総説・招待論文

植物工場における概日時計の科学技術

福田弘和

日本生物環境工学会理事・大阪府立大学工学研究科機械系専攻・准教授

Scientific Technologies Based on the Circadian Clock in Plant Factories

Hirokazu FUKUDA

Department of Mechanical Engineering, Graduate School of Engineering, Osaka Prefecture University

キーワード: オミクス, 概日リズム, スピーキング・プラント・アプローチ, 同期制御, 時計遺伝子, 非線形動力学

Keywords: circadian rhythm, clock gene, nonlinear dynamics, omics, speaking plant approach, synchronization control

1. はじめに ～概日時計と SPA 技術～

2017 年のノーベル生理学・医学賞は、「概日時計のメカニズム解明に関する研究」に与えられた。概日時計は、24 時間周期の昼夜サイクルの下、生物の活動を最適化する重要な基礎生理機構である。植物における概日時計は、光合成、成長、開花など、細胞レベルから個体レベルに至る幅広いスケールで生理代謝を調節している。

概日時計の機能をシステムとしてみると、「環境情報を感知する機能」と「生理代謝を調節する機能」からなる (図 1)。前者の機能は、主に物理学によってシステム機構の解明が進められ、後者の機能は、オミクス解析によって包括的かつ分子レベルでの研究が進められている。また、「生理代謝」から「環境情報」に戻る線を追加すると、Speaking Plant Approach (SPA) と呼ばれる「生体情報に基づいた高度な植物環境制御」となる。概日時計の研究の発展は目覚ましく、最近では、植物工場におけるオミクス解析や苗診断技術、生産安定化技術、そして SPA 技術にまでその研究対象を急速に広げつつある (図 2)¹⁻⁴⁾。

SPA は橋本康・日本生物環境工学会名誉会長が提唱された生物環境調節学の基本概念であり⁵⁾、提唱から 4 半世紀の間、国際農業工学に大きな影響を与え続けてきた。現在、最新の ICT や AI を活用した「第 2 世代の SPA」が愛

図 1 概日時計と SPA 技術
最新の ICT や AI を活用したビッグデータに基づく SPA を「第 2 世代の SPA」と呼ぶ。

媛大学高山弘太郎教授らにより、日蘭共同で進められている。太陽光植物工場に実装された第 2 世代の SPA は、トマト樹群の環境・生物ビッグデータを生み出し、全く新しい生産技術を生み出そうとしている⁶⁾。急速な展開が進む第 2 世代 SPA の影響力は非常に大きく、基礎研究の面でも緊急の学術的整備を要する課題が現れている。例えば、ビッグデータに基づく生物モデリングや、そのモデルの特性解析などである。

本稿では、概日時計の科学を概説した上で、植物工場における最新の生体診断・制御技術を紹介する。

2. 物理学による研究の必要性

図 2 概日時計の応用

(a) 明暗サイクル周期の最適な設計¹⁾。(b) 気象データに基づく遺伝子発現予測。イネの葉において発現する遺伝子の約 4 割が概日変動を主成分として持つ²⁾。(c) クロロフィル蛍光に現れる概日リズムを利用したレタス幼苗の苗診断技術³⁾。(d) 光刺激に対する概日リズムの安定性解析⁴⁾と生育不安定性の研究。

環境ならびに生物が「日周性」を持つということは、生物環境調節における前提の一つである (図 3)。しかし、この両者における周期性の同調現象 (環境 - 生物リズムの同調現象) を正確に推し量することは、簡単ではない。例えば、季節の移りにより日々変化する日長に対して、生物が如何にして体内の時計を同調させていくのかは、基本的な課題であるが、これを正確に推量することは多くの場合簡単ではない。

