

博士論文（要約）

分光光量子束密度の時間変化パターンがコスレタスの  
純光合成速度、形状および成長速度に及ぼす影響

東京大学 大学院農学生命科学研究科 生物・環境工学専攻

地子 智浩

## 目次

第1章 諸言	1
1. 本論文の背景および目的	2
2. 本論文の構成と内容の概略	6
第2章 パルス光照射がコスレタス葉の純光合成速度に及ぼす影響	8
1. 序論	9
2. 純光合成速度推定モデル	14
2.1 モデルの概要	14
2.2 材料および方法	19
2.2.1 供試植物および育成環境	19
2.2.2 光源および照射方法	19
2.2.3 純光合成速度測定	21
2.2.4 クロロフィル蛍光測定	21
2.2.5 パラメータ決定	21
2.3 モデルを用いた推定結果および考察	24
3. パルス光パラメータがコスレタス葉の純光合成速度に及ぼす影響 およびそれらの相互作用	34
3.1 材料および方法	34
3.1.1 供試植物および育成環境	34
3.1.2 光源および照射方法	34
3.1.3 純光合成速度測定	34
3.1.3.1 平均 PPF <sub>D</sub> を固定したパラメータの組合せ	36
3.1.3.2 明期 PPF <sub>D</sub> を固定したパラメータの組合せ	36
3.2 結果および考察	37
3.2.1 周波数-純光合成速度曲線に平均 PPF <sub>D</sub> およびデューティ比が 及ぼす影響	37
3.2.2 デューティ比-純光合成速度曲線（明期 PPF <sub>D</sub> -純光合成速度曲線） に平均 PPF <sub>D</sub> および周波数が及ぼす影響	38
3.2.3 平均 PPF <sub>D</sub> -純光合成速度曲線（明期 PPF <sub>D</sub> -純光合成速度曲線） に周波数およびデューティ比が及ぼす影響	39

3.2.4 平均 PPF <sub>D</sub> -純光合成速度曲線（デューティ比-純光合成速度曲線） に周波数および明期 PPF <sub>D</sub> が及ぼす影響	39
4. 結論	50
第3章 時間帯によって分光光量子束密度が異なる光照射がコスレタスの形状 および成長に及ぼす影響	52
1. 序論	53
2. 青および赤色光単独照射時間がコスレタスの形状および成長に及ぼす 影響およびそれらと日平均 PPF <sub>D</sub> の影響の相互作用	55
2.1 材料および方法	55
2.1.1 供試植物および育成環境	55
2.1.2 光源および照射方法	56
2.1.3 試験区	56
2.1.4 測定項目	56
2.2 結果	61
2.3 考察	68
3. 青色光単独照射時間および青色光照射時間の長さがコスレタスの形状 および成長に及ぼす影響	72
3.1 材料および方法	72
3.1.1 供試植物および育成環境	72
3.1.2 光源および照射方法	72
3.1.3 試験区	72
3.1.3.1 赤色光添加実験	72
3.1.3.2 青色光添加実験	72
3.1.4 測定項目	75
3.2 結果	75
3.2.1 赤色光添加実験	75
3.2.2 青色光添加実験	75
3.3 考察	80
3.3.1 赤色光添加実験	80
3.3.2 青色光添加実験	81

4. 青・赤色光交互照射の周期がコスレタスの形状および成長に及ぼす影響	82
4.1 材料および方法	82
4.1.1 供試植物および育成環境	82
4.1.2 光源および照射方法	82
4.1.3 試験区	82
4.1.4 測定項目	82
4.2 結果	82
4.3 考察	86
5. 結論	92
第4章 結語	94
1. 本論文の総括	95
2. 今後の展望	97
要約	99
引用文献	103
謝辞	113

# 第 1 章

## 諸言

## 1. 本論文の背景および目的

人工光のみを用いて植物を栽培する施設を日本では人工光型植物工場と呼称する（古在, 2012）ことが多い。人工光型植物工場における栽培は、露地栽培および温室栽培と比較して、栽培棚を高段化できるために敷地面積あたりの年間収量が高いこと、気候の影響を受けずに栽培できるために露地または温室では栽培が困難である品種を栽培可能であること、高度な環境制御が可能であるために高い収量を安定して得られることなどの利点を有することから注目されている。アメリカやヨーロッパでは栽培棚を複数段垂直に積み上げる形式から *vertical farming* と呼ばれ、都市部での植物栽培方式として注目されている（Eigenbrod and Gruda, 2015）。しかし、高度な環境制御を行うために設備投資費および電気代等のランニングコストが高いという問題点がある。特に、光合成に必要な光を照射するための照明コストは生産コストの 20~25 %を占める（古在, 2014）とされているため、この削減が重要課題となっている。

人工光型植物工場で用いる植物栽培用光源として近年 LED が注目されている。LED を植物栽培に用いる利点として、長寿命である、消費電力が少ない、発熱が少ない、調光が容易である、および軽量かつ小型であることが挙げられる（Brown et al., 1995）。日本の人工光型植物工場で用いられる光源としては 2013 年時点では蛍光灯が最も多いが、新規に設置される場合には LED を採用するケースが増えている（庄子ら, 2013）。LED は狭波長帯の光を照射可能であるため、複数種類の LED を使い、各種類の LED 光の出力を調節することで種々の分光光量子束密度を作出することが可能である。植物の形態および成長を LED 光照射法により制御することが可能になれば、人工光型植物工場での照明コストの削減につながると考えられる。

光合成有効光量子束密度（以後、PPFD）（Blackman and Mattheaei, 1905; Fan et al., 2013）および相対分光光量子束密度（McCree, 1972）が植物の純光合成速度、形態および成長に及ぼす影響については多くの研究がなされてきた。PPFD-純光合成速度曲線は栽培環境（Sage et al., 1990）、純光合成速度測定時の気温（Rabinowitch, 1951）および CO<sub>2</sub> 濃度（Ögren and Evans, 1993）に影響を受けるが、一般に飽和型の曲線になる（Rabinowitch, 1951）。これを踏まえ

ると、PPFD-純光合成速度曲線の飽和領域にまでは達しない値の PPFD で植物を栽培することで、光照射に消費したエネルギーあたりの収量を高くすることができる (Fan et al., 2013) と指摘されている。また、PPFD が高いほど植物は茎が太く葉が厚いという形状を示す (Johkan et al., 2012) ことが知られている。他方、相対分光光量子束密度は光合成色素の光吸収量に影響を及ぼすことから、純光合成速度に影響を及ぼす (McCree, 1972; Inada, 1976)。相対分光光量子束密度はまた、フィトクロムを介した避陰反応などの形態形成 (Smith and Whitelam, 1997)、青色光受容体を介した気孔開口、光屈性、葉緑体定位運動 (Kozuka et al., 2005; Christie, 2007) などに影響を及ぼすことが知られている。これらの知見に基づき、人工光型植物工場において PPFD および相対分光光量子束密度の制御によって植物の形態制御および成長促進を行おうとする試み (Vince, 1977; Massa et al., 2008; Chang and Chang, 2014; Lin et al., 2013) がなされている。

発光効率が比較的高い AlGaInP 系素子の発光波長帯が 580~650 nm の赤色光領域であり (Krames et al., 2007)、光合成色素であるクロロフィルの吸収ピークに近いこと、赤色 LED を植物栽培に用いた例は多い。Brown et al. (1995) は赤色 LED および遠赤色 LED を用いることで、メタルハライドランプと比較して発光素子における熱放散を抑えつつ同等のフィトクロム光平衡 (フィトクロム全量に占める活性型フィトクロム量の割合、第 3 章で詳述) を実現できることを示した。他方、健全な形態形成および成長促進のための青色光の必要性も指摘されてきた。Hoenecke et al. (1992) は赤色 LED 光下で生じるリーフレタス茎の伸長が青色蛍光灯の添加により抑制できると報告した。Yorio et al. (2001) は赤色 LED 光下と比較して蛍光灯下および赤色 LED 光および青色光蛍光灯の同時照射下でダイコン、ホウレンソウおよびレタスの成長が促進されたと報告した。

その後、青色 LED の普及に伴い、LED を用いた光照射法が植物の形態および成長に及ぼす影響の研究がより容易となった。Matsuda et al. (2004) は赤色 LED 光下と比較して青・赤色 LED 光照射下でイネの純光合成速度が高い値を維持したと報告した。Hogewoning et al. (2010) は青・赤色 LED 光照射で栽培することで赤色 LED 光照射下と比較してキュウリ葉のクロロフィル含量およ

び光合成能力の指標である飽和光下での純光合成速度 ( $A_{max}$ ) が大きくなったと報告した。Liu et al. (2012) は青・赤色 LED 照射下で栽培することで赤色 LED 照射下と比較してトマト葉の純光合成速度が大きくなり、成長が促進されたと報告した。これらの研究結果を踏まえて青・赤色 LED を用いた植物栽培が検討され、青・赤色 LED を用いた照射法が植物の成育に及ぼす影響がより詳細に研究された。例えば、青色 LED 光と赤色 LED 光の PPFD 比が 1:9 のとき、キュウリ苗の地上部生体重 (Hernández and Kubota, 2016) およびトマト苗の乾物重 (Nanya et al., 2012) が最大となったという報告がある。また、青および赤色光に緑色光を加えることでリーフレタスの成長が促進され、栽培中の植物の色の視認が容易になった (Kim et al., 2004) という報告もある。最近では、植物の色の視認性が高い広波長帯の光を照射する蛍光体利用白色 LED (以後、単に白色 LED) が、発光効率の向上と価格の低下を背景として、人工光型植物工場で利用されるようになってきた (Cope and Bugbee, 2013)。

LED を植物栽培用光源とした研究のほとんどは、分光光量子束密度を一定としたものであり、分光光量子束密度が時間変化する照射法に関する研究は著しく少ない。LED は 1  $\mu$ s レベルの間隔で PPFD を変化させることが可能であり、かつ点滅を繰り返しても蛍光灯などとは異なり寿命が短くなることがない。そのため、PPFD を時間変化させる場合の照射に適した光源といえる。また、複数種類の LED を用いてそれぞれの照射光の PPFD を独立に時間変化させることで、相対分光光量子束密度を時間変化させることも可能である。図 1 に LED 光植物栽培の照射法が葉菜類の成長に影響を及ぼす要因とその機構の概要を示す。図中の照射法のカテゴリーにある分光光量子束密度が時間変化する照射法が植物に及ぼす影響の研究は少なくないが、そのほとんどは植物内の光合成機構や光受容体反応の機構を明らかにすることを目的としたもの (Borthwick et al., 1952; Sale and Vince, 1963 など) であり、植物の形態制御または成長促進を目的とした研究は少ない。

PPFD または相対分光光量子束密度が時間変化する照射法によって、そうでない照射法と比較して植物の成長促進を実現できることを示唆する報告がある。森ら (2002) は PPFD が時間変化する照射法が PPFD 一定の照射法と比較してサラダナの純光合成速度を高くしたと報告したが、他の多くの研究

(Tennessen et al., 1995; Jishi et al., 2012 など) では PPF<sub>D</sub> が時間変化する光照射が PPF<sub>D</sub> 一定の光照射と比較して純光合成速度を高くすることはなかったと報告した。しかし、PPFD 時間変化パターンは PPF<sub>D</sub> 変化波形および周波数の組合せに無数のパターンが考えられるため、特定の PPF<sub>D</sub> 時間変化パターンが PPF<sub>D</sub> 一定の光照射と比較して純光合成速度を高くする可能性については否定されていない。

