

原著論文

バラ同化専用枝葉の光合成能力の発達と維持に関する研究†

牛尾亜由子

(平成 20 年 7 月 4 日受理)

Studies on Development and Maintenance of Photosynthetic Capacity
in Leaves of Assimilation Shoots in Rose

Ayuko USHIO

Summary

Roses are widely cultivated in greenhouses. In rose cultivation, the basal shoots emerging in the early stage of growth are artificially bent down as assimilation shoots to effectively catch sunlight, and then the shoots that emerge successively are cut and used for rose products. This “shoot-bending” (or “arching”) cultivation technique leads to a higher yield and high quality of the flowering shoot. This study investigated: I) the growth of photosynthetic organs in assimilation shoots, and II) development and senescence of photosynthetic capacity in assimilation shoots. To form assimilation shoots having higher photosynthetic capacity, low temperature (LT) is better than high temperature (HT). The optimum temperature for photosynthesis was approximately 20°C for LT grown leaf, and approximately 30°C for HT grown leaf. Decrease in photosynthetic rate with senescence of leaves was closely related with Rubisco content and nitrogen content, but less related with chlorophyll content. After leaf expansion, leaf nitrogen content greatly decreased in HT, and it was suggested that the photosynthetic rate greatly decreases if the temperature of bent assimilation shoots is high. The number of days necessary for flowering and the quality of cut rose depended on the temperature during growth. However, it is shown that fewer days are necessary for flowering and the quality of cut rose is better for assimilation shoots grown in LT than in HT.

Key Words: Photosynthesis, rose, Rubisco, temperature, arching

† 東北大学博士論文
本論文の一部は *Soil Science & Plant Nutrition* 54(2) 253-258 (2008) において発表した。

略語一覧

緒言

<i>Cc</i>	chloroplasic CO ₂ partial pressure, 葉緑体内 CO ₂ 分圧
<i>Ci</i>	intercellular partial pressure of CO ₂ , 葉内 CO ₂ 分圧
CGR	crop growth rate, 群落生長率
Chl	chlorophyll, クロロフィル
<i>Fv/Fm</i>	maximal quantum efficiency of PSII, PSII 最大量子収率
<i>gw</i>	wall conductance, CO ₂ の拡散伝導率
<i>Ja</i>	rate of alternative electron flow, オルターナティブな電子伝達速度
<i>Jf</i>	rate of electron flow calculated from Chl fluorescence, クロロフィル蛍光より算出した電子伝達速度
<i>Jg</i>	rate of electron flow calculated from gas exchange, ガス交換より算出した電子伝達速度
LAI	leaf area index, 葉面積指数
LAR	leaf area ratio, 葉面積比
LDS	lithium dodecylsulfate, ドデシル酸リチウム
LWR	leaf weight ratio, 葉重比
NAR	net assimilation rate, 純同化率
NPQ	non-photochemical quenching, 非光化学系エネルギー消去
<i>Rd</i>	dark respiration, 暗呼吸速度
RGR	relative growth rate, 相対生長率
Rubisco	ribulose-1,5-bisphosphate carboxyase/oxygenase
SDS	sodium dodecylsulfate, ドデシル硫酸ナトリウム
SDS-PAGE	sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis, ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動
SLA	specific leaf area, 比葉面積
<i>Sr</i>	Rubisco の specificity factor (<i>VcKo/VoKc</i>) 比特異係数
Δ pH	pH gradient across the thylakoid membrane, チラコイド膜を介した pH 勾配
Φ PSI	quantum efficiency of PSI, PSI 量子収率
Φ PSII	quantum efficiency of PSII, PSII 量子収率

代表的な施設栽培作物であるバラは切りバラとして周年生産が行われ、年間を通して連続的に収穫される。切りバラ栽培では枝を人為的に折り曲げて同化専用枝とし、太陽光に対して水平方向に一定の葉面積を確保するアーチング仕立てが、ロックウール栽培を中心に普及している (Okawa and Suematsu 1999)。同化専用枝の葉は周年維持され、新たな採花枝を生産するエネルギーを供給するソースとなる。同化専用枝葉群の光合成生産物を利用して株元から発生する芽が生長して採花枝となり、これが株元から切りとられ、切りバラとして出荷される。この一連の採花サイクルが周年繰り返される。したがって同化専用枝の光合成生産は切りバラの品質や生産性に影響を与えると考えられる。