動的現象を扱う分野は、動力学 (dynamics) と呼ばれる。基礎物理学の一つであるニュートン力学は、マクロな物体の運動法則を記した動力学であり、広範な工業技術の礎となっている。一方、生物を対象とした動力学もある。生物個体数の指数関数的増殖からニューロンにおける発振現象まで、生物における数多くの動的現象が動力学の枠組みで研究されている。動力学は、一般に、微分方程式で表され、その微分方程式を解くことで対象の挙動 (例えば、生物個体数の時間変化) を定量的に把握することができる。非線形な項を含む微分方程式は、その多くが解析解を得ることができないが、線形安定性解析や数値シミュレーションの手法により、十分に挙動を把握することができる。

上述した「環境 - 生物リズムの同調現象」は、物理学の非線形動力学分野において 1960 年代頃から数理的に研究されている⁷⁾。また、生物がもつ日周性の起因遺伝子である「時計遺伝子」の発見 (2017 年ノーベル生理学・医学賞) と、近年のオミクス計測技術の劇的な進展により、日周性に関する生理学的な解明が急速に進んでいる。さらに、現在、植物工場における栽培環境技術の多様化と高度化にともない、植物生体情報に基づく最適な環境制御系を目指す SPA の視点がますます重要になりつつある。例えば、植物工場の課題である「生育の安定化」、「成長予測」、「環境最適化」などは、SPA が解決の鍵となることは言うまでもない。

「環境 - 生物リズムの同調現象」の研究は、SPA の基本コンセプトに従い、植物の周期的な (リズムカルな) 生物情報を的確に捉え、環境との同調性 (ハーモニー) をもって生物制御を行うことを目指している。

3. 物理学による理解

約 24 時間周期の内因性の生体リズムを概日リズムといい、これを生み出す生体機構を概日時計と呼ぶ。その名のとおり、概日時計 (概日リズム) の固有周期は、24 時間から外れている。したがって、正確に 24 時間を刻む自然環境に対し、概日時計は自身の周期を 24 時間に調整する同調機能を有している必要がある。本節では、物理学 (非線形動力学) の観点から、「環境 - 生物リズムの同調現象」の数理機構を概説する。

3.1 同期における安定点と不安定点

例えば、日本とアメリカ東部には約半日の時差があるため、飛行機による移動の際、しばしば時差ボケに悩まされる。この時差ボケは、移動先の昼夜サイクルと概日時計が、本来あるべき位相関係から外れてしまうことが原因である。しかし、移動先で 1 週間ほど滞在すると次第に現地の昼夜サイクルに合った生活になり、現地人と同じ安定した生活サイクルを刻めるようになる。このプロセスは、動力学の視点からは、安定点への状態遷移現象として捉えられる。この数理機構は簡単には下記のように書ける。

$$\frac{d\phi_c}{dt} = \omega_c + A \sin(\phi_e - \phi_c) \quad (1)$$

$$\frac{d\phi_e}{dt} = \omega_e \quad (2)$$

ここで ϕ_c と ω_c は概日時計の位相と固有振動数を表す。ま

図3 環境サイクルと遺伝子発現リズム
(a) 愛媛大学太陽光植物工場における栽培環境データ (2014 年 1 月 6~8 日). (b) トマト葉における全遺伝子の発現解析 (RNA-Seq 解析). 2 日目には降雨があり, 環境は揺らいでいるが, 全遺伝子発現解析データに見られる日周期性は安定している⁸⁾.

た, ϕ_e と ω_e は環境サイクルの位相と固有振動数を表す. 一般に, 概日時計の位相は, 注目する生理現象 (例えば, 葉の就眠運動) が示す日周期的な波形においてその各ピーク時刻を $0 \text{ rad}, 2\pi \text{ rad}, 4\pi \text{ rad}, \dots$ と定義することが多い. また, 環境サイクルの位相は, 夜明け時刻を 0 rad と規定することが

図4 環境・生物リズムの同期モデルの安定解 (○) と不安定解 (●)
(a) $\Delta\omega > 0$ の場合, (b) $\Delta\omega < 0$ の場合. 白色の矢印は状態が時間変化する方向を示す.