また、相対分光光量子束密度が時間変化する光照射法については、周波数が 0.2~12.8 kHz の赤・白色光交互照射下ではコマツナの純光合成速度が赤・白色光同時照射下と同程度であった (西野, 2011 卒業論文) のに対して、一日の中で時間帯によって分光光量子束密度が異なる光照射がそうでない光照射と比較してコスレタスの成長を促進した例 (Jishi et al., 2016) がある。成長を促進した一因として、形状に影響を及ぼしたことで受光量を大きくしたためと考察されているが、光照射法が形状に影響を及ぼす機構および成長を促進可能な分光光量子束密度変化パターンの特徴については不明であった。

本論文では、分光光量子束密度の時間変化パターンが植物に及ぼす影響に関する二つの研究を行った。一つは PPF<sub>D</sub> が時間変化する光照射法の一つであるパルス光 (本論文では、1 分以下の周期で点滅を繰り返す光であり、光照射中の光強度が一定である矩形パルス光) が植物の純光合成速度に及ぼす影響に関する研究である。パルス光の平均 PPF<sub>D</sub>、周波数およびデューティ比を独立変数としてコスレタス葉の純光合成速度を推定するモデルを作成した。さらにパルス光パラメータである平均 PPF<sub>D</sub>、明期 PPF<sub>D</sub>、周波数およびデューティ比がコスレタス葉の純光合成速度に及ぼす影響およびそれらの相互作用をすべての組合せについて調べ、モデルを用いてそれらの影響および相互作用が生じる機構を説明した。もう一つは、相対分光光量子束密度が時間変化する光照射法が植物の形状および成長に及ぼす影響に関する研究である。青および赤色 LED 光を照射する時間帯を独立に調節することで分光光量子束密度が時間帯によって異なる光環境を作出し、それらの相対分光光量子束密度の時間変化パターンがコスレタスの形状および成長に及ぼす影響を明らかにし、影響を及ぼす機構について考察した。コスレタスを用いたのは、人工光型植物工場で栽培される品目の大部分を占める葉菜類の中で最も多いレタス類 (庄子ら, 2013)

の一つであるためである。

## 2. 本論文の構成と内容の概略

本論文は4章から成る。第1章は緒言であり、第4章は結語である。第2章ではパルス光パラメータが純光合成速度に及ぼす影響を調べた。コスレタスをモデル植物として、純光合成速度を推定するモデルを作成（第2節）し、パルス光パラメータが純光合成速度に及ぼす影響およびそれらの相互作用を調査し、それらの影響および相互作用が生じる機構について考察した（第3節）。第3章では時間帯によって分光光量子束密度が異なる光照射法がコスレタスの形状および成長に及ぼす影響を調査した。青色光単独照射時間の有無および赤色光単独照射時間の影響、およびそれらとPPFDの影響との相互作用（第2節）、青色光単独照射時間および青色光照射時間の長さの影響（第3節）および青・赤色光交互照射の周期の影響（第4節）を調査した。第4章では本論文を総括し、今後の展望について述べた。

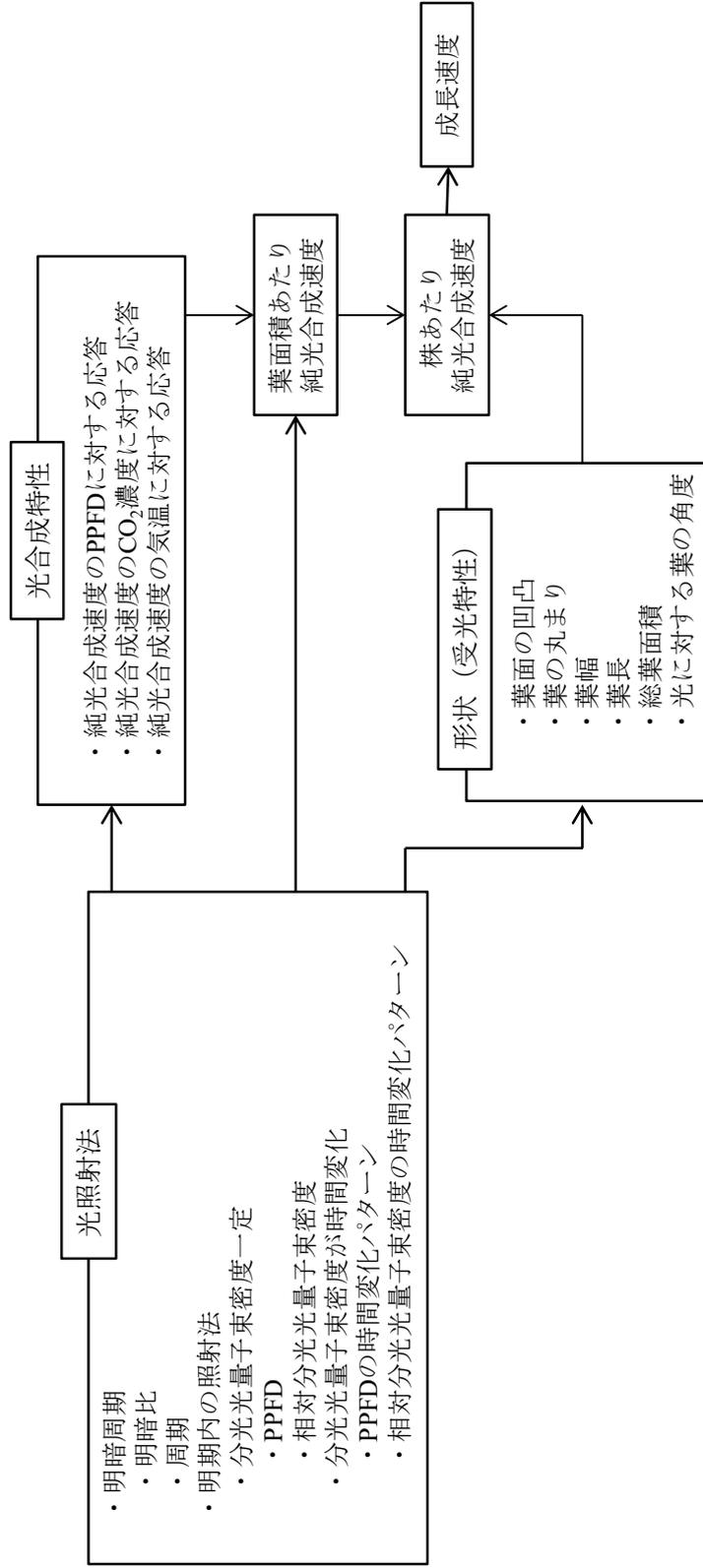


図1 植物栽培におけるLED光照射法が葉菜類の成長速度に影響を及ぼす要因と機構の概要

## 第 2 章

パルス光照射が

コスレタス葉の純光合成速度に及ぼす影響

## 1. 序論

LED を用いた植物栽培や藻類培養にパルス光を利用する試みがある。特定の周波数のパルス光照射下では、平均 PPF<sub>D</sub> の等しい連続光照射下と比較してキュウリ (Klueter et al., 1980)、サラダナ (森ら, 2002) およびレタス (Kanechi et al., 2016) の純光合成速度が高かったとする報告がある。しかし、その他の多くの報告ではパルス光下の純光合成速度は連続光下と同程度または低いとされている。また、Nedbal et al. (1996) は周波数が 100 Hz 程度のパルス光で藻類を培養した結果、平均 PPF<sub>D</sub> の等しい連続光下と比較して成長が促進されたと報告したが、成長促進の要因は純光合成速度が大きかったためではないとしている。Sager and Giger (1980) はパルス光下の純光合成速度を測定した 20 例を精査し、キュウリに関する一例 (Klueter et al., 1980) 以外はパルス光下の純光合成速度が平均 PPF<sub>D</sub> の等しい連続光下と比較して高かったとする報告は存在しなかったと分析した。他方、純光合成速度増大を目的としてではなく、PWM (pulse width modulation) 調光を目的として、パルス光が LED を用いた植物栽培に利用される可能性がある。LED 光に流れる定電流の電流を調節する DC (direct current) 調光に対して、PWM 調光では光照射中の光強度を一定としてデューティ比 (パルス光照射時間に対する明期時間の割合; 図 2) を調節することで調光する。PWM 調光は線形かつ広範囲な光強度調節が容易であるため、一般照明に多く用いられている。そのため、PWM 調光装置の高効率化および低価格化が期待でき、PWM 調光が LED 光植物栽培にも利用される可能性は高いと考える。このとき、パルス光が純光合成速度に及ぼす影響が明らかになれば、パルス光照射により純光合成速度が増大する可能性の検討のみでなく、純光合成速度を低くしない植物栽培用 PWM 調光装置の設計に貢献すると考えた。

パルス光の PPF<sub>D</sub> 時間変化パターンは平均 PPF<sub>D</sub>、周波数およびデューティ比の 3 パラメータ (図 2) によって決定される。平均 PPF<sub>D</sub> の代わりに明期 PPF<sub>D</sub> (平均 PPF<sub>D</sub>/デューティ比) がパラメータとして用いられる場合もある。これらのパラメータが純光合成速度に及ぼす影響の調査は、暗反応の反応速度定数 (Emerson and Arnold, 1932; Weller and Franck, 1941) や光合成中間代謝産

物のプールサイズ (Kok, 1956) などを明らかにするための光合成研究に古くから利用されてきた。LED を用いた研究では、Tennessen et al. (1995) がパルス光下のトマト葉の純光合成速度を測定し、周波数が 100 Hz 以上では平均 PPFD の等しい連続光下と同程度であり、100 Hz 以下では周波数が低いほど低いことを報告した。同様に Nedbal et al. (1996) はパルス光下の微細藻類の純光合成速度を測定し、周波数が 1 kHz 未満では平均 PPFD の等しい連続光下より低く、周波数が低いほど低いと報告した。Nedbal et al. (1996) はまた、周波数が 1 kHz 以下ではデューティ比が 17% のパルス光下でデューティ比が 50% のパルス光下と比較して純光合成速度が低かったと報告した。Jishi et al. (2012) はデューティ比が 25~75%、周波数 0.1~12.8 kHz の範囲のパルス光下でコスレタス葉の純光合成速度を測定し、平均 PPFD の等しい連続光下と同程度であったと報告した。

パルス光下の純光合成速度が平均 PPFD の等しい連続光下と比較して低く、デューティ比が低いほどさらに低い理由は以下のように説明されている。パルス光下の明期 PPFD は平均 PPFD の等しい連続光の PPFD と比較して高く、デューティ比が低いほど高い。例えば、デューティ比が 50% のパルス光照射の明期 PPFD は等しい平均 PPFD の連続光の PPFD の 2 倍であり、デューティ比が 25% では 4 倍である。一般に、PPFD-総光合成速度曲線が上に凸の曲線であることが示すように、PPFD が高いほど PPFD あたりの総光合成速度は低くなる。これは PPFD が高いほど、吸収した光エネルギーのうちで光合成に利用されず熱として放散されるエネルギーの割合が高いためである。等しい平均 PPFD の連続光下と比較して、パルス光下では光照射中の PPFD が高いために熱として放散されるエネルギーの割合が高く、総光合成速度が低く、純光合成速度も低い。さらに、デューティ比が低いほど明期 PPFD が高いために、パルス光下の純光合成速度は低いと考えられる。

高い周波数のパルス光下では純光合成速度が平均 PPFD の等しい連続光下と同程度になり、一定以下の周波数では周波数が低いほど純光合成速度が低くなる機構は以下のように説明される。葉緑体内では、明期に合成し蓄積した光合成中間代謝産物を利用して暗期にも二酸化炭素固定が進行している (Chazdon and Pearcy, 1986; Kirschbaum and Pearcy, 1988)。一定の値より高い周波数のパ

