスが生じるが、耐性品種ではストレスが生じないと推察される。ストレスの原因としては、先述のように葉のデンプン過剰集積が考えられる。ピーマン葉では連続光下でもデンプン過剰集積はほとんど認められないことから¹⁰⁾、もし仮に、ピーマン葉における糖合成酵素 sucrose phosphate synthetase の活性が連続光によっても抑制されず、かつ葉から他器官への糖輸送力において優れるとすればデンプン過剰集積による葉の障害は回避されることになる。この点からピーマンにおける連続光障害の回避機構を探ることも今後の大きな課題といえる。

謝 辞

本研究は、文部科学省の科学研究費「基盤研究(B)-(2)課題番号 11556006」の助成により行なったもので、ここに記して感謝申し上げる。

摘 要

本研究はメタルハライドランプと高圧ナトリウムランプを用い、連続光の光強度がナスとピーマンの乾物生産と葉面積ならびに葉の生理障害とSOD活性に及ぼす影響について調査したものである。

ナスは光強度 $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ でも葉に障害が生じた。ナス第2本葉展開時から光強度 100 (低), 250 (中), 480 (高) $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の3段階に移して8日後に第3葉のSOD活性を測定したところ、障害未発現の(低)で活性が高く、クロロシス発現の(中)および、ネクロシス発現の(高)の葉の2倍の値を示した。16日後には、(低), (中), (高)ともネクロシスにまで発展し、葉のSOD活性はいずれも8日後のクロロシス発現の(中), (高)レベルと同値となった。ナスのSOD活性は連続光下で葉がクロロシス発現に至るまで上昇し、その後、ネクロシスへ進むと急速に減少した。これより、葉の障害に酸素ラジカルが関与しているものと考えられた。

一方、ピーマンの生育は旺盛で葉面積は光強度 $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で最高値を示した。乾物重は $300 \sim 400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で高く、光強度 $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 付近になると乾物増加量が緩慢となり、葉脈間クロロシスもわずかに観察された。また、ピーマンのSOD活性はナスより低く比較的安定しており、乾物生産の最適光強度 $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 付近でも葉のSOD活性は低レベルに維持された。

引用文献

- 1) ムラゲ, E. N., 佐藤吉就, 梶田正治: ナス科植物における暗期の長さや葉のクロロシスとの関係及び葉の無機成分組成について, 園芸学会誌, 64 (別 1): 26-27 (1995)
- 2) Withrow, A. P. and Withrow, R. B.: Photoperiodic chlorosis in tomato, *Plant Physiol.*, 24: 657-663 (1949)
- 3) Highkin, H. R. and Hanson, J. B.: Possible interaction between light-dark cycles and endogenous daily rhythm on the growth of tomato plants, *Plant Physiol.*, 24: 301-302 (1953)
- 4) Hillman, W. S.: Injury of tomato plants by continuous lighting and unfavorable photoperiodic cycles, *Amer. J. Bot.*, 27: 87-97 (1956)
- 5) Logendra, S., Putman, J. D. and Janes, J. W.: The influence of light period on carbon partitioning, translocation and growth in tomato, *Scientia Hort.*, 42: 75-83 (1990)

- 6) 梶田正治, 薬師寺亮児: トマトの栄養特性に関する研究(第6報)連続照明下での生育と無機成分組成, 園芸学会誌, 62(別2): 312-313(1993)
- 7) Cao, W. and Tibbitts, T. W.: Physiological responses in potato plants under continuous irradiation, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 116: 525-527(1991)
- 8) Cushman, E. N. and Tibbitts, T. W.: Size of tuber propagule influences injury of kennebec potato plants by constant light, HortScience, 31: 1164-1166(1996)
- 9) Murage, E. N. and Masuda, M.: Response of pepper and eggplant to continuous light in relation to leaf chlorosis and activities of antioxidative enzymes, Scientia Hort., 70: 269-279(1997)
- 10) Masuda, M. and Murage, E. N.: Continuous fluorescent illumination enhances growth and fruiting of pepper, J. Japan Soc. Hort. Sci., 67: 862-865(1998)
- 11) 梶田正治, 吉田裕一, 村上賢治, 浜田優子, 向阪信一: 蛍光灯連続光下でのピーマンの結実肥大に及ぼす炭酸ガス施与効果, 植物工場学会誌., 12(4): 354-260(2000)
- 12) Beauchamp, C. and Fridovich, I.: Superoxide dismutase: Improvement assays and an assay applicable to acrylamid gels. Anal. Biochem., 44: 276-287(1971)
- 13) Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K.: Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants, Plant Physiol., 59: 309-314(1977)
- 14) 梶田正治: 蛍光灯連続光の閉鎖空間にけるピーマン果実の生産システム開発(第1報)連続光下におけるナス科作物の生育反応, 平成12年度農気・生環・植工三学会大会要旨: 366-367(1999)
- 15) Murage, E. N., Watashiro, N. and Masuda, M.: Leaf chlorosis and carbon metabolism of eggplant in response to continuous light and carbon dioxide. Scientia Hort., 67: 27-37(1996)
- 16) Demers, D. A., Dorais, M., Wien, C. H. and Gosselin, A.: Effects of supplemental light duration on greenhouse tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants and fruit yield, Scientia Hort., 74: 295-306(1998)
- 17) Murage, E. N., Watashiro, N. and Masuda, M.: Influence of light quality, PPFD and temperature on leaf chlorosis of eggplants grown under continuous illumination, Scientia Hort., 68: 73-82(1997)
- 18) 村上賢治, 織田裕美, 梶田正治: カボチャ属における連続光誘導クロロシス発現の品種間差異と抗酸化酵素活性, 園芸学会誌., 印刷中