多い. 式 (1) の右辺第 2 項は, 感受性項 (環境サイクルと概日時計の位相差をゼロにするように働く項) であり, A は環境サイクルの影響の強さを決める定数である. 式 (1) と式 (2) より,

$$\frac{d\Delta\phi}{dt} = \Delta\omega - A \sin(\Delta\phi) \quad (3)$$

となる. ここで, 位相差 ($\Delta\phi = \phi_e - \phi_c$) と固有振動数の差 ($\Delta\omega = \omega_c - \omega_e$) を定義した. 同期とは, 位相差の時間変化がゼロ ($d\Delta\phi/dt = 0$) となることである. 図 4 より, 同期解には安定解 (安定点) と不安定解 (不安定点) があり, 実際には内部ノイズがあるため安定解だけが実現する. また, $\Delta\omega$ と A により同期解が変化することが分かる. なお, 同期の条件として $|\Delta\omega| \leq A$ を満たす必要がある.

一般に, 植物の概日時計の固有振動数 ω_c は, 植物の部位や月齢, 光質や温度などの環境要因によって変化する^{9,10)}. さらに, 環境サイクルの影響の強さ A は植物種や植物個体, 器官組織ごとに異なる. したがって, 概日時計がどの位相関係で環境サイクルと同調するかは単純ではなく, 植物の状態に依存し, 環境に応じて様々変化する可能性がある.

3.2 位相応答関数

式 (1) の感受性項 ($A \sin(\phi_e - \phi_c)$) は, 環境刺激の種類 (光, 温度など) によって異なる. 概日時計がもつ感受性の評価は, 概日時計研究の基本であり, 概日時計の制御にお

いて極めて重要である。感受性の項は、一般的に、「位相応答曲線（Phase Response Curve: PRC）」の計測によって求められる。PRCとは、概日時計の各々の位相 ϕ において環境刺激をパルス入力し、各々の位相に対する位相の応答量 $\delta\phi$ を表した曲線である。図5(a)はPRCの一例であり、温度一定の連続明条件下で、2時間幅の暗期パルス（2-h dark pulse）を与えた場合のPRCである¹¹⁾。正確なPRCが求められれば、精細な概日時計の制御を実現できる¹²⁾。

最近、筆者らは、PRCを規定する新たな次元（概日リズムの振幅 a あるいは細胞集団の同期率 R ）を発見し⁴⁾、長年謎とされていた植物概日時計の柔軟な環境適応能力を解明することに成功している（図5(b)）。概日リズムの振幅が十分大きい場合（ $a \geq 0.8$ ）、概日時計の位相応答量は小さいが、概日リズムの振幅が小さい場合（ $a \leq 0.2$ ）、位相応答量は非常に大きくなる。つまり、環境サイクルと同期できていない場合、概日リズムを弱めることで環境サイクルへの応答性を高め、逆に、環境サイクルと同期している場合は、概日リズムを

強めて応答性を低くし概日リズムのロバスト性を獲得することができる。ただし、環境刺激が複雑な波形の場合、深刻な事態を生み出す。概日リズムが弱まれば弱まるほど、外力に対して過敏に反応してしまうことになるので、植物は本来の自律的な概日リズムを刻めなくなる。その結果、様々な生理不調が生じる。そして、生理不調がさらに概日リズムを弱める。概日リズムの不調は悪循環を生み出す可能性がある。

3.3 細胞間の同期

植物の概日時計は、植物を構成するほぼ全ての細胞に備わっており、これら細胞集団の同期率が個体レベルの概日リズムの振幅を決めている。最近の研究により、細胞間の同期は環境刺激により、容易に操作することができることが分かっている^{12,13)}。細胞間の同期制御においては、3.1において述べた「不安定点」が重要な役割を担っている。環境サイクルとの同期状態を、一旦、不安定化することにより、細胞集団の同期を破壊するというプロセスが鍵となっている。

