

LED単波長光照射がシンビジウムの高温障害に及ぼす影響

加藤 成二・藤木 俊也
(山梨県総合農業技術センター)

The effects of Monochromatic LED light on blasting by high temperature of *Cymbidium*

Seiji Kato, Toshiya Fujiki
(Yamanashi Prefectural Agritechology Center)

要約：シンビジウムは花芽分化後に高温に遭遇すると花茎内のジベレリンが分解し、エチレンが発生することで花飛びと呼ばれる高温障害や開花遅延が生ずるとされている。これまでは山上げと呼ばれる冷涼な高冷地への輸送により障害を回避してきた。しかしながら、山上げ栽培はその輸送に多くの労力や輸送費を要する欠点もある。更に温暖化の影響で最近では山上げ株でも障害が発生しており、山上げに代わる技術が求められている。前報に続き、遠赤色LED光がシンビジウムの高温障害に及ぼす影響および遺伝子発現について調査した。

遠赤色光照射が山下げ時期に及ぼす影響については、供試した晩生品種2品種とも8月山下げ区では、遠赤色光照射に関わらず最も開花が遅くなった。LED照射と山下げ日の前進の組合せは、開花の遅延から実用的ではないことが明らかになった。遠赤色光照射が高温処理に及ぼす影響については、供試した非耐暑性品種2品種ともに高温処理区で顕著に正常花茎率が低下した。正常花茎率は、露地、高温処理に関わらず、照射により若干改善した。エチレン前駆物質である1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) の酸化遺伝子(CyACO1) は、LED遠赤色光照射区、無照射区の両者で発現が確認できた。本研究により、遠赤色光照射がシンビジウムの高温障害の軽減に一定の効果があることを明らかにした。

Abstract : It is said that the blasting on high temperature occurs because ethylene produces by decomposition of the gibberellin in the flower stalk when the cymbidium meets with high temperature after flower bud differentiation. The blasting on high temperature has been evaded until now by transfer to highland during summer. However, transfer to highland during summer has the problem to need much labor and shipping charges for the transport. Furthermore, under the influence of global warming, the blasting occurs in the cymbidium by transfer to highland recently. Therefore, it is required the skill for the mountain raising. Following the first report, we studied the influence and gene expressions that far-red light LED gave to the blasting on the high temperature of the cymbidium.

In the plot which it bring down the plants from highland to lowland in August, flowering became latest regardless of far-red light irradiation 2 late variety. The combination of the early date from highland to lowland and LED irradiation was not practical. About the influence that far-red light irradiation gave to high temperature treatment, a normal flower stalk rate decreased under high temperature treatment in 2 non-heat resistance varieties conspicuously. The normal flower stalk rate was improved by irradiation regardless of high temperature treatment slightly. An oxidation gene (CyACO1) of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) which was an ethylene precursor was able to confirm expression regardless of LED far-red light irradiation. In this study, we had proved that there was a constant effect in far-red light irradiation for the reduction of the blasting by high temperature of the cymbidium.

1. 緒言

前項のコショウランの開花技術の開発で述べたように照明用LEDの技術開発の進歩に伴い農業分野においてLED照明の導入が始まっており、キクなどの短日植物では従来使用されていた白熱電球に変わり、LED照明が使用され始めている¹⁾。波長を調整できなかった白熱電球に比べ、赤色単波長照明が効果的であることが明らかとなり、県内花き栽培への応用に期待が高まっている。

シンビジウムは、平成25年の生産額で約6億円と山梨県の花きとしてはコショウランに次ぐ品目である。シンビジウムの栽培の特徴の一つとして山上げ栽培がある。山上げ栽培とは、高温に弱いシンビジウムを夏の高温期間に標高1000m前後の高冷地で栽培管理する技術であり、標高差のある山梨県の特性を活かした栽培技術である。シンビジウムは花芽分化後高温に遭遇すると花茎内のジベレリンが分解し、エチレンが発生することで花飛びと呼ばれる高温障害や開花遅延がおけるとされて