ルス光下では明期時間が短く、明期中に光合成中間代謝産物蓄積量が飽和しないために、吸収した光エネルギーを連続光下と同程度の効率で光合成中間代謝産物生産に利用することができる。そのため、純光合成速度が連続光下と同程度になる。しかし、光合成中間代謝産物の蓄積可能量には限界があり、そのために低い周波数では長い明期の途中で蓄積量が飽和し、それ以降は光エネルギーを光合成中間代謝産物合成に効率的に利用できずに熱として放散する割合が高くなると考えられる。このために、低い周波数のパルス光下では平均純光合成速度が低く、また周波数が低いほど明期が長く光エネルギーを熱として放散する割合が高い時間が長いために平均純光合成速度が低いと考えられる。

上記のようにパルス光下の純光合成速度は複数のパラメータに影響を受け、それらの影響は周波数について特に多く調べられてきた。しかし、その他のパラメータの影響についての研究は少ない。この原因の一つは平均 PPFD、明期 PPFD、およびデューティ比が、 $\text{平均 PPFD} = \text{明期 PPFD} \times \text{デューティ比}$  の関係を満たし、3 パラメータのうち 2 つが決定すれば残りの 1 つが自動的に決定するという複雑さにあると考えられる。例えば、平均 PPFD が純光合成速度に及ぼす影響を調べる際には、明期 PPFD を一定とした条件およびデューティ比を一定とした条件の二種類の調べ方が考えられる。つまり、あるパラメータが純光合成速度に及ぼす影響を結論するには、その他のパラメータのうちいずれを固定したかを分類して調査する必要がある。さらに、パラメータが純光合成速度に及ぼす影響には相互作用があることが知られている。例えば、周波数低下に伴う純光合成速度低下の度合いはデューティ比が低いほど大きい (Nedbal et al., 1996)。このように、あるパラメータが純光合成速度に及ぼす影響は固定したパラメータの値によって異なる。つまり、パラメータ間の相互作用をも考慮しなければ、パラメータが純光合成速度に及ぼす影響を結論することはできない。

パルス光下では光合成中間代謝産物の蓄積および消費が起きるという機構がある程度明らかになっているため、パルス光下の光合成を数理モデルで記述することが可能であり、これによりパルス光パラメータが純光合成速度に及ぼす影響およびそれらの相互作用を定量的に推定できると考えた。Lightfleck (数秒から数分の強光) 照射中および照射後の光合成については、モデル化された

例がある。Gross et al. (1991) はカルビン回路の光合成中間代謝産物蓄積量の時間変化を推定するモデルを作成した。Lightfleck 照射中および照射後の二酸化炭素吸収速度時間変化はこのモデルによってよく説明されている。Kirschbaum et al. (1998) は Rubisco および RuBP の活性化状態をも考慮に入れたモデルを作成し、同様に酸素発生速度および二酸化炭素吸収速度の時間変化を説明した。このように、lightfleck については詳細なモデルがあり、光合成中間代謝産物蓄積量の時間変化推定および酸素放出および二酸化炭素吸収速度の時間変化の説明に有効であることが示されている。しかし、明期および暗期を繰り返すパルス光下の光合成に関するモデルは経験的なモデル (Yoshimoto et al., 2005) があるのみであり、機構的モデルおよび純光合成速度を推定可能なモデルは見あたらない。本論文ではパルス光下の光合成中間代謝産物蓄積量の時間変化を推定する動的モデルを作成し、パラメータが純光合成速度に及ぼす影響およびそれらの相互作用を定量的に推定した。平均 PPFD、周波数およびデューティ比がパルス光下の純光合成速度に及ぼす影響を推定するモデルが作成されれば、平均 PPFD の等しい連続光と比較して純光合成速度を大きくするパラメータの組合せが存在する可能性の検討および純光合成速度を低くしない植物栽培用 PWM 調光装置の設計に利用できる。また、作成したモデルに基づいて光合成中間代謝産物の最大蓄積量 (プールサイズ) などの値を推定し、光合成に関する基礎的な知見を得られることも期待した。モデルの入力は平均 PPFD、周波数およびデューティ比であり、出力は平均純光合成速度である。

本章ではまた、パラメータである平均 PPFD、明期 PPFD、周波数およびデューティ比が純光合成速度に及ぼす影響およびそれらの組合せすべてについての相互作用を、実測により調査した。それぞれのパルス光パラメータが純光合成速度に及ぼす影響を、その他のパルス光パラメータのうち何を固定したかの場合ごとに分けてすべてのパターンについて調査した。さらに、これらの相互作用についてもすべての組合せについて調査した。そして、その結果が既往の研究と同様に光合成中間代謝産物の蓄積に基づいて説明できることを作成したモデルに基づいて検証した。

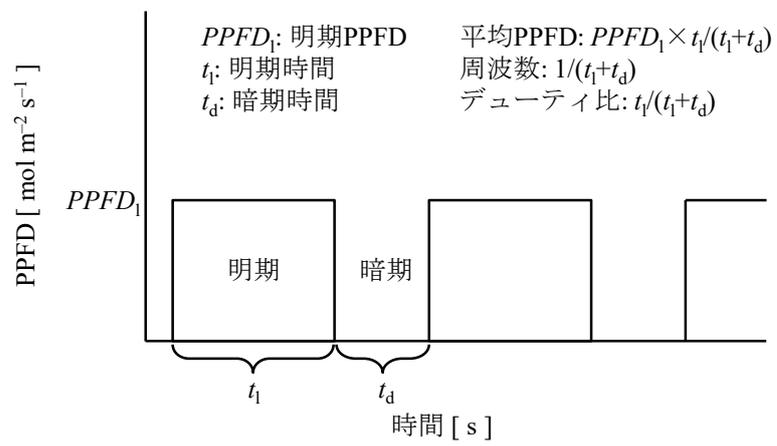


図2 矩形パルス光のPPFD変化波形およびパラメータ

## 2. 純光合成速度推定モデル

### 2.1 モデルの概要

本モデルは、葉緑体内で光合成中間代謝産物が、明期に吸収した光エネルギーを化学エネルギーのプールとして蓄積していると仮定している（図 3）。光合成は  $Q_A$ 、プラストキノン、NADPH など複数の中間代謝産物を介した反応であるが、本モデルではこれらをまとめて一つのプールとして扱っている。この一つのプールを担う光合成中間代謝産物を PI とする。PI は光合成反応においてエネルギーを媒介する物質のうちでエネルギーを受け取った状態（例えば、電子伝達物質であれば還元された状態）にあるものを指す。

時刻  $t$  における、エネルギーを媒介する物質に占める PI の割合を  $\rho(t)$  とする。 $\rho(t)$  は

$$\rho(t) = \frac{S(t)}{S_{\max}} \quad (0 \leq \rho(t) \leq 1) \quad (1)$$

と定義される。ここで、 $S(t)$  は葉面積あたりの蓄積 PI 量（単位:  $\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$ ）である。また、 $S_{\max}$  は蓄積可能な PI の最大量（単位:  $\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$ ）であり、葉ごとに固有のパラメータである。単位の  $\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$  は PI 量を  $\text{CO}_2$  吸収可能量に換算して扱っていることを示す。

$J_a(t)$  は時刻  $t$  における PI の生産速度（単位:  $\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ）であり、以下のように算出される。

$$J_a(t) = J_{\text{amax}} \cdot \{1 - \rho(t)\} \quad (2)$$

ここで、 $J_{\text{amax}}$  は、全ての PI がエネルギーを受け取れる状態（例えば、電子伝達物質であれば酸化された状態）であるときの PSII の最大電子伝達速度である。 $\{1 - \rho(t)\}$  は蓄積可能な PI 量 ( $S_{\max}$ ) のうちエネルギーを受け取れる状態にあるものの割合である。

$J_{\text{amax}}$  は以下のように表される（Genty et al. (1989) を利用）。

$$J_{\text{amax}} = \begin{cases} \frac{I}{D} \cdot 0.5 \cdot 0.84 \cdot \frac{F'_v}{F'_m} \cdot 0.25 & \text{(明期)} \\ 0 & \text{(暗期)} \end{cases} \quad (3)$$

ここで、 $I$  および  $D$  はそれぞれ、パルス光の平均 PPFD およびデューティ比で

ある。つまり、 $I/D$  は明期 PPFD を表す。0.5 は 1 mol の電子伝達には 2 mol の光量子のエネルギーが必要であることを反映した定数である。0.84 は葉の光吸収率の定数である。 $F_v'/F_m'$  は葉が吸収した光エネルギーの中で熱として放散されずに電子伝達に利用されるエネルギーの割合の最大値である。 $F_v'/F_m'$  は葉の特性およびキサントフィルサイクルの状態によって決定するパラメータである。0.25 は 1 mol の  $\text{CO}_2$  固定には 4 mol の電子伝達が必要であることを反映した定数である。本モデルでは  $4 \times J_{\text{amax}} \{1 - \rho(t)\}$  を電子伝達速度としている。つまり、 $F_v'/F_m'$  とエネルギーを受け取れる状態の光合成中間代謝産物割合の積を電子伝達速度と見なしており、 $\{1 - \rho(t)\}$  を  $q_p$  と置き換えるとパドルモデル (Schreiber et al., 1986) と同じ式となる。

PI の消費速度である  $J_b(t)$  は以下の様に算出される。

$$J_b(t) = J_{b\text{max}} \cdot \rho(t) \quad (4)$$

ここで、 $J_{b\text{max}}$  (単位:  $\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) は  $J_b$  の最大値を示す。 $J_{b\text{max}}$  は葉ごとに固有のパラメータである。

PI 蓄積量の時間変化である  $dS(t)/dt$  は生産速度と消費速度の収支より

$$\frac{dS(t)}{dt} = J_a(t) - J_b(t) \quad (5)$$

と表される。さらに、式 (1)、(2) および (4) を式 (5) に代入することで以下の式が得られる。

$$\frac{dS(t)}{dt} = J_{\text{amax}} \cdot \left\{1 - \frac{S(t)}{S_{\text{max}}}\right\} - J_{b\text{max}} \cdot \frac{S(t)}{S_{\text{max}}} \quad (6)$$

式 (6) の微分方程式を変数分離法により解くと、PI 蓄積量の指標である  $\rho(t)$  の時間変化は以下のように表される。

$$\rho(t) = \frac{J_{\text{amax}}}{J_{\text{amax}} + J_{b\text{max}}} - C \cdot \exp\left\{-\frac{J_{\text{amax}} + J_{b\text{max}}}{S_{\text{max}}} \cdot t\right\} \quad (7)$$

ここで  $C$  は積分定数である。暗期には光が照射されないために  $J_{\text{amax}}=0$  であることを踏まえると、明期および暗期の  $\rho(t)$  の時間変化は以下のように分けて表すことができる。

$$\rho_l(t) = \frac{J_{\text{amax}}}{J_{\text{amax}} + J_{b\text{max}}} - C_l \cdot \exp\left\{-\frac{J_{\text{amax}} + J_{b\text{max}}}{S_{\text{max}}} \cdot t\right\} \quad (8)$$

$$\rho_d(t) = -C_d \cdot \exp\left\{-\frac{J_{bmax}}{S_{max}} \cdot t\right\} \quad (9)$$

ここで  $\rho_l(t)$  および  $\rho_d(t)$  はそれぞれ、明期または暗期開始  $t$  秒後におけるエネルギーを媒介する物質に占める PI の割合である。 $C_l$  および  $C_d$  は定数である。