このようにアーチング仕立てでは同化専用枝葉群の光合成生産で得られるエネルギーを採花枝の生産に利用する栽培方法といえる。

採花枝の生産に相当する、同化専用枝葉群のバイオマス生産速度 CGR は、LAI と NAR の積で表すことができる。LAI は単位土地あたりの葉面積、NAR は純同化率であり、単位葉面積あたりのみかけの光合成速度を示す指標である (Lambers and Poorter 1992, 佐伯 1965)。CGR を増加させるためには LAI を高くする方法と NAR を高くする方法がある。しかし LAI には種または栽培条件固有の最適値があり、一定以上に高めても生産性を上げることはできない。バラアーチング栽培における LAI 最適値は3程度であることが報告されている (Shimomura ら 2003)。

このように LAI を上げるだけでは生産性に限界があることから、さらなる生産性の向上を目指すには NAR を上げる必要がある。同化専用枝葉群の NAR を高めるためには、光合成能力の高い同化専用枝葉を形成させ、この葉の光合成機能を高く維持することが望まれる。

同化専用枝管理の大まかな流れは、次の3つのステップから成る。まず同化専用枝形成過程、つぎに同化専用枝維持管理過程、3番目に同化専用枝更新過程である。同化専用枝形成過程は同化専用枝仕立て時期であり、挿し木苗を定植し、初期発生枝を葉面積を確保できるまで生育させてから折り曲げるまでの過程である。次の同化専用枝維持管理過程は、連続採花期と一致する。この過程では形成された同化専用枝を維持し、その光合成生産によって株元から発生する採花枝を連続的に切りバラと

して収穫する。最後の同化専用枝更新過程では、老化して光合成能力の低下した同化専用枝を新しい同化専用枝に更新する過程である。連続採花期の間、同化専用枝葉は徐々に老化してくると考えられる。その際には株元から発生した枝を採花せずに葉面積を確保し、折り曲げて次の同化専用枝として利用する。

このような一連の同化専用枝管理において、高い NAR を維持するためには、

1. 高い光合成能力を持つ同化専用枝葉群をつくる
2. 光合成特性にもとづき光合成能力を最大限活用した栽培管理を行う
3. 葉の老化によって同化専用枝の光合成が低下した場合にはすみやかに新しい同化専用枝へ更新することが必要であると考えられる。

そこで本研究では高生産を可能にする同化専用枝葉群の最適栽培管理法を開発するために、第 I 章では同化専用枝の生長および光合成機能の形成、第 II 章では同化専用枝葉の光合成機能の維持、に関する研究を行った。第 I 章、第 II 章において栽培の温度環境が与える影響について明らかにするとともに、第 II 章において老化に伴うバラ葉の光合成能力の変化を明らかにすることを目的とした。さらに、同化専用枝葉群の NAR を高めること、すなわち光合成能力を高めることが実際の生産性に寄与するかどうか、第 III 章では同化専用枝光合成能力の違いが切りバラ生産に与える影響の解析を行い、議論した。

第 I 章 同化専用枝葉の生長および光合成機能の形成

第 1 節 栽培温度が同化専用枝葉の光合成および生長に与える影響の解析

1. 背景および目的

切りバラ栽培、特にロックウール栽培において、枝を水平に折り曲げ、その葉を光合成のソースとして維持する栽培方法が一般的である。生育初期に株元から発生する枝を人為的に折り曲げ、太陽光を受けやすくする。その後株元から発生した枝は、切りバラとして年間を通して株元から切り取られる。このシュート折り曲げ栽培方式は、アーチング仕立てと呼ばれ、高収量でかつ高品質の切りバラを得る方法として素晴らしい成功を収めている (Okawa and Suematsu 1999)。これは、折り曲げた枝

の葉群 (同化専用枝葉群) の光合成生産によって、切りバラとなる採花枝に多量の炭水化物が供給されるためである。このようにこれらの葉の光合成能力は持続的な切りバラ生産に重要な役割を持つ。