いる²⁾。これまではこの山上げにより障害を回避してきた。しかしながら、山上げ栽培はその輸送に多くの労力や輸送費を要する欠点もある。更に温暖化の影響で最近では山上げ株でも障害が発生しており、山上げに代わる技術が求められている。

植物においてジベレリンは、植物色素であるフィトクロムに赤色光あるいは赤外線に近い遠赤色光を照射することによりその生成が制御されているとの報告がある。フィトクロムは、活性型である遠赤色光吸収型 (Pfr 型) と不活性型である赤色光吸収型 (Pr 型) の二つの構造が可逆的に変化し、スイッチの役割を果たすことが知られている。茎の伸長や花成における日長感受等がフィトクロムによる反応として知られている³⁾。スプレーギクでは、花茎の伸長が認められ⁴⁾、日没後の遠赤色光照射によりジベレリンが生成される事が確認されている⁵⁾。そこで、シンビジウムに遠赤色光を含む単波長LED光照射し、花飛び等の高温障害に及ぼす影響を調査した。

前報では、遠赤色LED光照射が、高温障害に対する軽減効果があることが明らかになった。そこで、本報ではLED照射時の栽培温度との関係について以下の3つを調査する。第1に晩生品種について、遠赤色光照射が山下げ時期の前進と開花時期に及ぼす影響を調査する。第2に山上げ地でも障害が発生する品種に山上げ期間にLED照射を行った際の高温障害に及ぼす影響を調査する。第3にLED光照射により花茎内の関連遺伝子の活性がどのように変化するかを調査し、花飛びなどの高温障害の抑制との関連を明らかにする。

2. 実験方法

試験1 遠赤色光照射が山下げ時期に及ぼす影響

試験には、晩生品種である‘アリユウラ’、‘ひよこちゃん’の花茎が3～4本発生した株を用いた。2013年8月8日に導入した株を八ヶ岳試験地ほ場(標高955m)で50%遮光ネット下で管理した後、笛吹市石和町の平坦地栽培温室(標高約260m)へ山下げした。平坦地への山下げ時期は、8月20日、9月10日、10月1日(標準)の3水準とした。LED単波長光照射は波長740nmの遠赤色光を照射強度1.6W/m²で日没後3時間照射した。対照として無照射区を用意した。照射開始時期は、山下げ直後から開花期までとした。試験区は1区5株とした。花茎長、開花日、花蕾数、障害発生状況として花茎枯死数と落蕾数と花弁の変色程度を調査した。

試験2 高標高地での遠赤色光照射が高温障害に及ぼす影響

試験には、非耐暑性品種である‘メモリーオブユー’と‘お姫様’の花茎が3から4本発生した株を用いた。試験は、2014年7月17日から開始し、露地栽培区と温室に

よる加温区を設けた。露地栽培区は、50%遮光下で栽培した。加温区は、最低室温20℃以上とし、最高温度は25℃以下になるよう天窓と側窓の開閉により調節した。8月31日までに障害が発生しなかったため、9月8日～12日、9月15日～24日の間は、更に高負荷をかけるため、夜温25℃換気30℃とした。露地栽培区、加温区ともに10月1日からは、温室内で栽培した。最低室温15℃、最高温度は25℃以下になるよう天窓と側窓の開閉により調節した。加温区は50%外部遮光に加え、照度70,000Lux以上では50%の内部遮光とした。LED単波長光照射は波長740nmの遠赤色光を照射強度1.6W/m²で日没後3時間照射し、対照として露地栽培区、加温区ともに無照射区を設けた。照射期間は、露地栽培区では、7月17日から試験終了まで、加温区では、7月17日から試験終了までと山上げ期間である9月30日まで照射とした。試験規模は1区5株とした。花茎長、開花日、花蕾数、障害発生状況として花茎枯死数と落蕾数と花弁の変色程度を調査した。