$C_l$  および  $C_d$  は以下の境界条件によって決定する。本モデルではパルス光下で PI の蓄積量の時間変化が周期的に同じ繰り返しをしている状態の平均純光合成速度を推定する。そのため、明期終了時に蓄積されている PI 量は暗期開始時に蓄積されている PI 量と等しい。同様に暗期終了時に蓄積されている PI 量は明期開始時に蓄積されている PI 量と等しい。これらの条件より以下の式が成立する。

$$\rho_l(T_l) = \rho_d(0) \quad (10)$$

$$\rho_d(T_d) = \rho_l(0) \quad (11)$$

ここで  $T_l$  および  $T_d$  はそれぞれ明期および暗期の長さ（単位：s）を示す。 $T_l$  および  $T_d$  は以下のように表される。

$$T_l = \frac{D}{f} \quad (12)$$

$$T_d = \frac{1-D}{f} \quad (13)$$

ここで  $f$  はパルス光の周波数であり、 $D$  はデューティ比である。式 (10) および (11) を式 (8) および (9) に代入して連立方程式を解くことで、以下のように  $C_l$  および  $C_d$  が得られる。

$$C_l = \frac{J_{amax}}{J_{amax} + J_{bmax}} \cdot \frac{1 - \exp\left(-\frac{J_{bmax} \cdot T_d}{S_{max}}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{T_l \cdot J_{amax} + T_l \cdot J_{amax} + T_d \cdot J_{bmax}}{S_{max}}\right)} \quad (14)$$

$$C_d = \frac{J_{amax}}{J_{amax} + J_{bmax}} \cdot \left\{ \frac{\exp\left\{-\frac{(J_{amax} + J_{bmax}) \cdot T_l}{S_{max}}\right\} \cdot \left\{1 - \exp\left(-\frac{J_{bmax} \cdot T_d}{S_{max}}\right)\right\}}{1 - \exp\left(-\frac{T_l \cdot J_{amax} + T_l \cdot J_{amax} + T_d \cdot J_{bmax}}{S_{max}}\right)} - 1 \right\} \quad (15)$$

葉面積あたり総光合成速度の瞬時値  $P_{gi}(t)$  (単位:  $\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) は以下のよ  
うに算出される。 $P_{gi}(t)$ はカルビン回路における  $\text{CO}_2$  固定速度を示す。

$$P_{gi} = k \cdot J_b(t) \quad (16)$$

ここで  $k$  は電子伝達速度あたりの  $\text{CO}_2$  固定速度を示すパラメータである。葉  
内  $\text{CO}_2$  濃度および葉内  $\text{O}_2$  濃度が一定であれば、電子伝達速度あたりの光呼吸  
速度は一定である (Farquhar et al. (1980) より算出) ため、 $k$  も一定であると  
みなせる。

葉面積あたりの葉肉細胞の純光合成速度の瞬時値である  $P_{ni}(t)$  (単位:  $\text{mol}$   
 $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) は以下のように算出される。

$$P_{ni}(t) = P_{gi}(t) - R_d \quad (17)$$

ここで  $R_d$  は暗呼吸速度 (単位:  $\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) である。純光合成速度の時間  
平均値 ( $P_n$ ) は 1 周期あたりの  $P_{ni}$  時間平均値と等しく、以下のように表され  
る。

$$P_n = f \cdot \int_0^{\frac{1}{f}} P_{ni}(t) dt \quad (18)$$

さらに、式 (4)、(16) および (17) を式 (18) に代入することで、 $P_n$  を明  
期および暗期それぞれの積算  $P_{ni}$  の和として以下のように表せる。

$$P_n = f \cdot \int_0^{T_1} k \cdot J_{b\max} \cdot \rho_l(t) dt + f \cdot \int_0^{T_d} k \cdot J_{b\max} \cdot \rho_d(t) dt - R_d \quad (19)$$

最後に、式 (8) および (9) を式 (19) に代入することで以下の式が得られ  
る。

$$\begin{aligned} P_n = f \cdot k \cdot J_{b\max} & \cdot \left\{ \frac{J_{a\max}}{J_{a\max} + J_{b\max}} \cdot T_1 + C_1 \cdot \frac{S_{\max}}{J_{a\max} + J_{b\max}} \right. \\ & \cdot \left[ \exp\left(-\frac{J_{a\max} + J_{b\max}}{S_{\max}} \cdot T_1\right) - 1 \right] + C_d \cdot \frac{S_{\max}}{J_{b\max}} \\ & \left. \cdot \left[ \exp\left(-\frac{J_{b\max}}{S_{\max}} \cdot T_d\right) - 1 \right] \right\} - R_d \end{aligned} \quad (20)$$

ここで、 $J_{a\max}$ 、 $T_1$ 、 $T_d$ 、 $C_1$  および  $C_d$  は既に式 (3) および (12) ~ (15) にお

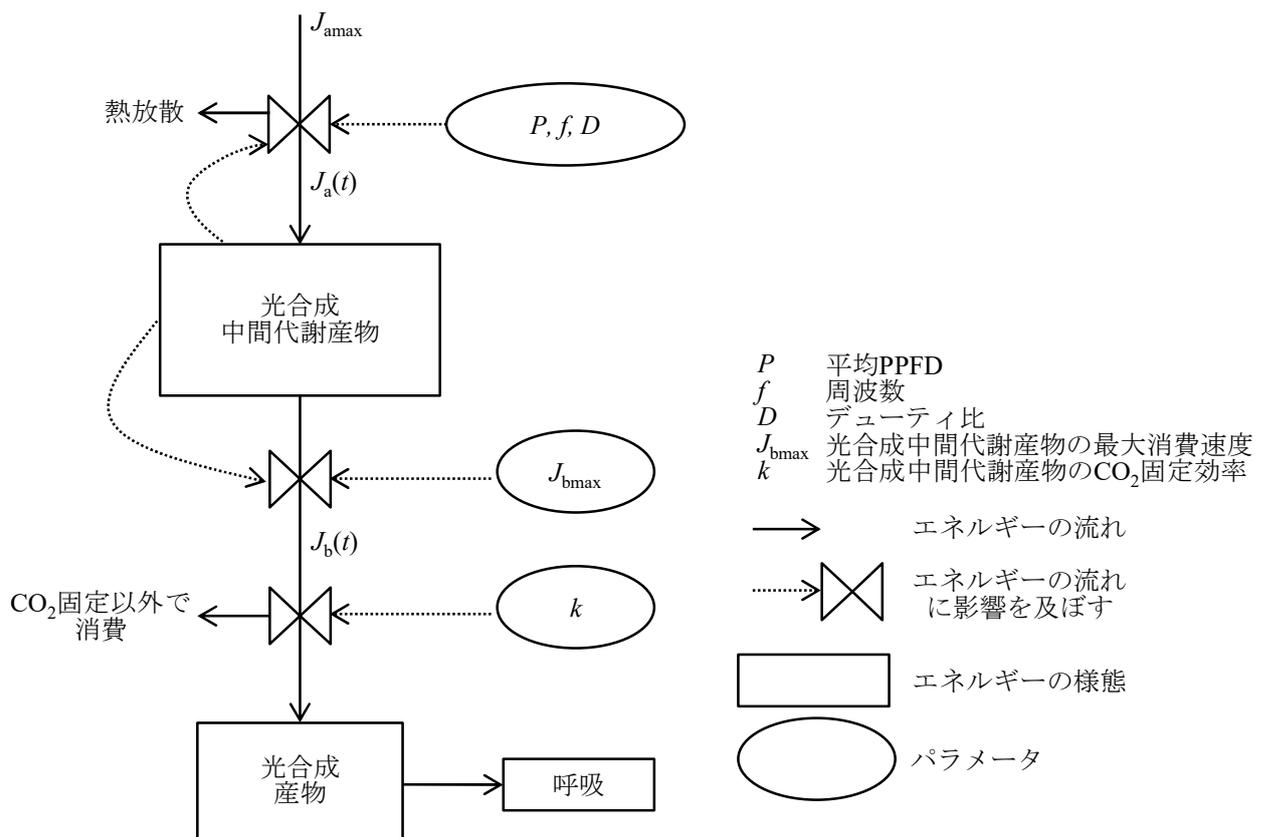


図3 純光合成速度推定モデルで扱う反応の概要

いて説明変数である  $I$ 、 $f$  および  $D$  と葉の光合成特性パラメータである  $R_d$ 、 $J_{bmax}$ 、 $k$ 、 $S_{max}$  および  $F_v'/F_m'$  を用いて表されている。すなわち、パルス光下の純光合成速度の時間平均値 ( $P_n$ ) を、説明変数および葉の光合成特性パラメータのみを用いて算出できるモデル式が導かれた。

## 2.2 材料および方法

### 2.2.1 供試植物および育成環境

供試植物としてコスレタス (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*, cv. Cos Lettuce, タキイ種苗株式会社) を用いた。水耕用ウレタンキューブを上下 2 つに等分し (22 mmL×22 mmW×14 mmH)、水道水で湿らせ、コスレタス種子を播種した。播種したウレタンキューブを 128 穴セルトレイ内に、1 セルに 1 つずつ静置した。セルトレイを、水道水を約 2 cm の深さまで注いだ白色プラスチックトレイ内に静置した。白色プラスチックトレイを気温 25±1°C、明期 16 h/暗期 8 h のインキュベータ (MIR-553, 三洋電機 (株) 製) 内に静置して、コスレタスを発芽させた。発芽処理中は明期に白色 LED パネル (詳細は後述) から、ウレタンキューブ上面の PPFD を 150~200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  とするように白色 LED 光を照射した。

播種 7 日後に発芽した個体の中から成育の揃った個体を選抜し、厚さ 25 mm の発泡スチロールパネルに空いた直径 20 mm の穴に移植した。発泡スチロールパネルを培養液 (大塚 A 処方 0.5 単位; E.C. 150±10  $\text{mSm}^{-1}$ ) 6 L を注いだプラスチック製容器内に浮かべた。培養液にエアープンプ ( $\alpha$ 2000, (株) マルカン製) を用いて通気した。移植後の栽培環境を気温 25±1°C、明期 16 h/暗期 8 h、ウレタンキューブ面における PPFD 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  に調節した。移植後 21 日 (播種後 28 日) に、本葉が 8~10 枚となった株を純光合成速度測定に供試した。

### 2.2.2 光源および照射方法

コスレタスの栽培、純光合成速度測定およびクロロフィル蛍光測定のための光源には砲弾型の白色 LED (NSPW310DS-b2W, 日亜化学工業 (株) 製) を用

いた。分光放射計（MS-720, 英弘精機（株）製）を用いて測定した白色 LED の相対分光光量子束密度を図 4 に示す。コスレタスの栽培には白色 LED を 18 直列×18 並列で 324 個配置した栽培用白色 LED パネル（以後、栽培用パネル）を 2 枚用いた。栽培用パネルは、ユニバーサル基板（ICB-200P, サンハヤト（株）製）にソケットピン（R02201-87-3010, PRECI-DIP 社製）を挿し込みはんだ付けし、ソケットピンをワイヤラッピングで接続したものに、2 本のリードフレームを同じ長さになるように切断した白色 LED をソケットピンに設置して作成した。栽培中は直流電源装置（PMC70-1A, 菊水電子（株）製）を用いて栽培用パネルに電圧を印加し、白色 LED 光を照射した。デジタルタイマ（H5CX, オムロン（株）製）を用いて直流電源装置をリモートコントロールし、明期および暗期を設定した。

純光合成速度測定およびクロロフィル蛍光測定にはプリント基板（50 mm×72 mm）に白色 LED を 8 直列×9 並列で 72 個配置した測定用白色 LED パネル（以後、測定用パネル）を用いた。連続光照射時にはバイポーラ電源/増幅装置（POW35-1A, 菊水電子工業（株）製；以後バイポーラ電源）を用いて測定用光源に定電圧を印加した。パルス光照射時には、ファンクションジェネレータ（SFG-2104, Good Will instrument 社製）が生成したパルス電圧をバイポーラ電源で増幅して測定用光源に印加した。ファンクションジェネレータは 1 Hz 以下の周波数の電圧を出力できないため、1 Hz 以下のパルス光照射時には、バイポーラ電源から出力された電流をデジタルタイマによって通電と遮断を繰り返すことでパルス電流を作出し、測定用光源に通電した。