植物における概日時計の物理学的研究は、まだまだ未解決のテーマが多く存在している。例えば、細胞レベルの振幅変化と細胞間同期との関係、細胞間相互作用の結合関数、個体レベルのネットワーク構造とダイナミクス、個体間の相互作用、植物と環境の相互作用（蒸散量と雰囲気）など、多くの課題が残されている。

3.4 物理学的研究の恩恵と展望

環境サイクルと概日時計の絶妙な同調関係は、式（3）のように実はシンプルに記述することができる。生物現象は複雑であるが故に、ビッグデータ・機械学習が非常に有効となる場合が多い。しかし、生物現象の本質は極シンプルであることも多く、基礎方程式が得られれば挙動解析は極めて簡単かつ正確に行える。基礎方程式を抽出し活用する物理的手法は、ビッグデータ・機械学習の計算効率を高め、制御工学の道筋を与える。

第2世代SPAがもたらす膨大な生物環境情報と生体制御プロセスに関する詳細データは、物理学的研究に多くの題材を与え、新たな基礎方程式の発見を加速すると期待される。第2世代SPAと物理学的研究の協働環境を整える必要がある。

4. オミクス解析による生理学的機能の解明

4.1 時計遺伝子

概日時計は、医学ならびに生物学の基礎の一つであり、そ

図5 概日時計の位相応答曲線
(a) 2-h dark pulse に対する位相応答曲線（実験値）¹¹⁾。(b) 2-h dark pulse に対する3次元の位相応答曲線（実験値）⁴⁾。（オンライン版はカラー画像）

の重要性が認められ 2017 年のノーベル生理学・医学賞 (J. C. Hall, M. Rosbash, M. W. Young) が与えられた。概日時計は「時計遺伝子」と呼ばれる遺伝子群が生み出している。生物種によって遺伝子配列の構造が異なるが、概日リズムを発振するメカニズムはおおよそ共通しており、遺伝子発現のネガティブ・フィードバックループが基盤回路であるとされている。このため、概日時計の研究には、生物種を問わず、基礎生物学から医学にわたり多くの研究者が参加している。

4.2 概日時計による広範囲の生理代謝調節

概日時計の重要性は、広範囲の生理代謝の調節に関わっている点にある。2000 年前後に、マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析により、光合成や細胞形成、二次代謝経路など、重要な遺伝子の発現が概日時計により調節されていることが判明した¹⁴⁾。現在は、イネ²⁾やレタス¹⁵⁾、シソ¹⁶⁾などの作物種においても次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析 (RNA-seq 解析) により、広範囲の生理代謝が概日時計により調節されていることが分かってきている。また当然、代謝産物の蓄積量や生成量においても概日リズムが観察されており、メタボロミクスとしても概日時計の研究が進められている。このように、オミクス研究においても概日時計は動態解析の基礎として重視されつつある。

4.3 病虫害抑制やポストハーベストとの関連

近年、病虫害やポストハーベストに関する概日時計の研究に注目が集まっている。例えば、収穫後のキャベツやニンジンなどにおいて、概日時計による虫害抑制効果が報告されている¹⁷⁾。虫害を抑制する成分である glucosinolate の濃度が概日リズムを刻み、害虫の活動時間に合わせてその濃度を最大化させるというものである。このように、概日時計は、紫外線などの環境ストレスだけでなく、病虫害などの生物ストレスからも効率よく身を守り、生存率を高める役割を果たしている。

一方で、ポストハーベストに関しては、ブロッコリーは通常収穫後徐々に劣化 (黄化) するが、時計関連遺伝子の *GIGANTEA* (*GI*) に変異がある場合、黄化が抑制されるという結果が報告されている¹⁸⁾。