試験3 遠赤色光照射がACC酸化酵素(CyACO1)遺伝子の発現に及ぼす影響

試験には、‘メモリーオブユー’の花茎が3から4本発生した株を用いた。試験は、2014年7月17日から開始し、温室内で栽培した。最低室温20℃以上とし、最高温度は25℃以下になるよう天窓と側窓の開閉により調節した。8月31日までに障害が発生しなかったため、9月8日～12日、9月15日～26日の間は、更に高負荷をかけるため、夜温25℃換気30℃とした。LED単波長光照射は波長740nmの遠赤色光を照射強度1.6W/m²で日没後3時間照射し、対照として無照射区を設けた。

2014年8月14日と9月16日に花粉母細胞が前減数分裂にある花茎長5～10cmの花茎を採取し、ただちに液体窒素で瞬間冷凍した後、-80℃で保存した。RNAの抽出は、Fruit-mate(takara)を用いた。逆転写は、PCR装置は、Thermal Cycler Dice Touch(Takara)を使用し、High-capacity cDNA Reverse Transcription kit(applied biosystems)を用いた。リアルタイムPCRは、StepOne Plus(applied biosystems)を使用して行った。全てのPCR反応は、DNA Master SYBR Greenキット(applied biosystems)を用いて行った。

PCR条件は三田らの手法に従った⁶⁾。エチレン前駆物質である1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸(ACC)をエチレンに変換するACC酸化酵素(CyACO1)の発現を調査した。遺伝子のフォワードプライマー(F)、リバープライマー(R)の配列は、5'-CACGGATGCGGGAGGGATTA-3'(F)、5'-CTTCTTCTCCTCCGCCTCTC-3'(R)とした。対照遺伝子としてシロイヌナズナのArgonauteタンパク質と相同性を示すCy37を用いた。遺伝子のフォ

ワードプライマー (F), リバースプライマー (R) の配列は, 5'-GCAAGGTTTATATGGAGCC-3' (F), 5'-TGCAAATCCAGCGAAATAGG-3' (R) とした。

3. 結果

試験1

高温時の花飛び症状は, “アリュウラ”, “ひよこちゃん” 両品種ともすべての区において発生しなかった (表1-1, 1-2)。

開花日については, 両品種とも8月山下げ区で最も開花が遅い結果となった。同一山下げ日においては, 9月山下げ区, 10月山下げ区においてLED照射区が早く開花したが, 8月山下げ区では, LED照射区で開花が遅れる傾向があった (表1-1)。“ひよこちゃん”では, 対照区で試験終了時の2月13日において未開花の株が見られた (表1-1)。LED照射と山下げ日の前進の組合せは, 晩生品種の開花時期の促進に効果がないことが明らかになった。

表1-1 山下げ日とLED遠赤色光照射がシンビジウムの開花に及ぼす影響

品種	試験区		正常花茎率 (%)	花茎数	開花日	開花株率 (%)
	山下げ日	LED照射				
‘ひよこちゃん’	8/20	+	100	3.8 ± 0.5	2014/2/8 ± 3.0 ^b	100
		-	100	2.6 ± 0.9	2014/1/30 ± 3.9 ^{ab}	80
	9/10	+	100	4.3 ± 0.6	2014/1/22 ± 9.5 ^{ab}	100
		-	100	3.2 ± 1.3	2014/1/24 ± 6.2 ^{ab}	100
	10/1	+	100	3.8 ± 1.0	2014/1/20 ± 9.4 ^a	100
		-	100	3.4 ± 0.9	2014/1/23 ± 7.0 ^{ab}	80
‘アリュウラ’	8/20	+	100	5.0 ± 0.8	2014/1/3 ± 3.4 ^b	100
		-	100	4.4 ± 1.5	2014/1/1 ± 4.7 ^b	100
	9/10	+	100	5.6 ± 1.5	2013/12/23 ± 6.5 ^{ab}	100
		-	100	5.8 ± 0.8	2013/12/28 ± 11.5 ^{ab}	100
	10/1	+	100	5.8 ± 0.8	2013/12/15 ± 8.7 ^a	100
		-	100	6.0 ± 0.7	2013/12/22 ± 5.4 ^{ab}	100