パルス光の PPF<sub>D</sub> およびパルス波形はフォト IC ダイオード（S7565, 浜松ホトニクス（株）製）、増幅回路およびオシロスコープ（TPS2024, Tektronix, Inc.社製）を用いて測定した。オシロスコープの波形から、時間遅れの小さい矩形パルス光が照射されていることが確認された（図 5）。オシロスコープで読み取った電圧の PPF<sub>D</sub> への変換は、光量子センサ（LI-190SA, LI-COR 社製）および専用表示器（LI-1400, LI-COR 社製）を用いて電圧-PPFD 変換式を作成して行った。照射光の PPF<sub>D</sub> はバイポーラ電源の電圧または増幅率を調節することで調節した。

### 2.2.3 純光合成速度測定

純光合成速度測定は携帯型光合成蒸散測定装置（LI-6400 および LI-6400XT, LI-COR 社製）を用いて測定した。コスレタス株を約 300 mL の培養液で満たされた容器に移植し、第三本葉の中の面積 6 cm<sup>2</sup> の部分の CO<sub>2</sub> 吸収速度を測定して純光合成速度とした。測定中は葉内 CO<sub>2</sub> 濃度が 360 ± 10 μmol mol<sup>-1</sup> となるようにチャンバーへの流入空気の CO<sub>2</sub> 濃度を調節した。連続光下では PPF<sub>D</sub> が 0、200、400 および 800 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> の条件で測定した。パルス光下では平均 PPF<sub>D</sub> が 200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> で、周波数が 0.1、1、10、100 または 1000 Hz とデューティ比が 25 または 50% である計 10 条件で測定した。光照射開始後 20 分以上経過し、純光合成速度の測定値が安定してから、1 秒に 1 回の計測を 30 回行い、その平均値を純光合成速度実測値とした。

### 2.2.4 クロロフィル蛍光測定

クロロフィル蛍光測定には携帯型 PAM クロロフィル蛍光測定器（MINI-PAM, Heinz Walz 社製）を用いた。励起用光源には測定用パネルを用いて、葉面における PPF<sub>D</sub> が 200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> となるように白色 LED 連続光を照射した。F<sub>0</sub>、F<sub>m</sub> および F<sub>v</sub>' を測定し、以下の式（Oxborough and Baker, 1997）により F<sub>0</sub>' を算出した。

$$F_0' = \frac{F_0}{\frac{F_v}{F_m} + \frac{F_0}{F_m'}} \quad (21)$$

### 2.2.5 葉の光合成特性パラメータ決定

本モデルは R<sub>d</sub>、J<sub>bmax</sub>、k、S<sub>max</sub> および F<sub>v</sub>'/F<sub>m</sub>' の 5 つの葉の光合成特性パラメータを有する。これらのパラメータは純光合成速度およびクロロフィル蛍光の実測値の 4 株の平均値を用いて決定した。R<sub>d</sub> は暗呼吸速度であり、光を照射していない状態で測定したコスレタス葉の CO<sub>2</sub> 吸収速度とした。F<sub>v</sub>'/F<sub>m</sub>' は光照射下の葉が吸収した光エネルギーの中で熱放散されずに光合成に利用されるエネルギーの割合の最大値である。測定または算出したクロロフィル蛍光パラメータを用いて以下の式から計算した。

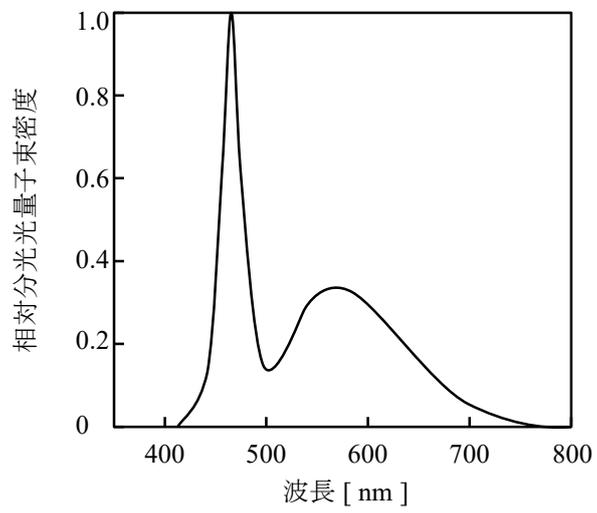


図4 供試植物の育苗および純光合成速度測定に用いた白色LED光の相対分光光子束密度分布

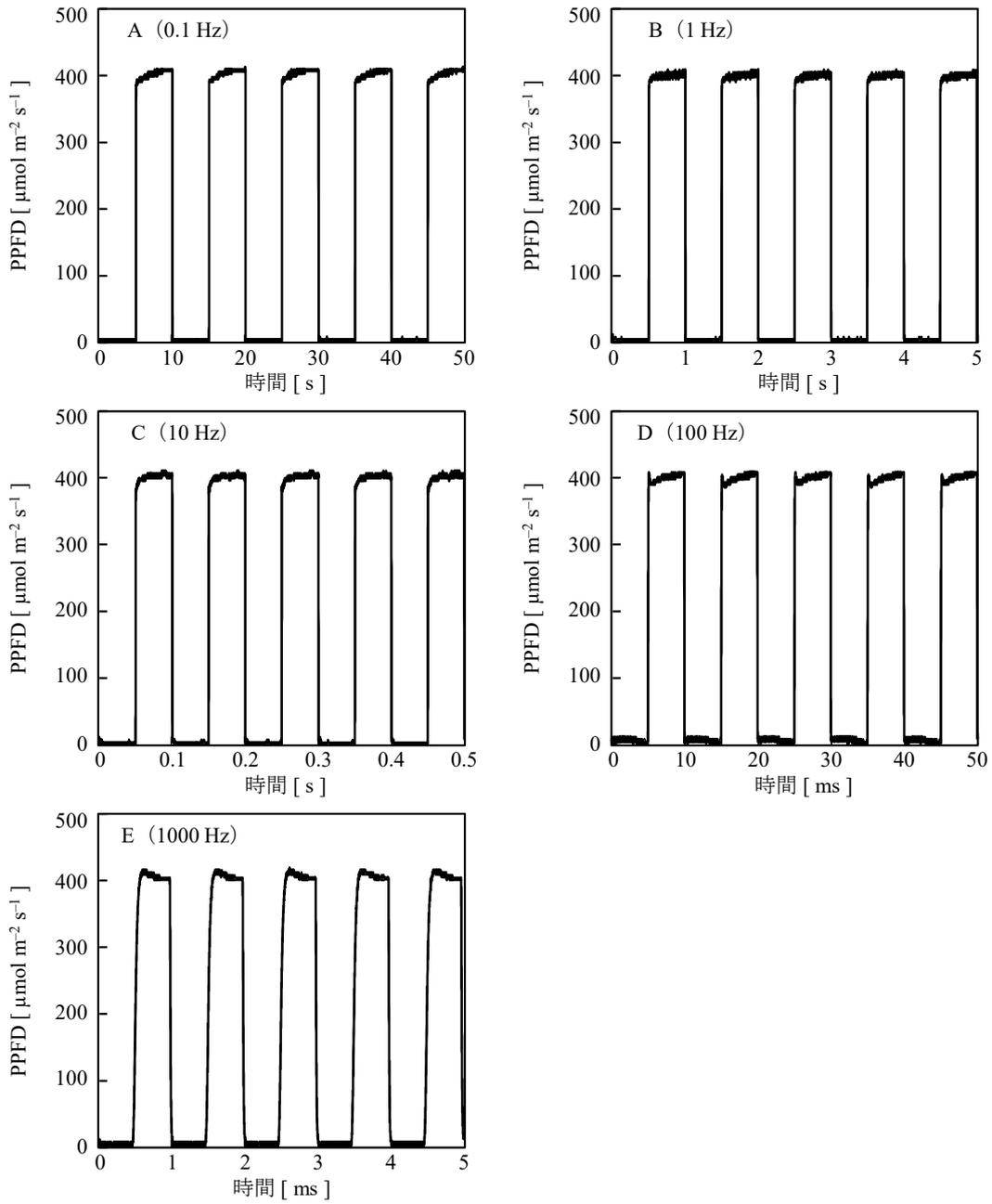


図5 純光合成速度測定に用いた、平均PPFDが $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、デューティ比が50%かつ周波数が0.1 (A)、1 (B)、10 (C)、100 (D) または1000 (E) Hzのパルス光のPPFD時間変化波形の例

$$\frac{F_v'}{F_m'} = \frac{F_m' - F_o'}{F_m'} \quad (22)$$

$J_{bmax}$ 、 $k$  および  $S_{max}$  は、パルス光下で測定した純光合成速度の 4 株の平均値を用いて、10 点の純光合成速度実測値とモデル式で算出した値の差の二乗の和が最小となる値としてそれぞれ決定した。

### 2.3 モデルを用いた推定結果および考察

連続光下の PPF<sub>D</sub>-純光合成速度曲線を図 6 に示す。PPFD-純光合成速度曲線が上に凸のカーブを描いていることが示すように、PPFD が高いほど、葉に吸収された光エネルギーの中で光合成に利用されず熱として放散されるエネルギーの割合が大きい。そのため、デューティ比が低いほどパルス光下の明期 PPF<sub>D</sub> が高いことから、パルス光下の純光合成速度も低いと予想できる。

パルス光下純光合成速度の実測値は、既往の文献に報告されているように周波数に影響を受けた (図 7)。この影響は本モデルによって説明できる。パルス光下の純光合成速度の実測値およびモデルによる推定値を図 8 に示す。4 株の平均値から求めた葉の光合成特性パラメータは、 $R_d$   $0.75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、 $J_{bmax}$   $150 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、 $k$   $0.32$ 、 $S_{max}$   $2.4 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$ 、 $F_v'/F_m'$   $0.80$  だり、これらの値を推定に用いた。周波数が 100 Hz 以上のパルス光下の純光合成速度は連続光下の純光合成速度と同程度になると推定された。一方で、周波数が 100 Hz 以下のパルス光下では周波数が低いほど純光合成速度が低いと推定された。また、周波数が 100 Hz 以下ではデューティ比が 25% のパルス光下で、デューティ比 50% と比較して純光合成速度がより低いと推定された。これらの推定値は定量的にも実測値をよく反映していた。

図 9 は PPF<sub>D</sub> が  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、デューティ比が 50%、周波数が 1、10 または 100 Hz のパルス光下の瞬間純光合成速度の時間変化を本モデルにより推定したものである。周波数 10 Hz のパルス光下での純光合成速度は、明期には光合成中間代謝産物の蓄積量上昇に伴って上昇し、暗期には光合成中間代謝産物蓄積量低下に伴って低下すると推定された (図 9B)。これと比較して、低い周波数のパルス光下での純光合成速度は、明期 PPF<sub>D</sub> が高いことによる光利

用効率（PPFDあたりのPI生産速度）の低下の影響を強く受けると推定された。周波数 1 Hz のパルス光下（図 9A）では明期の途中で光合成中間代謝産物蓄積量が飽和するために純光合成速度は一定の値を超えず、また、暗期の途中で蓄積された光合成中間代謝産物量の大部分を消費して光合成反応がほぼ停止すると推定された。この明期における光利用効率低下がパルス光下純光合成速度の低下に寄与していると考えられる。周波数が 100 Hz のパルス光下では純光合成速度瞬時値は大きく変動せずほぼ一定であると推定された（図 9C）。これは明期に蓄積され暗期に消費される光合成中間代謝産物の量に対してプールサイズが十分に大きいため、光合成中間代謝産物蓄積量が大きく変動せず連続光下と同程度でほぼ一定であったと推定されたためである。