このように、生物ストレスやポストハーベストにおいても概日時計の機能が見出されつつあり、応用研究の進展が期待されている。

5. 植物工場への応用

前節までは、「環境・生物リズムの同調現象」について、

物理学ならびに生理学の観点から概説し、科学研究としての現状と展望を紹介した。本節では、植物工場への応用を紹介したい。

現在、植物工場における技術課題として、「生育 (生産) 不安定化の解明」、歩留まり向上のための「成長予測 (苗診断)」、高品質・低コスト生産のための「環境最適化」などがある。また、植物工場は、圃場や実験室にはない「多様な環境」や「大規模かつ連続的な個体集団の生成」といった特性がある。したがって、このような特性を踏まえつつ課題を解決するためには、数理科学的・情報学的な視点が必要である。すなわち、第 2 世代 SPA としての研究推進が必要であると考えられる。

5.1 生産安定化技術

生育不安定化の解明においては、概日時計の物理学的知見が有用である。図 4 に示したように、環境サイクルと概日リズムの同調は、パラメータに強く依存しながら絶妙に成り立っており、非常にデリケートである。同期における不安定点がしばしば作用し、生育不安定化を引き起こしている可能性がある。植物状態のこのような不安定化現象は確率的な現象であるため、「大規模かつ連続的に生成される個体集団」の計測がメカニズムの解明に役立つと思われる。

図 6 は、人工光型植物工場 (大阪府立大学) における育苗期の概日リズムである。播種後 8 日目から 15 日目にかけて連続撮影を行い、画像解析により成長速度を算出している。Plant 1 は同じ時刻 (暗期の開始直後) に成長速度のピークを示しているが、Plant 2 は成長速度のピークを示す時刻が安定していない (図 6(b))。このように、外見に大きな違いがなくても、概日リズムの安定性が大きく違う場合がある。一般に概日リズムの乱れは、生理代謝の不調を引き起こすため、植物工場における生産不安定性に関与している可能性がある。現在、計測システムの拡張を行い、植物工場における生産量と苗の概日リズムの関係を明らかにする研究を行っている。

5.2 成長予測技術

成長予測においては、既に大阪府立大学の植物工場において概日リズムを用いた苗診断技術として、技術開発を進めている。ごく初期の幼苗段階においても、クロロフィル蛍光に概日リズムが認められるが、その概日リズムの特徴量により苗の優劣性を判断する技術を開発している (図 7)³⁾。今後、予測精度を上げる技術開発として AI による画像解析研究を進めつつ、植物成長と予測手法についての数理的な体系化を目指す必要がある。

図6 人工光型植物工場における育苗期の成長リズム

(a) 育苗パネルの全体画像は播種後8日目、拡大画像は播種後15日目の画像。(b) 苗画像から算出した成長速度。面積拡大速度を成長速度とみなした。図中の矢印はピークを示し、灰色の網掛けは暗期を示している。大阪府立大学植物工場C棟の育苗室において、栽培棚の天井面に12台の小型コンピュータ(Raspberry Pi)を配置し、育苗パネル1枚分(143株)の苗画像を20分毎に取得した。植物はリーフレタス(cv. Batavia)。

図7 優良苗診断システム

(a) 大阪府立大学植物工場C棟(日産5000株)に搭載されている優良苗診断システム。(b) 播種後6日目におけるリーフレタス(cv. Batavia)のクロロフィル蛍光の時間変化。図2(c)のクロロフィル蛍光画像を4時間毎に6回撮像し、蛍光強度の時系列を求めた。No. 1からNo. 4は、播種後15日目の生重量に対し大きいものから順にグループ分けした³⁾。

5.3 環境最適化技術

環境最適化においては、日長や昼温夜温の設定、暗期中断など、概日時計に基づく様々な農業手法が従来から存在している。しかし今後は、時間的・空間的により一層高精細な環境最適化を目指すことが可能となるとと思われる。根の概日時計は地上部と質的に異なることや、成長点と葉で概日時計が異なる振る舞いをしていることなどが、ここ10年で次々と判明している^{9, 19, 20)}。植物工場の高い環境調節能力を活かし、時空間的に高精細に概日時計制御を行うことが将来可能になると期待される。