同化専用枝を用いて高い生産性を得るために、いくつかのアプローチが考えられる。一つは葉面積指数 LAI を最適にするアプローチであり、もうひとつは光合成能力を高めるアプローチ、すなわち折り曲げ前の同化専用枝の光合成能力を高め、折り曲げ後に高い光合成能力を維持するというアプローチである。たとえば、アーチング仕立てによる最適 LAI は 3 程度とされている (Shimomura ら 2003)。しかし、折り曲げ前の同化専用枝の光合成能力をいかにして高めることができるか、またその高い光合成能力をいかにして折り曲げ後も維持することができるかということはわかっていない。光合成能力の形成や生長速度に影響を与える因子としては、養分と温度制御があげられる。ここで、バラロックウール栽培において、通常、養分は十分に与えるため、生育や光合成能力を制限する因子にならない。

一方、施設内の温度環境は年間を通して変化する。温度コントロールした栽培の場合でも、日本では施設内の夏と冬の平均昼温は、およそ 10°C 異なる。このように、温室内において温度は年間変動量の大きい気象因子であるにもかかわらず、温度がバラ同化専用枝の個葉光合成能力の形成や生育に与える影響は明らかにされていない。

そこで本研究では、折り曲げ前の同化専用枝形成過程において栽培温度が個葉レベルでの光合成能力の形成に与える影響を調べた。実験期間中、最上位の若い完全展開葉を用いてすべての測定を行った。バラは一般的に昼 20–30°C、夜 18–20°C 程度の温度域で栽培される (Beeson 1990, Bredmose 1998, Gonzalez-Real and Bailie 2000, Jiao and Grodzinski 1998, Kim and Lieth 2003, Kool ら 1996)。本研究では温度による差異を明確にするため、昼 20°C/夜 15°C、昼 30°C/夜 25°C の 2 つの温度処理区を設定し、折り曲げ前までの同化専用枝形成期間の栽培を行った。さらに異なる温度下における同化専用枝の生育速度の違いについて解析した。

2. 方 法

1) 栽培

バラ ローテローゼ (*Rosa hybrida* L. cv. Asami Red (Rote rose)) を用いた。5枚葉の一枚および5-6 cmの新規発生枝のついたロックウール挿し木苗(ロックウールキューブ5 cm × 5 cm × 5 cm)を、ロックウールマット(30 cm × 20 cm 幅 × 7.5 cm 高)に3個体ずつ定植した。2つのロックウールマットをプラスチックコンテナに置き、定期的に培養液を与えて栽培した。栽培は、茨城県つくば市の花き研究所のガラス温室で行った。0.3 mM KH₂PO₄, 0.5 mM MgSO₄, 1 mM CaCl₂, 1 mM KCl, 0.5 mM NH₄NO₃, 1 mM KNO₃, 50 μM Fe-EDTA, 50 μM H₃BO₃, 9 μM MnSO₄, 0.3 μM CuSO₄, 0.8 μM ZnSO₄, 0.1 μM Na₂MoO₄を含む培養液をコンテナあたり2 L与え、定植後0-2週間は週1回、定植後2-4週間は週2回新しい培養液と交換した。交換する新規養液のpHはHClで5.3に調整した。定植1ヶ月後、植物の地上部は全長25 cm程度となり、5-8枚の五枚葉が展開していた。ここで植物を自然光型ファイトトロンに移動し、温度処理を開始した。温度処理区は昼20°C/夜15°C, 昼30°C/夜25°Cの2区とした(以下、それぞれ「LT」および「HT」という)。0.3 mM KH₂PO₄, 0.5 mM MgSO₄, 1 mM Ca(NO₃)₂, 2 mM NH₄NO₃, 2 mM KNO₃, 50 μM Fe-EDTA, 50 μM H₃BO₃, 9 μM MnSO₄, 0.3 μM CuSO₄, 0.8 μM ZnSO₄および0.1 μM Na₂MoO₄を含む養液をコンテナあたり5 L与え、週2回新しい養液と交換した。交換する新規養液のpHはHClで5.3に調整した。温度処理開始後42日栽培を行い、この間に発生したつぼみは小豆大ですべて摘除した。