さらに、本モデルを用いて平均 PPFD が  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  のパルス光下の純光合成速度に周波数およびデューティ比が及ぼす影響を推定した（図 10）。低い周波数かつ低いデューティ比のパルス光下で純光合成速度は著しく低くなった。他方、周波数またはデューティ比のいずれかが高いと、純光合成速度は大きく低下せず連続光下と同程度になると推定された。この推定は既往の研究（Nedbal et al., 1996; Tennessen et al., 1995）の結果と同じ傾向であった。また、本モデルに基づく、すべての平均 PPFD、周波数およびデューティ比の組み合わせにおいて、パルス光下の純光合成速度は連続光下のそれを超えることはないと推定された。これは Sager and Giger (1980) が既往の研究をレビューした結果、平均 PPFD が等しい条件での比較では大部分の研究でパルス光下純光合成速度が連続光下純光合成速度を超えていなかったとする報告を支持する結果であった。連続光下と比較してパルス光下でサラダナの純光合成速度が高かった（森ら, 2010）ことの理由として、暗期が存在するために平均 PPFD あたりの総光合成速度が高かったことによるものと考察されている。しかし、本モデルで扱った光合成中間代謝産物蓄積の機構に基づく、平均 PPFD が等しい条件でパルス光と連続光を比較したときに、暗期の存在が純光合成速度を高くすることは考えられない。

また、平均 PPFD が異なる場合での、周波数が純光合成速度に及ぼす影響を推定した。図 11 は平均 PPFD が 100、200 および  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  のパルス光下において、周波数が純光合成速度に及ぼす影響の推定結果を示す。平均

PPFD に関わらず、推定純光合成速度は周波数が低くなるに伴って低くなった。そして、この周波数低下に伴う推定純光合成速度低下の度合いは平均 PPFD が高いほど大きかった。この原因は、平均 PPFD が高いほど明期 PPFD が高く、蓄積された中間代謝産物が明期の早い段階で飽和することおよび飽和後の光利用効率低下の度合いが大きいためであると考えられる。

コスレタス葉の光合成中間代謝産物のプールサイズは  $2.4 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$  と推定された。この値はトマト葉の PSII のプールサイズとして推定された  $0.25 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$  (Tennessen et al., 1995) より高く、インゲンマメおよびインドクワズイモの RuBP のプールサイズとして推定された  $5.3$  および  $14.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$  (Sharkey et al., 1986) より低い。本モデルでは簡略化のために、一種類の光合成中間代謝産物がエネルギーのプールの役割をしていると仮定して、他の光合成中間代謝産物を無視している。これは複数のプールを統合して一つのプールと見なしているとも言換えられる。そのため、推定されたプールサイズ ( $2.4 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$ ) は特定の光合成中間代謝産物のプールサイズを示してはいない。複数のプールを考慮し、より多くのパラメータを持つ複雑なモデルを用いることで、より正確にパルス光下の純光合成速度を推定できる可能性がある。例えば、 $2.4 \mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2}$  より大きいサイズのプールおよび小さいサイズのプールが直列に存在することを仮定すると、パルス光下の純光合成速度の実測値はさらに小さい誤差でモデル推定値にフィッティングされる。複数のプールを仮定したモデルを作成し、パルス光に対する応答をシミュレートすることは、光合成反応を構成する複数の光合成中間代謝産物のプールサイズおよび反応速度の解明に貢献するものと考えられる。その詳細な解明には、パルス幅変調 (PAM) を用いて PSII および PSI の量子収率の時間変化を推定し、電子伝達系の各反応の電子伝達速度の時間変化を求め、それらをパラメータ決定に用いることが有効であると考えられる。ただし、仮定したプールの数にかかわらず、推定されたパルス光下純光合成速度が連続光下純光合成速度を超えることはなく、周波数およびデューティ比が低いほど低いと推定される結果は変わらない。

キサントフィルサイクルの状態変化速度、すなわちキサントフィル類のエポキシ化・脱エポキシ化の速度と比較して、本実験で用いたパルス光の点滅周期は十分に早いために、パラメータ推定においてはキサントフィルの状態変化を

考慮せずに  $F_v'/F_m'$  の値を一定とした。しかし、低い周波数のパルス光下では  $F_v'/F_m'$  の値が PPFD 変動に追従して変動している可能性がある。 $F_v'/F_m'$  が低下すると純光合成速度は低くなるため、本モデルによる推定（図 10）はパルス光下純光合成速度を高く見積もっている可能性がある。しかし、パルス光下純光合成速度が連続光下純光合成速度を超えることはなく、周波数およびデューティ比が低いほど低くなる結果は変わらない。

本モデルでは、周期的に PPFD が変化するパルス光下では、十分長い時間の経過後には PI 蓄積量の時間変化は同じ繰り返しをしているため、1 周期の開始時と終了時で PI 蓄積量が等しいと考えている。この考え方を応用することで、パルス光下以外であっても、PPFD が周期的に変化する環境下の PI 蓄積量時間変化を推定する式が立式可能となり、純光合成速度が推定可能となる。さらに、PPFD 以外の環境が周期的に変化する場合でも、十分長い時間の経過後には植物の応答は同じ繰り返しになり、1 周期の開始時と終了時は同じ状態であると仮定することで、植物の応答パターンを推定する手法として利用できる。

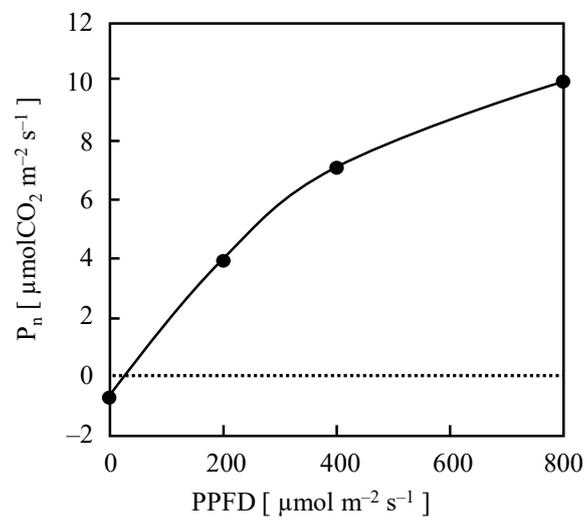


図6 モデルパラメータ決定に用いたコスレタス葉の  
白色LED連続光下のPPFD-純光合成速度 ( $P_n$ ) 曲線

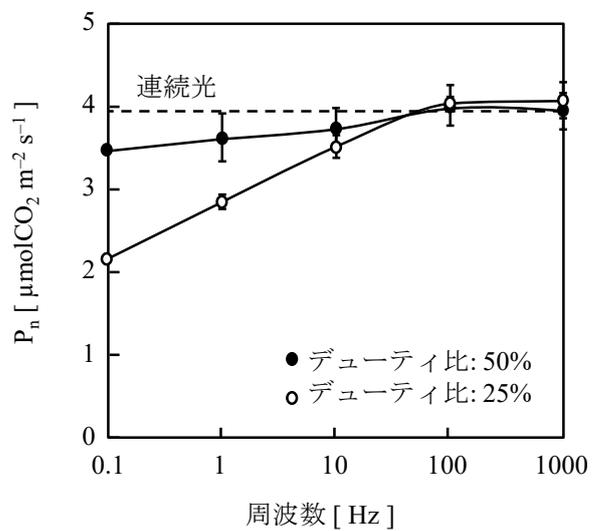


図7 平均PPFDが $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ かつデューティ比が25または50%の白色LEDパルス光下のコスレタス葉の周波数-純光合成速度 ( $P_n$ ) 曲線 (実線) およびPPFDが $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ の白色LED連続光下の純光合成速度 (破線) バーは標準誤差を示す (n = 4)

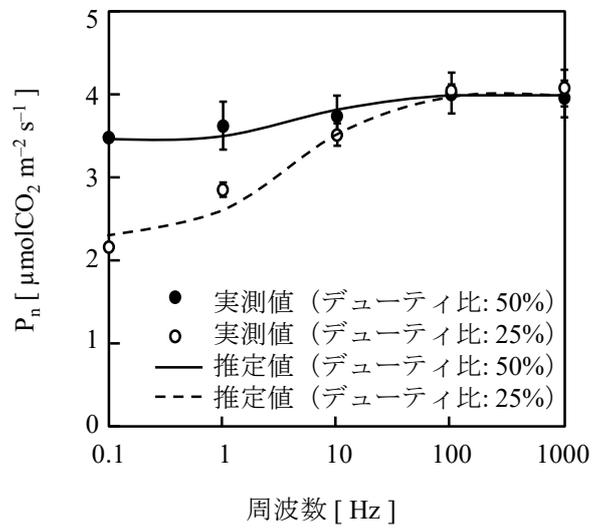


図8 平均PPFDが $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ かつデューティ比が25または50%の白色LEDパルス光下のコスレタス葉の純光合成速度実測値およびモデルによる推定値  
バーは標準誤差を示す (n=4)

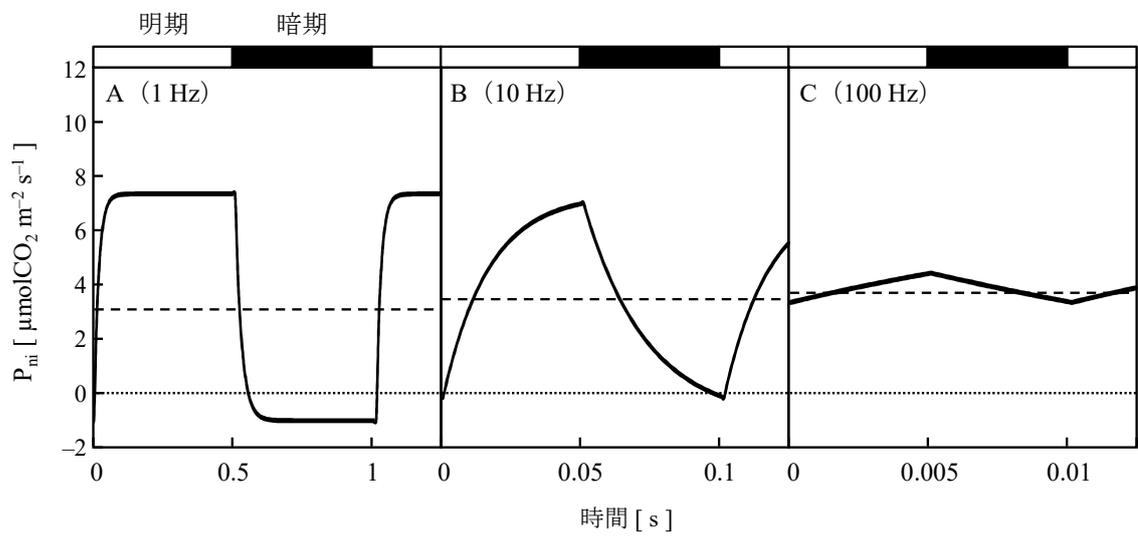


図9 平均PPFDが $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、デューティ比が50%かつ周波数が1 (A)、10 (B) または100 (C) Hzのパルス光下のコスレタス葉の瞬間純光合成速度 ( $P_{ni}$ ) の推定時間変化