調査日1/9日 開花日を除く
異なる英文字は同一品種内でTukeyの多重検定 (5%) で有意差があることを示す。

試験2

供試した2014年は, 夏季に気温が低めに推移したため, 8月31日までに高温障害による花飛びは発生しなかった。9月に25℃までの高温を加えたところ, 高温処理区で顕著に正常花茎率が低下した (図2-1, 2-2)。正常花茎率は, 露地, 高温処理に関わらず, 照射により若干改善した。供試2品種は同様な傾向を示した。‘メモリーオブユー’では, 生存花茎率と正常花茎率との差はほとんどないが, ‘お姫様’では, 生存花茎率は正常花茎率より低い傾向にあった。‘メモリーオブユー’では, 異常花茎はほとんど枯死するが, ‘お姫様’では, 枯死に至らない異常花茎の発生が高いことを意味する。露地区での障害株の発生は, 10月上旬に発生した (表2-1, 図2-1, 2-2)。開花日は両品種とも温室内での加温区で遅延が認められた (表2-1)。

表2-1 遠赤色光照射がシンビジウムの開花に及ぼす影響

品種	試験区	発生花茎数 (本)	開花日	開花率 (開花花茎 / 正常花茎)	生存花茎率 (%)	正常花茎率 (%)	花茎長 (cm)	花茎数 / 花茎	先端花茎枯死花茎率 (%)	異常花茎発生花茎率 (%)
メモリーオブユー	高温処理 (9月まで照射)	3.8	-	0.0	42.1	42.1 ^a	47.9	11.2	0.0	0.0
	高温処理 (開花まで照射)	4.4	2014/12/14	36.4	50.0	50.0 ^{ab}	43.0	11.9	0.0	0.0
	露地 (無照射)	3.8	-	0.0	31.6	26.3 ^a	50.6	10.5	0.0	16.7
	露地 (開花まで照射)	3.8	2014/11/25	94.4	94.7	94.7 ^b	45.4	10.1	0.0	0.0
	露地 (無照射)	4.0	2014/11/28	87.5	85.0	80.0 ^{ab}	47.5	10.1	0.0	5.9
	高温処理 (9月まで照射)	6.0	2014/12/7	53.3	76.7	50.5 ^a	55.4	18.1	28.1	34.8
お姫様	高温処理 (開花まで照射)	6.0	2014/12/12	31.6	90.0	64.1 ^{ab}	53.3	18.3	11.1	23.6
	露地 (無照射)	5.4	2014/12/11	41.7	70.4	44.0 ^a	57.5	18.8	21.1	36.8
	露地 (開花まで照射)	5.6	2014/11/20	92.3	96.4	92.0 ^b	56.6	25.3	0.0	3.7
	露地 (無照射)	6.0	2014/11/21	88.5	96.7	85.5 ^b	50.0	22.8	10.3	10.3

12月15日現在 生存花茎率および正常花茎率は, 発生花茎を元に算出した先端花茎枯死花茎率および異常花茎発生率は, 生存花茎を元に算出した開花日, 花茎数は, 正常花茎を元に算出した異なる英文字はTukeyの多重検定 (5%) で有意差があることを示す

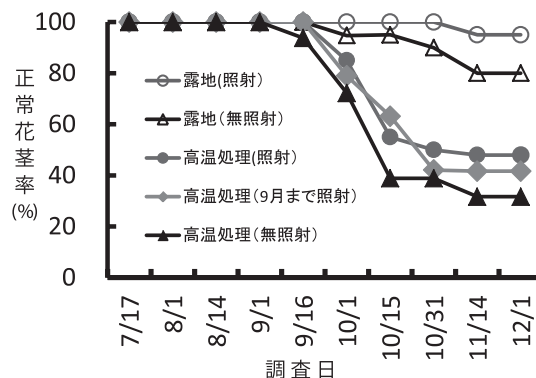


図2-1 “メモリーオブユー”の正常花茎率の推移
正常花茎率：正常花茎 / 発生花茎 (枯死含む)