2) 生長解析

温度処理開始0日から42日までの期間、2週間おきに植物をサンプリングした。葉面積測定後、葉と茎に分けて、80°Cの通風乾燥機で3日間乾燥させた。ロックウールキューブおよびロックウールマットは通風乾燥機で7日間以上乾燥させ、根のみを分別し、慎重にピンセットで取り出した。葉、茎、根のそれぞれの乾物重を測定した。1つのロックウールマットから得られた根の乾物重をマットあたりの植物個体数で割った値を根の乾物重とした。

相対成長速度 RGR, 純同化率 NAR, 葉面積比 LAR,

比葉面積 SLA, 葉重比 LWR を乾物重と葉面積から算出した。

RGR 乾物重の相対的増加率

$$RGR = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)$$

W: 乾物重 t: 時間

NAR おおよそみかけの光合成速度を示す。

$$NAR = \{(W_2 - W_1) \times (\ln W_2 - \ln W_1)\} / \{(t_2 - t_1) \times (L_2 - L_1)\}$$

L: 葉面積

LAR 植物個体の乾物重に対する葉面の広がり程度を表したもの

$$LAR = (L_1 / W_1 + L_2 / W_2) / 2$$

SLA 単位葉乾物重あたりの葉面積。逆数は葉の厚さの指標。

$$SLA = L / Lw$$

Lw: 葉乾物重

LWR 全乾物重に占める葉乾物重の割合

$$LWR = Lw / W$$

3) Chl, Rubisco, 全窒素の定量

最上位の若い展開葉を温度処理開始後0, 14, 42日にサンプリングし、-80°Cで保存した。凍結保存サンプルを分析に用いた。Chlおよび窒素含量の定量は、磨砕バッファーとして0.8%(v/v)2-メルカプトエタノール, 4 mM ヨード酢酸, 20%(v/v)グリセロールを含む100 mM ナトリウム-リン酸バッファー(pH 7.5)を用いる以外はMakino and Osmond (1991)に従った。凍結保存したサンプルを磨砕し、その磨砕液の一部からキエルダール分解後ネスラー法により葉の窒素を比色定量し、Chlをアセトンで抽出後Aron (1949)の方法によりChl量を定量した。Rubisco定量はMakino and Osmond (1991)の方法を一部改変して行った。凍結サンプルを液体窒素でパウダー状につぶし、石英砂とともに0.8%(v/v)2-メルカプトエタノール, 4 mM ヨード酢酸, 20%(v/v)グリセロールおよび2%(w/v)ポリビニルピロリドンを含む100 mM ナトリウム-リン酸バッファー(pH 7.5)で磨砕した。磨砕液の一部をとり、終濃度4%(w/v)となるようLDS, 終濃度2%(v/v)となるよう2-メルカプトエタノールを加え100°Cで90秒処理し、LDS化した。LDS化した後にSDS-PAGEを行うことによってRubisco定量を行った。標準タンパクは、イネ(ノトヒカリ)(*Oryza sativa* L. cv. Notohikari)を用いた。