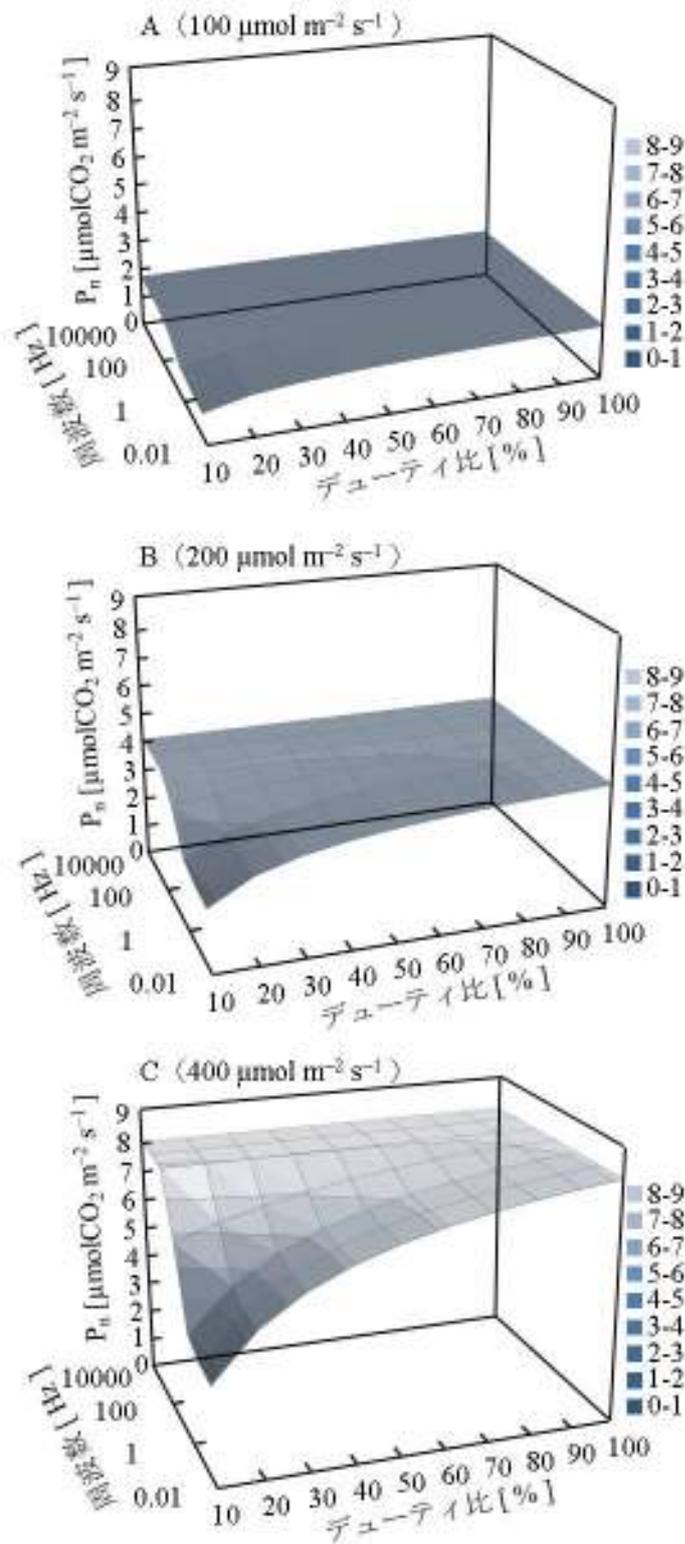


図10 平均PPFDが100 (A)、200 (B) または400 (C)  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  のパルス光下のコスレタス葉の純光合成速度 ( $P_n$ ) 推定値に周波数およびデューティ比が及ぼす影響

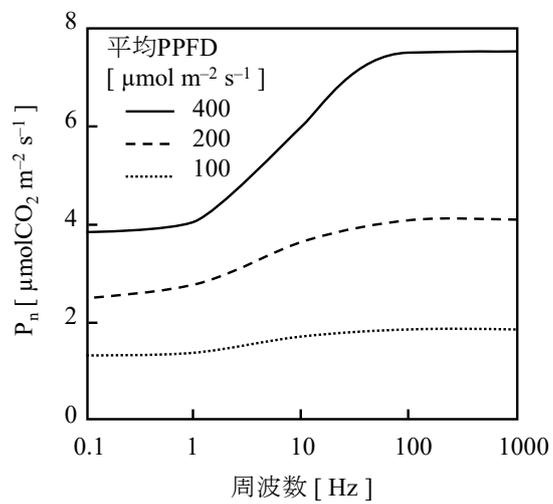


図11 平均PPFDが100、200または400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  かつデューティ比が25%のパルス光下のコスレタス葉の純光合成速度 ( $P_n$ ) 推定値に周波数が及ぼす影響

### 3. パルス光パラメータがコスレタス葉の純光合成速度に及ぼす影響およびそれらの相互作用

本節の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため公表できない。5年以内に出版予定。

### 第 3 章

時間帯によって分光光量子束密度が異なる

光照射法がコスレタスの

形状および成長に及ぼす影響

本章の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため公表できない。5年以内に出版予定。

## 第 4 章

### 結語

本章の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため公表できない。5年以内に出版予定。

引用文献

- Blackman, F. Frost and Gabrielle L. C. Matthaei. 1905. "Experimental Researches in Vegetable Assimilation and Respiration. IV. -A Quantitative Study of Carbon-Dioxide Assimilation and Leaf-Temperature in Natural Illumination." *Society* 76(511):402-60.
- Borthwick, H., S. Hendricks, and M. Parker. 1952. "A Reversible Photoreaction Controlling Seed Germination." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 38(8):662-66.
- Brown, C. S., a C. Schuerger, and J. C. Sager. 1995. "Growth and Photomorphogenesis of Pepper Plants under Red Light-Emitting Diodes with Supplemental Blue or Far-Red Lighting." *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 120(5):808-13.
- Bula, R. J., Morrow, R. C., Tibbitts, T. W., Barta, D. J., Ignatius, R. W., and Martin, T. S. 1991. "Light-Emitting Diodes as a Radiation Source for Plants." *HortScience* 26(2):203-5.
- Butler, W. L., K. H. Norris, H. W. Siegelman, and S. B. Hendricks. 1959. "Detection, Assay, and Preliminary Purification of the Pigment Controlling Photoresponsive Development of Plants." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 45(12):1703-8.
- Chang, Chung Liang and Kuang Pi Chang. 2014. "The Growth Response of Leaf Lettuce at Different Stages to Multiple Wavelength-Band Light-Emitting Diode Lighting." *Scientia Horticulturae* 179:78-84.
- Chazdon, Robin L. and R. W. Pearcy. 1986. "Photosynthetic Responses To Light Variation in Rain-Forest Species .2. Carbon Gain and Photosynthetic Efficiency During Lightflecks." *Oecologia* 69(4):524-31.

- Christie, John M. 2007. "Phototropin Blue-Light Receptors." *Annu. Rev. Plant Biol.* 58:21–45.
- Cope, Kevin R. and Bruce Bugbee. 2013. "Spectral Effects of Three Types of White Light-Emitting Diodes on Plant Growth and Development: Absolute versus Relative Amounts of Blue Light." *HortScience* 48(4):504–9.
- Dodd, A. N. 2005. "Plant Circadian Clocks Increase Photosynthesis, Growth, Survival, and Competitive Advantage." *Science* 309(5734):630–33.
- Eigenbrod, Christine and Nazim Gruda. 2015. "Urban Vegetable for Food Security in Cities. A Review." *Agronomy for Sustainable Development* 35(2):483–98.
- Emerson, Robert and William Arnold. 1932. "A Separation of the Reactions in Photosynthesis by Means of Intermittent Light." *Journal of Chemical Information and Modeling* 53(9):1689–99.
- Fan, Xiao-Xue, Xu, Zhi-Gang, Liu, Xiao-Ying, Tang, Can-Ming, Wang, Li-Wen, and Han, Xue-lin. 2013. "Effects of Light Intensity on the Growth and Leaf Development of Young Tomato Plants Grown under a Combination of Red and Blue Light." *Scientia Horticulturae* 153:50–55.
- Farquhar, G. D., S. von Caemmerer, and J. A. Berry. 1980. "A Biochemical Model of Photosynthetic CO<sub>2</sub> Assimilation in Leaves of C<sub>3</sub> Species." *Planta* 149(1):78–90.
- Franklin, Keara A. and Peter H. Quail. 2010. "Phytochrome Functions in Arabidopsis Development." *Journal of Experimental Botany* 61(1):11–24.
- Gaba, Victor, Michael Black, and Terry H. Attridge. 1985. "Photocontrol of Hypocotyl Elongation in De-Etiolated *Cucumis Sativus* L. 1." *Plant physiology* 74(4):897–900.

- Genty, Bernard, Jean-Marie Briantais, and Neil R. Baker. 1989. "The Relationship between the Quantum Yield of Photosynthetic Electron Transport and Quenching of Chlorophyll Fluorescence." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 990(1):87–92.
- Gross, L. J., M. U. F. Kirschbaum, and R. W. Pearcy. 1991. "A Dynamic Model of Photosynthesis in Varying Light Taking Account of Stomatal Conductance, C<sub>3</sub>-Cycle Intermediates, Photorespiration and Rubisco Activation." *Plant, Cell and Environment* 14:881–93.
- H. H. Klueter, W. A. Bailey, G. L. Zachariah, and R. M. Peart. 1980. "Photosynthesis in Cucumbers with Pulsed or Continuous Light." *Transactions of the ASAE* 23(2):0437–42.
- Hanyu, H. and K. Shoji. 2002. "Acceleration of Growth in Spinach by Short-Term Exposure to Red and Blue Light at the Beginning and at the End of the Daily Dark Period." *Acta Horticulturae* 580:145–50.
- Hartmann, K. M. 1966. "A General Hypothesis to Interpret 'high Energy Phenomena' of Photomorphogenesis on the Basis of Phytochrome." *Photochemistry and photobiology* 5:349–65.
- Hernández, R. and C. Kubota. 2016. "Physiological Responses of Cucumber Seedlings under Different Blue and Red Photon Flux Ratios Using LEDs." *Environmental and Experimental Botany* 121:66–74.
- Hoenecke, M. E., R. J. Bula, and T. W. Tibbitts. 1992. "Importance of 'Blue' Photon Levels for Lettuce Seedlings Grown under Red-Light-Emitting Diodes." *HortScience* 27(5):427–30.
- Hogewoning, Sander W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., van Ieperen, W., and Harbinson, J. 2010. "Blue Light Dose-Responses of Leaf Photosynthesis,

- Morphology, and Chemical Composition of Cucumis Sativus Grown under Different Combinations of Red and Blue Light.” *Journal of experimental botany* 61(11):3107–17.
- Iino, M., T. Ogawa, and E. Zeiger. 1985. “Kinetic Properties of the Blue-Light Response of Stomata.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82(23):8019–23.
- Inoue, SI, T. Kinoshita, A. Takemiya, M. Doi, and KI Shimazaki. 2008. “Leaf Positioning of Arabidopsis in Response to Blue Light.” *Molecular Plant* 1(1):15–26.
- Jishi, T., K. Fujiwara, K. Nishino, and A. Yano. 2012. “Pulsed Light at Lower Duty Ratios with Lower Frequencies Is Less Advantageous than Continuous Light for CO<sub>2</sub> Uptake in Cos Lettuce.” *Journal of Light and Visual Environment* 36(3):88–93.
- Jishi, T., K. Kimura, R. Matsuda, and K. Fujiwara. 2016. “Effects of Temporally Shifted Irradiation of Blue and Red LED Light on Cos Lettuce Growth and Morphology.” *Scientia Horticulturae* 198:227–32.
- Jishi, T., R. Matsuda, and K. Fujiwara. 2015. “A Kinetic Model for Estimating Net Photosynthetic Rates of Cos Lettuce Leaves under Pulsed Light.” *Photosynthesis Research* 124(1):107–16.
- Johkan, M., K. Shoji, F. Goto, S. Hahida, and T. Yoshihara. 2012. “Effect of Green Light Wavelength and Intensity on Photomorphogenesis and Photosynthesis in Lactuca Sativa.” *Environmental and Experimental Botany* 75:128–33.
- Johns, H. E. 1969. “[8] Photochemical Reactions in Nucleic Acids.” Pp. 253–316 in *Methods in Enzymology*, vol. 16.