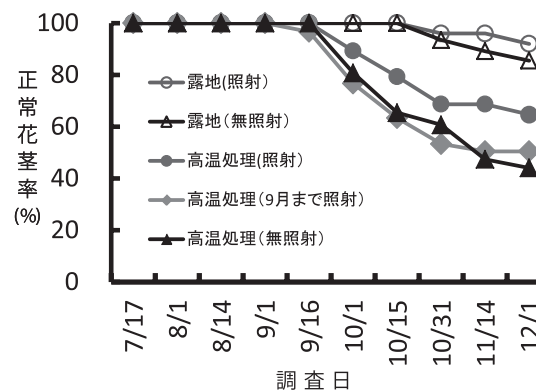


図2-2 “お姫様”の正常花茎率の推移
正常花茎率：正常花茎 / 発生花茎 (枯死含む)

試験3

エチレンの前駆物質であるACCを酸化する遺伝子 (CyACO1) は, LED照射区, 無照射区の両者で発現が確認できた。8月14日 (照射後28日) および9月16日 (照射後61日) の2回の測定では, 照射の有無による発現量が安定しなかったため, 照射による差は, 明らかにならなかった (データ略)。

4. 考察

試験1の結果では, 山下げを早めても高温遭遇するこ

とにより開花が遅れる結果となった。山上げの効果として開花期の前進がある。前報では、遠赤色光照射により品種によっては1月以上開花が早まるとの報告もあり、遠赤色光照射を照射することにより山上げ期間を短縮しても慣行と同時期に開花することを期待した。しかしながら、今回供試した晩生系の2品種では、開花期の前進はほとんど認められなかった。8月20日山下げ区で、慣行の10月1日山下げ区に対して開花が遅延し、照射による開花日の前進は見られなかった。試験を実施した2013年の栽培条件では高温障害の発生が見られなかったため、高温障害におよぼす影響については明らかにできなかったが、これらの品種は高温障害の有無にかかわらず、一定期間の山上げが必要であると考えられる。

シンビジウムの高温障害回避には最低温度20℃以下の環境が必要であると報告されている⁷⁾。また、昼温30℃夜温25℃以上が継続すると発生すると報告もある⁸⁾。本試験では当初、最低室温を20℃に設置した。しかしながら、試験2では、最低室温20℃環境に遭遇しても高温障害の発生は見られなかった。そこで、高温障害の発生を誘発するため、最低室温を25℃に変更する必要があった。試験環境では8月の最高室温の平均が28.8℃と30℃に達しておらず、最も近い気象観測地である大泉(標高867m)における試験を行った2014年8月の最高気温の平均は、27.5℃であった。この値は平年より0.7℃低く、前年の8月の31.1℃と比較すると3.6℃低い数値であり、試験は夏の低温により高温障害の発生が低い傾向にあったと考えられる。2013年の8月の最高気温は36.1℃を記録しており、高標高地でも35℃を超える猛暑日に遭遇する危険性が高まっている。本試験では、遠赤色光照射による高温障害軽減効果は、10～20%程度が認められており、高温耐性の低い品種には山上げ地での照射は有効であると考えられる。しかしながら、前報で述べたように高温障害が発生しづらい品種もあり、それらの品種では、山上げ地での照射による品質向上は低いと考えられる。試験2では、高温障害は高温処理を終えた10月以降でも発生が見られた。高温処理区では、高温処理時期のみに照射した9月まで照射区よりも開花まで照射した区の方が、正常花茎率は高かった。これらの結果から、遠赤色光の照射期間は長いほど効果が高いと考えられる。

遠赤色光照射における植物の反応としては、フィトクロムの分子構造の変化による種子の発芽の促進、茎の伸長、花芽形成などが知られるが、本試験で確認されたような障害軽減効果の事例は知られていない。しかしながら、フィトクロムの反応によりジベレリンが生成される事例は知られており、シンビジウムの反応も同様のメカニズムである可能性がある。シンビジウムの高温障害は、エチレンの生成により発生し、ジベレリンの散布により発生を軽減できるとの報告がある²⁾。植物色素である