4) ガス交換測定

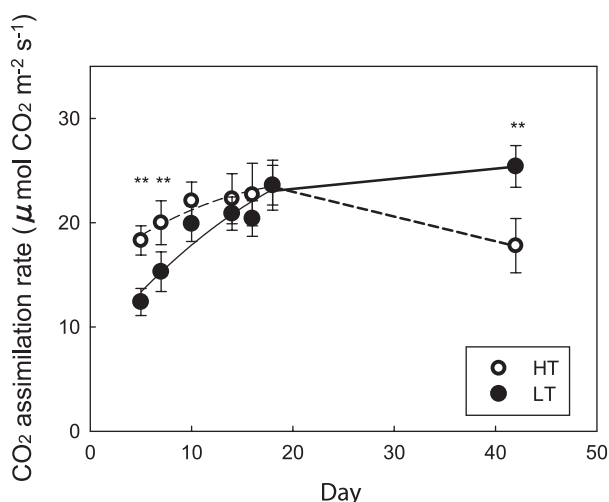
測定時間は、9時から12時の間とした。ポータブルガス交換光合成測定装置 (LI-6400, Li-Cor, Lincoln, NE, USA) により、LI-6400-40 チャンバーを用いてガス交換測定を行った。光強度は光飽和条件である $1000 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (10% 青色 LED を含む赤色 LED 光源) とし、二酸化炭素分圧 37 Pa で、ほぼ一定の飽差 (1.0-1.2 kPa) の下、LT の植物は葉温 20°C 、HT の植物は葉温 30°C でそれぞれ測定を行った。栽培を行っている自然光型ファイトトロン内において測定した。葉の老化の影響を排除し、光合成能力形成に対する環境応答を明らかにするため、異なる若い葉を用いて経時的に測定を行った。温度処理開始から 0-10 日までは葉裏に赤みが残る若い展開葉を、それ以降は若い最上位完全展開葉を測定に用いた。さらに、同一条件下での光合成速度を比較するため、温度処理開始後 14 日と 42 日の LT, HT の植物をロックウールマットごと実験室内の人工気象器内に移し、葉温 25°C で光合成速度を同様に測定した。

3. 結果

1) 葉の光合成速度、窒素含量、Rubisco含量

LT および HT、それぞれの生育温度下における光合成速度の変化を第 1 図に示した。温度処理開始後 7 日目では、HT の光合成速度が LT より高かったが、10 日から 18 日の期間には有意な差は見られなくなった。さらに 42 日には LT が HT を大きく上回った。第 1 表に LT, HT とともに同一葉温 25°C で測定した光合成速度を示した。 25°C での光合成速度は 14 日において LT でわずかに高い傾向が認められたが、その差は拡大し、42 日には LT が HT を大きく上回った。気孔コンダクタンスについても

光合成速度と同様の傾向を示した。14 日には葉内二酸化炭素分圧は両区で差はなかったが、42 日には HT で高くなった。第 2 表に葉の全窒素、Chl, Rubisco 含量を示した。窒素含量と Rubisco 含量は 14 日にはわずかに LT で高い傾向が見られた。42 日には、窒素、Chl, Rubisco 含量すべてが LT で顕著に高くなった。Rubisco 含量は LT で HT の 2.8 倍高かった。LT では温度処理開始後、これらの光合成関連成分が一貫して増加したが、HT では 14 日以後減少した。



第 1 図 異なる温度下で栽培した葉のそれぞれの生育温度下における光合成速度の変化。

横軸は温度処理開始後の日数を示す。●は LT 葉の平均を、○は HT 葉の平均を示す。バーは標準偏差を示す。光合成測定は光強度 $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (10% blue LEDs in red LEDs), 飽差 1.0-1.2 kPa, 大気二酸化炭素分圧 37 Pa でそれぞれ生育昼温と同じ葉温で行った。**は t 検定により 1% 水準の有意差があることを示す。

第 1 表 異なる温度下で生育した最上位展開葉における葉温 25°C での光合成速度、気孔コンダクタンス、葉内 CO_2 分圧

Day	Phoyosynthesis ($\text{CO}_2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Stomatal conductance ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Intercellular CO_2 (Pa)
14	30/ 25°C 18.3 ± 1.4 *	0.35 ± 0.06	27.3 ± 1.4
	20/ 15°C 20.3 ± 2.1	0.37 ± 0.05	26.7 ± 1.4
42	30/ 25°C 15.5 ± 1.7 **	0.24 ± 0.03 **	24.6 ± 1.5 **
	20/ 15°C 24.8 ± 1.3	0.30 ± 0.03	22.1 ± 1.3