- Kanechi, M., A. Maekawa, Y. Nishida, and E. Miyashita. 2016. "Effects of Pulsed Lighting Based Light-Emitting Diodes on the Growth and Photosynthesis of Lettuce Leaves." *Acta Horticulturae* (1134):207–14.
- Kang, Xiaojun and Min Ni. 2006. "Arabidopsis SHORT HYPOCOTYL UNDER BLUE1 Contains SPX and EXS Domains and Acts in Cryptochrome Signaling." *The Plant cell* 18(April):921–34.
- Kim, Hyeon Hye, Gregory D. Goins, Raymond M. Wheeler, and John C. Sager. 2004. "Green-Light Supplementation for Enhanced Lettuce Growth under Red-and Blue-Light-Emitting Diodes." *HortScience* 39(7):1617–22.
- Kirschbaum, M. U. F., M. Küppers, H. Schneider, C. Giersch, and S. Noe. 1998. "Modelling Photosynthesis in Fluctuating Light with Inclusion of Stomatal Conductance, Biochemical Activation and Pools of Key Photosynthetic Intermediates." *Planta* 204(1):16–26.
- Kirschbaum, MUF and RW Pearcy. 1988. "Concurrent Measurements of Oxygen-and Carbon-Dioxide Exchange during Lightflecks in *Alocasia Macrorrhiza* (L.) G. Don." *Planta* 527–33.
- Kitaya, Yoshiaki, Genhua Niu, Toyoki Kozai, and Maki Ohashi. 1998. "Photosynthetic Photon Flux, Photoperiod, and CO<sub>2</sub> Concentration Affect Growth and Morphology of Lettuce Plug Transplants." *HortScience* 33(6):988–91.
- Kok, Bessel. 1956. "Photosynthesis in Flashing Light." *Biochimica et Biophysica Acta* 21(2):245–58.
- Kozuka, T., Horiguchi, G., Kim G. T., Ohgishi, M., Sakai, T., and Tsukaya, H. 2005. "The Different Growth Responses of the *Arabidopsis Thaliana* Leaf Blade and

- the Petiole during Shade Avoidance Are Regulated by Photoreceptors and Sugar.” *Plant and Cell Physiology* 46(1):213–23.
- Krames, M. R., Shchekin, O. B., Mueller-Mach, R., Mueller, G. O., Zhou, L., Harbers, G., and Craford, M. G. 2007. “Status and Future of High-Power Light-Emitting Diodes for Solid-State Lighting.” *IEEE/OSA Journal of Display Technology* 3(2):160–75.
- Más, P., P. F. Devlin, S. Panda, and S. a Kay. 2000. “Functional Interaction of Phytochrome B and Cryptochrome 2.” *Nature* 408(6809):207–11.
- Massa, Gioia D., Hyeon Hye Kim, Raymond M. Wheeler, and Cary a. Mitchell. 2008. “Plant Productivity in Response to LED Lighting.” *HortScience* 43(7):1951–56.
- Matsuda, Ryo, Keiko Ohashi-Kaneko, Kazuhiro Fujiwara, Eiji Goto, and Kenji Kurata. 2004. “Photosynthetic Characteristics of Rice Leaves Grown under Red Light with or without Supplemental Blue Light.” *Plant & cell physiology* 45(12):1870–74.
- Matsuda, Ryo, Nahoko Ozawa, and Kazuhiro Fujiwara. 2014. “Leaf Photosynthesis, Plant Growth, and Carbohydrate Accumulation of Tomato under Different Photoperiods and Diurnal Temperature Differences.” *Scientia Horticulturae* 170:150–58.
- McCree, K. J. 1972. “Test of Current Definitions of Photosynthetically Active Radiation against Leaf Photosynthesis Data.” *Agricultural Meteorology* 10(C):443–53.
- McCree, K. J. 1972. “The Action Spectrum, Absorptance and Quantum Yield of Photosynthesis in Crop Plants.” *Agricultural Meteorology* 9(C):191–216.

- 森 康裕・高辻 正基・安岡 高志, 2002. 白色 LED パルス光がサラダナ生育に及ぼす影響 Technol. Journal of Society of High Technoloty in Agriculture, 14(3), p.136–140.
- Nanya, K., Y. Ishigami, S. Hikosaka, and E. Goto. 2012. “Effects of Blue and Red Light on Stem Elongation and Flowering of Tomato Seedlings.” *Acta Horticulturae* 956:261–66.
- Nedbal, Ladislav, Vladimír Tichý, Fusheng Xiong, and Johan U. Grobbelaar. 1996. “Microscopic Green Algae and Cyanobacteria in High-Frequency Intermittent Light.” *Journal of Applied Phycology* 8:325–33.
- Ögren, E. and J. R. Evans. 1993. “Photosynthetic Light-Response Curves - I. The Influence of CO<sub>2</sub> Partial Pressure and Leaf Inversion.” *Planta* 189:182–90.
- Ohashi-Kaneko, Keiko, Masahide Takase, and Kenji Kurata. 2010. “Low-Light Irradiation at the Beginning or the End of the Daily Dark Period Accelerates Leaf Expansion and Growth in *Spinacia Oleracea* L.” *Environment control in biology* 48(4):161–73.
- Oxborough, Kevin and Neil R. Baker. 1997. “Resolving Chlorophyll a Fluorescence Images of Photosynthetic Efficiency into Photochemical and Non-Photochemical Components - Calculation of qP and Fv’/Fm’ without Measuring Fo’.” *Photosynthesis Research* 54(2):135–42.
- Rabinowitch, Eugene I. 1951. “Photosynthesis.” *Soil Science* 2.
- Raguse, C. A. and D. Smith. 1965. “Carbohydrate Content in Alfalfa Herbage as Influenced by Methods of Drying.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 306:306–9.
- Rascher, Uwe and Ladislav Nedbal. 2006. “Dynamics of Photosynthesis in Fluctuating Light.” *Current Opinion in Plant Biology* 9(6):671–78.

- Sage, R. F., T. D. Sharkey, and J. R. Seemann. 1990. "Regulation of Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase Activity in Response to Light Intensity and CO<sub>2</sub> in the C(3) Annuals *Chenopodium Album* L. and *Phaseolus Vulgaris* L." *Plant physiology* 94(4):1735–42.
- Sager, J. C., W. O. Smith, J. L. Edwards, and K. L. Cyr. 1988. "Photosynthetic Efficiency and Phytochrome Photoequilibria Determination Using Spectral Data." *Transactions of the ASAE* 31:1882–89.
- Sager, John C. and Walter Giger. 1980. "Re-Evaluation of Published Data on the Relative Photosynthetic Efficiency of Intermittent and Continuous Light." *Agricultural Meteorology* 22(3-4):289–302.
- Sale, PJM and D. Vince. 1963. "Some Effects of Light on Leaf Growth in *Pisum Sativum* and *Tropaeolum Majus*." *Photochemistry and Photobiology* 2(12):401–5.
- Schreiber, U., U. Schliwa, and W. Bilger. 1986. "Continuous Recording of Photochemical and Non-Photochemical Chlorophyll Fluorescence Quenching with a New Type of Modulation Fluorometer." *Photosynthesis Research* 10(1-2):51–62.
- Sharkey, T. D., J. R. Seemann, and R. W. Pearcy. 1986. "Contribution of Metabolites of Photosynthesis to Postillumination CO<sub>2</sub> Assimilation in Response to Lightfleets." *Plant physiology* 82(4):1063–68.
- Smith, H. and G. C. Whitelam. 1997. "The Shade Avoidance Syndrome: Multiple Responses Mediated by Multiple Phytochromes." *Plant Cell and Environment* 20(6):840–44.

- Somers, D. E., P. F. Devlin, and S. a Kay. 1998. "Phytochromes and Cryptochromes in the Entrainment of the Arabidopsis Circadian Clock." *Science (New York, N.Y.)* 282(5393):1488–90.
- 成日慶・高野泰吉, 1995. 日の出前の青色光 と赤色光補光がキュウリ苗の生育と生理反応に及ぼす影響. *Environmental control in Biology*, 35(4), pp.261–265.
- Spalding, Edgar P. and Daniel J. Cosgrove. 1989. "Blue-Light-Induced Growth Inhibition in Cucumber." *Planta* 178:407–10.
- 庄子和博・守谷栄樹・後藤文之, 2013. 電気事業における植物工場への支援方法に関する調査研究. 電力中央研究所報告, V13002.
- Tenessen, Daniel J., Raymond J. Bula, and Thomas D. Sharkey. 1995. "Efficiency of Photosynthesis in Continuous and Pulsed Light Emitting Diode Irradiation." *Photosynthesis Research* 44(3):261–69.
- Vince-Prue, D. 1977. "Photocontrol of Stem Elongation in Light-Grown Plants of Fuchsia Hybrida." *Planta* 133(2):149–56.
- Weller, S. and J. Franck. 1941. "Photosynthesis in Flashing Light." *The Journal of Physical Chemistry* 45(9):1359–73.
- Whitelam, GC and CB Johnson. 1982. "Photomorphogenesis in Impatiens Parviflora and Other Plant Species under Simulated Natural Canopy Radiation." *New phytologist* 90:611–18.
- Xiaoying, Liu, Guo Shirong, Chang Taotao, Xu Zhigang, and Takafumi Tezuka. 2012. "Regulation of the Growth and Photosynthesis of Cherry Tomato Seedlings by Different Light Irradiations of Light Emitting Diodes (LED)." *African Journal of Biotechnology* 11(22):6169–77.

Yorio, N. C., G. D. Goins, H. R. Kagie, R. M. Wheeler, and J. C. Sager. 2001. "Improving Spinach, Radish, and Lettuce Growth under Red Light-Emitting Diodes (LEDs) with Blue Light Supplementation." *HortScience* 36(2):380–83.

Yoshimoto, Naohiro, Toru Sato, and Yutaka Kondo. 2005. "Dynamic Discrete Model of Flashing Light Effect in Photosynthesis of Microalgae." *Journal of Applied Phycology* 17(3):207–14.

## 謝辞

本研究を遂行するにあたって、多くの方々にご指導、ご教示、ご支援、ご協力を賜った。

指導教員の東京大学大学院農学生命科学研究科教授富士原和宏先生（生物環境工学研究室）には、技術的なことのみでなく、研究者として研究テーマを発見し、それを解決し発表するに至るプロセスについてまで多大なるご指導を賜り、厚く御礼申し上げます。同研究科教授大下誠一先生（生物プロセス工学研究室）、同研究科准教授細井文樹先生（生物環境情報工学研究室）、同研究科准教授海津裕先生（生物機械工学研究室）ならびに同研究科准教授松田怜先生（生物環境工学研究室）には、本論文の審査をお引き受け頂くとともに、多くの有益なご教示、ご助言を頂戴し、深く感謝する。特に、松田先生には本研究遂行の全期間にわたって研究の方向性等について多くのご教示を頂き、厚く御礼申し上げます。

本研究第3章の内容は、平成27年度一般社団法人照明学会研究・教育助成を受けて行った。心より感謝の意を表す。

筆者の在籍した生物環境工学研究室の研究員、学生諸兄姉には、研究遂行に際し多大なるご協力、ご助言を頂いた。同研究室秘書吉井友子氏には、筆者が研究に専念できるよう暖かいご支援、ご配慮をいただき、心より感謝申し上げます。

平成29年3月

地子 智浩