フィトクロムは、遠赤色光に反応することでジベレリンの生成を高めるとの報告もあり、シンビジウムの高温障害についても同様のメカニズムでジベレリンの生成が生じ、それに伴いエチレンの発生が抑制されることが推測される。今回の試験で用いたACC酸化遺伝子CyaCO1は、花飛び現象が生じる際に発現が確認されている⁶⁾。高温下ではCyaCO1遺伝子は、照射の有無に関わらず発現しており、発現量についても明確な差は認められなかった。遠赤色光照射期間の比較では、試験終了時まで照射した方が9月末までの照射よりも正常花茎率は高くなっていることから、遠赤色光が遺伝子等に及ぼす影響も照射の後半に現れる可能性がある。また、エチレン発生を抑制するとされるジベレリンの発生については、現段階では確認できていない。シンビジウムにおけるジベレリン生成経路は不明であるため、遠赤色光照射とジベレリンの関係を明らかにするためには、その生成経路の解明が不可欠であり、現在、エチレン生成経路の分析を行っている。経路が明らかになればターゲットとなるジベレリンの発現量を測定することでジベレリンと高温障害の関係が明確になる。遠赤色光照射によるジベレリンの影響が明らかにすることで、照射のメカニズムを解明しより効果的な照射技術の開発につながると考えられる。

本研究では、遠赤色光照射がシンビジウムの高温障害の軽減に一定の効果があることを示した。LED照明の価格は、生産量が増えるに従い下落傾向にあるが、現時点で1球3000円前後である。本試験の状況では、1㎡当たり1球以上のLED照明が必要となるため、300㎡のほ場で100万円以上の費用が必要となる。生産農家への導入には、高温障害が発生しやすい耐暑性のない品種に照射を行うなど部分的な導入を行い、なおかつ、より弱い強度での照射の効果を継続して調査する必要があると考えられる。

5. 結 言

遠赤色光照射によるシンビジウムの高温障害の影響について行った本試験は、単波長光を応用した新たな高温対策技術の可能性を示した。しかしながら、照射強度および時間を始め、最適な照射条件と効果についてはまだまだ、解明できていない点も多い。地球温暖化が急速に進む中で、農作物における高温対策の必要性は、今後更に高くなると考えられる。

参考文献

- 1) 白山 竜次, 永吉 実孝: キクの花芽分化抑制における暗期中断電照の波長の影響, 園芸学研究, Vol.12 No.2, P.173-178 (2013)

- 2) 大野 始. シンビジウムの花粉形成ならびに「花飛び」現象に及ぼす高温およびGA3の影響 [英文] . :園芸學會雜誌. Vol,60 No,1, P.149-157 (1991)
- 3) Hisamatsu T, King RW, Helliwell CA, Koshioka M. The involvement of gibberellin 20-oxidase genes in phytochrome-regulated petiole elongation of Arabidopsis. *Plant physiology*. Vol,138 No,2 P.1106-1116 (2005) . pp.104.059055.1106.
- 4) Shima K, Miyamae H, Kawanishi T, et al. : 明期終了時における遠赤色光照射の光強度および照射時間がスプレーギクの茎伸長に及ぼす影響. Vol,10 No,3, P.401-406 (2009)
- 5) Hisamatsu T, Sumitomo K, Shimizu H. : End-of-day far-red treatment enhances responsiveness to gibberellins and promotes stem extension in chrysanthemum. :*Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. Vol,83 No,6 P.695-700 (2008)
- 6) Mita S, Henmi R, Ohno H. : Enhanced expression of genes for ACC synthase, ACC oxidase, and NAC protein during high-temperature-induced necrosis of young inflorescences of Cymbidium. :*Physiologia Plantarum*. Vol,128 No,3 P.476-486 (2006)
- 7) 大野始, 加古舜治, 榊原孝平 : シンビジウムの発育と開花に関する研究 (第8報). 花序の発育段階と高温の影響及び高温下での枯死段階について, 園芸学雑誌, Vol,46 No,別冊2 P.356-357 (1977)
- 8) 一橋正一 : Cymbidium 研究の現状, *Orchid Research*. Vol,1 No,4 (1994)