データは平均±標準偏差で表されている (n=5-14)。

* と ** はそれぞれ検定により 5% 水準または 1% 水準の有意差があることを示す。

温度処理開始後 0, 14, 42 日目にサンプリングを行った。

第2表 異なる温度下で生育した最上位展開葉における全窒素, ChlおよびRubisco含量

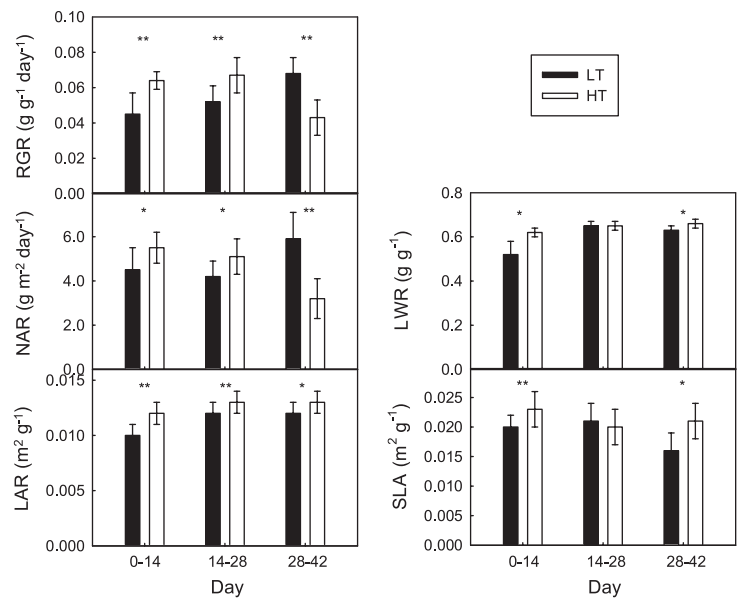
Day		Total N (mmol m ⁻²)	Chl (mmol m ⁻²)	Rubisco(g m ⁻²)
0		112 ± 20	0.36 ± 0.04	1.8 ± 0.1
14	30/25°C	139 ± 7 *	0.65 ± 0.05	3.7 ± 0.1
	20/15°C	171 ± 10	0.68 ± 0.03	4.5 ± 0.6
42	30/25°C	104 ± 9 **	0.45 ± 0.01 **	2.0 ± 0.1 **
	20/15°C	187 ± 31	0.75 ± 0.11	5.5 ± 0.3

データは平均±標準偏差で表されている (n=3-4).

*と**はそれぞれ検定により5%または1%の有意差があることを示す。
温度処理開始後0, 14, 42日目にサンプリングを行った。

2) 植物生長解析

第3表に個体乾物重, 器官別乾物重および葉面積を示した. HTの個体乾物重は0-28日まではLTより大きかったが, 42日には両区に明確な差がなかった. 葉面積は, 全期間を通じてHTのほうがLTに比べ大きかった. 根乾物重には明確な差は見られなかった. 個体レベルでの生長解析の結果を第2図に示した. RGRは処理開始直後から14日まではLTよりHTで高かったが, 14-28日にはその差が減少し, 28-42日には逆転してLTで高くなった. NARの変化はRGRとほぼ同じ傾向を示し, 28-42日にはLTの方がHTより高かった. LARは全期間を通してHTで高かった. LWRとSLAは14-28日には両区で明確な差がないが, 全般的にHTで高い傾向が認められた. このようにHTにおいて, LWRとSLAが高いことがLARを高めている要因であった.



第2図 温度処理開始後のRGR, NAR, LAR, LWRおよびSLAの推移

温度処理開始後14日ごとに生長解析を行いこれらのパラメーターを算出した. 黒はLTを, 白はHTを示す. バーは標準偏差を示す. *と**はそれぞれt検定により5%水準および1%水準の有意差があることを示す.

第3表 温度処理開始後日数と異なる温度下で生育したバラの個体乾物重, 器官別乾物重および葉面積の推移

Day	Total dry weight (g)	Leaf dry weight (g)	Stem dry weight (g)	Root dry weight (g)	Leaf area (m ² plant ⁻¹)
0	1.41 ± 0.16	0.53 ± 0.11	0.40 ± 0.08	0.48 ± 0.04	0.013 ± 0.003
14	HT 3.45 ± 0.24 **	HT 2.16 ± 0.18 **	HT 0.80 ± 0.12 **	HT 0.50 ± 0.10	HT 0.049 ± 0.009 **
	LT 2.68 ± 0.46	LT 1.42 ± 0.40	LT 0.61 ± 0.11	LT 0.65 ± 0.03	LT 0.029 ± 0.009
28	HT 8.71 ± 1.34 **	HT 5.68 ± 0.89 **	HT 2.13 ± 0.51 **	HT 0.91 ± 0.04	HT 0.112 ± 0.016 **
	LT 5.61 ± 0.69	LT 3.64 ± 0.54	LT 1.18 ± 0.18	LT 0.79 ± 0.08	LT 0.078 ± 0.018
42	HT 15.94 ± 2.26	HT 10.46 ± 1.63	HT 4.06 ± 0.73	HT 1.41 ± 0.15	HT 0.223 ± 0.033 **
	LT 14.56 ± 1.77	LT 9.11 ± 1.30	LT 3.71 ± 0.53	LT 1.74 ± 0.19	LT 0.144 ± 0.016