また、植物工場の活路として、高付加価値な植物生産を目指すことが今後ますます重要になる。ハーブ類や薬用植物などは、二次代謝物が植物の価値を決めるため、特にオミクス

的手法が必要である。しかし、第4節で述べたように、オミクスの動態においても概日時計は切り離せない存在であるため、第3節で述べた概日時計の動力学的特性にも注意を要する。また、一般に二次代謝のダイナミックレンジ(変動幅)は生育量と比べ、非常に大きい。このため、ターゲット成分の生成蓄積において個体差などの確率的変動が、時として激しく生じることが推測される。したがって、作物の機能性を決めるオミクスの動態においても、数理的にどのように的確に取り扱えばよいのかについて、深い議論が必要であると思われる。

図8は、リーフレタス(cv. Frillice)において215個の時刻表示遺伝子(明確な概日リズムを示す遺伝子)について機能解析(Gene Ontology解析(GO解析))を行った例である¹⁵⁾。この解析から、光合成関連や硝酸代謝、ビタミン

図 8 レタスにおける概日リズム表示遺伝子 215 個の機能性解析¹⁵⁾。

図 9 植物における概日時計の研究分野と発展。

B1 代謝のクラスターにおいて概日リズムが強く影響していることが分かる。このような *in silico* 解析により、どの代謝経路が概日時計を介して調節可能かを事前に把握することができ、GO 解析はトマトやシソなどにも利用することができ、今後の利用が期待される^{16, 21)}。

6. おわりに

植物における概日時計の研究は、「生理学」、「物理学」、「情報科学」、「工学」へと徐々に分野を広げ発展している。近い将来、工学である SPA に到達し、植物工場における難問である「生産の安定化」、「環境最適化」、「成長予測」の解決に寄与すると考えられる (図 9)。SPA・植物工場は、概日時計の科学の目標であり、概日時計の科学の発展に大きな影響を与えている。

現在、植物工場における概日時計の利用技術は、ICT やビ

ッグデータ, AIという現代的手法によって研究開発の最中にある。植物工場における新しい科学技術の実現に向け, まずは生体センシング, 生体コンピューティング, *in silico* 解析などの要素研究の充実が求められている。

謝 辞

本研究は科学技術振興機構さきがけ研究(JPMJPR15O4)ならびに科学研究費補助金(16H05011, 25712029, 22780232), キヤノン財団研究助成, 稲盛財団研究助成, 光科学振興財団研究助成による支援を受けて遂行された。