データは, 平均±標準偏差で表されている (第0日でn=17, 第14日から第28日の間でn=11-12, 第42日でn=5).

*と**はそれぞれ検定により5%または1%の有意差があることを示す.

4. 考 察

LT で形成された同化専用枝葉は、温度処理開始後 7 日までは光合成速度が抑制されたが、その後光合成能力が高められた (第 1 図, 第 1 表). これと似た傾向がいくつかの低温性植物, たとえばホウレンソウ (Holaday ら 1992), シロイヌナズナ (Strand ら 1999), 冬オオムギ (Hurry ら 1994), 冬コムギ (Hurry ら 1995) で報告されている. これらの植物では、5–10°C の低温栽培によっていくつかの光合成系酵素, 例えば Rubisco やフルクトース-1,6-ビスフォスファターゼ, スクロースリン酸合成酵素などの活性が上昇していた. Rubisco は、大気二酸化炭素分圧, 光飽和の下で光合成を律速する因子である (Evans 1986, Makino ら 1985). Yamori ら (2005) は低温下で生育したホウレンソウの Rubisco 含量が増大することを報告している. さらに, Sage and Kubien (2007) は、低温に馴化した植物は Rubisco 含量を高める応答を示す傾向があることを指摘している. 第 2 表に見られるように低温では葉の窒素含量が増加していることから、窒素の増加に伴って光合成成分が増加している可能性がある. 本試験では、生育温度下での光合成速度は温度処理開始直後には LT で低かった. 低温下で形成されたバラ葉の光合成能力の上昇と Rubisco 含量の増加は低温に対する馴化応答の一つと考えられる. イネのような亜熱帯作物は 20/17°C 程度の低温下で栽培すると葉の光合成速度は減少し、回復しない (Hirotzu ら 2004).

Makino ら (1994) は、低温で栽培した葉において気孔コンダクタンスが低下することを報告しているが、バラでは LT で形成された葉の気孔コンダクタンスが上昇した (第 1 表). これも、バラにおける長期的低温環境に対する馴化応答と考えられる. 温度処理開始直後から 28 日までは HT の RGR が高く、また LAR は全期間 HT で高かった (第 2 図). 葉面積も全期間を通して HT の方が大きかった (第 3 表). これらの結果から、同化専用枝として必要な葉面積を得るまでの栽培期間、すなわち最適 LAI に達するまでの栽培期間は HT のほうが短いことが示唆された. このように HT は葉の展開速度が速いことが温度処理開始後初期の高い成長速度につながっていると考えられる. しかし、葉面積あたりの光合成能力は LT で高まる傾向にあり、最終的な光合成能力は LT の方が高いことが明らかとなった. このことは同化専用枝を折り曲げ、同一の LAI として仕立

てた場合に、葉面積あたりの光合成能力の高い LT で形成された葉群を持つ同化専用枝の方が高い光合成生産力を持つことを示している.

パプリカ (Nilwik 1981) やライムギ (Huner 1985) において低温下で LAR や SLA の減少が報告されている. この植物では、低温で葉面積が狭く、厚い葉を形成する特性が観察されている. バラにおいても、LT でこれと同様な形態的特徴が観察された (第 2 図).

Loveys ら (2002) は植物種ごとに NAR の栽培温度に対する応答は異なり、これが異なる栽培温度下での RGR を決定していると報告している. バラでは LT で NAR が高まる応答が見られた (第 2 図). これが後半の RGR の増加につながっていると考えられる. LT における NAR の増加は、LAR の減少に対する個体レベルでの補償作用かもしれない. LT における NAR の増加は、葉面積あたりの Rubisco 含量の増加によると考えられる (第 2 表).