参考文献

- 1) Dodd AN, Salathia N, Hall A, Kévei E, Tóth R, Nagy F, Hibberd JM, Millar AJ, Webb AAR. Plant circadian clocks increase photosynthesis, growth, survival, and competitive advantage. *Science*. 309: 630–633, 2005.
- 2) Nagano AJ, Sato Y, Mihara M, Antonio BA, Motoyama R, Itoh H, Nagamura Y, Izawa T. Deciphering and prediction of transcriptome dynamics under fluctuating field conditions. *Cell*. 151: 1358–1369, 2012.
- 3) Moriyuki S, Fukuda H. High-throughput growth prediction for *Lactuca sativa* L. seedlings using chlorophyll fluorescence in a plant factory with artificial lighting. *Frontiers in Plant Science*. 7: 394, 2016.
- 4) Masuda K, Kitaoka R, Ukai K, Tokuda IT, Fukuda H. Multicellularity enriches the entrainment of *Arabidopsis* circadian clock. *Science Advances*. 3: e1700808, 2017.
- 5) Hashimoto Y. Recent strategies of optimal growth regulation by the Speaking Plant Concept, –as the invited lecture at Berlin ISHS symposium–, *Acta Horticulturae*. 260: 115–122, 1989.
- 6) 高山弘太郎. 第2世代のSPAとWageningen. *植物環境工学*. 26: 8–14, 2014.
- 7) Winfree AT. Biological rhythms and the behavior of populations of coupled oscillators. *Journal of Theoretical Biology*. 16: 15–42, 1967.
- 8) Tanigaki Y, Higashi T, Takayama K, Nagano AJ, Honjo MN, Fukuda H. Transcriptome analysis of plant hormone-related tomato (*Solanum lycopersicum*) genes in a sunlight-type plant factory. *PLoS ONE*. 10: e0143412, 2015.
- 9) Takahashi N, Hirata Y, Aihara K, Mas P. A hierarchical multi-oscillator network orchestrates the *Arabidopsis* circadian system. *Cell*. 163: 148–159, 2015.
- 10) Higashi T, Kamitamari A, Okamura N, Ukai K, Okamura K, Tezuka T, Fukuda H. Characterization of circadian rhythms through a bioluminescence reporter assay in *Lactuca sativa* L. *Environ. Control Biol*. 52: 21–27, 2014.
- 11) Fukuda H, Uchida Y, Nakamichi N. Effect of a dark pulse under continuous red light on the *Arabidopsis thaliana* circadian rhythm. *Environ. Control Biol*. 46: 123–128, 2008.
- 12) Fukuda H., Murase H. Tokuda IT. Controlling circadian rhythms by dark-pulse perturbations in *Arabidopsis thaliana*. *Scientific Reports*. 3: 1533, 2013.
- 13) Seki N, Ukai K, Higashi T, Fukuda H. Entrainment of cellular circadian rhythms in *Lactuca sativa* L. leaf by spatially controlled illuminations. *J. Biosens. Bioelectron*. 6: 186, 2015.
- 14) Harmer SL, Hogenesch JB, Strume M, Chang HS, Han B, Zhu T, et al. Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock. *Science*. 290: 2110–2113, 2000.
- 15) Higashi T, Aoki K, Nagano AJ, Honjo MN, Fukuda H. Circadian oscillation of the Lettuce transcriptome under constant light and light-dark conditions. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1114, 2016.
- 16) Tanigaki Y, Higashi T, Nagano AJ, Honjo MN, Fukuda H. Transcriptome analysis of a cultivar of green perilla (*Perilla frutescens*) using genetic similarity with other plants via public databases. *Environ. Control Biol*. 55: 77–83, 2017.
- 17) Goodspeed D, Liu JD, Chehab W, Sheng Z, Francisco M, Kliebenstein DJ, Braam J. Postharvest circadian entrainment enhances crop pest resistance and phytochemical cycling. *Current Biology*. 23: 1235–1241, 2013.
- 18) Thiruvengadam M, Shih CF, Yang CH. Expression of an antisense *Brassica oleracea* *GIGANTEA* (*BoGI*) gene in transgenic broccoli causes delayed flowering, leaf senescence, and post-harvest yellowing retardation. *Plant Molecular Biology Reporter*. 33: 1499–1509, 2015.
- 19) James AB, Monreal JA, Nimmo GA, Kelly CL, Herzyk P, Jenkins GI, Nimmo HG. The Circadian clock in *Arabidopsis* roots is a simplified slave version of the clock in shoots. *Science*. 322: 1832–1835, 2008.
- 20) Endo M, Shimizu H, Nohales MA, Araki T, Kay SA. Tissue-specific clocks in *Arabidopsis* show asymmetric coupling. *Nature*. 515: 419–422, 2014.
- 21) Higashi T, Tanigaki Y, Takayama K, Nagano AJ, Honjo MN, Fukuda H. Detection of diurnal variation of tomato transcriptome through the molecular timetable method in a sunlight-type plant factory. *Front. PlantSci*. 7: 87, 2016.