第 2 節 栽培温度が同化専用枝葉の個葉光合成特性に与える影響

1. 背景および目的

光合成適温は、栽培温度によって変化することが古くから報告されている (Berry and Bjorkman 1980, Badger ら 1982, Hikosaka ら 1999). バラ栽培において、施設内温度環境は年間を通して大きく変動することから、光合成適温もこれに応答して変動する可能性が考えられる. これまでバラの光合成適温は 20 – 30°C 程度とされ (Kim and Lieth 2003, Pasian and Lieth 1989, Lieth and Pasian 1990), 栽培時の温度環境の影響について調べた例はない. そこで、本研究では異なる温度条件下で形成されたバラの葉の光合成特性を明らかにすることを目的とした. これによって、形成された同化専用枝葉群の光合成を最大にする栽培管理法の確立に資することが期待される. また、切りバラ栽培では光合成促進をねらった二酸化炭素施肥が普及していることから、高二酸化炭素施肥下での光合成についても議論する.

2. 方法

1) 栽培方法

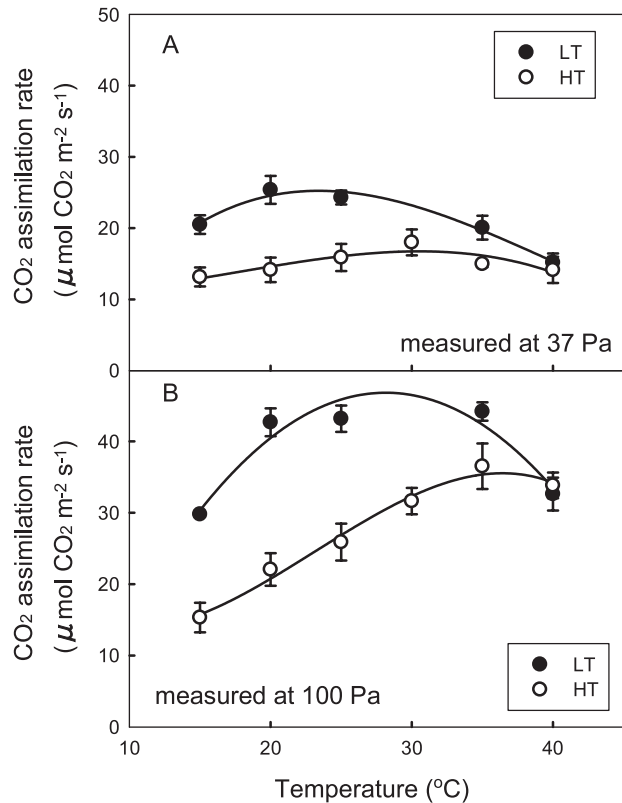
栽培方法は第I章第1節に従った。ガラス温室で定植時から栽培し、定植1ヶ月後、植物個体を30/25°C (HT) または20/15°C (LT) 条件のファイトトロンに移動し、温度処理を開始した。また、ガラス温室で2月に定植し、栽培した個体を温度処理開始と同時期の定植1ヶ月以降もそのままガラス温室内で25°C換気、20°C暖房の設定で栽培する試験区を設けた。定植1ヶ月以降の試験期間中のガラス温室内の日平均気温は22°Cであった。このように、ガラス温室栽培区はHTとLTのほぼ中間的な温度管理となった。

2) ガス交換測定

栽培を行っている自然光型ファイトトロンから実験室に設置した人工気象器内に植物個体をロックウールごと移動し、個体周囲の環境を調節した上で測定した。LI6400のチャンバーを人工気象器の内部に差し込み、個葉の光合成を測定した。測定葉温は15–40°Cの範囲とし、測定葉温に対して人工気象器内の気温を追随させて環境をコントロールした。温度処理開始後42日程度のバラ葉を用いて個葉光合成測定を2つの二酸化炭素分圧下(大気分圧、または高二酸化炭素分圧100 Pa CO₂)で行った。その他の測定条件は第I章第1節に従った。

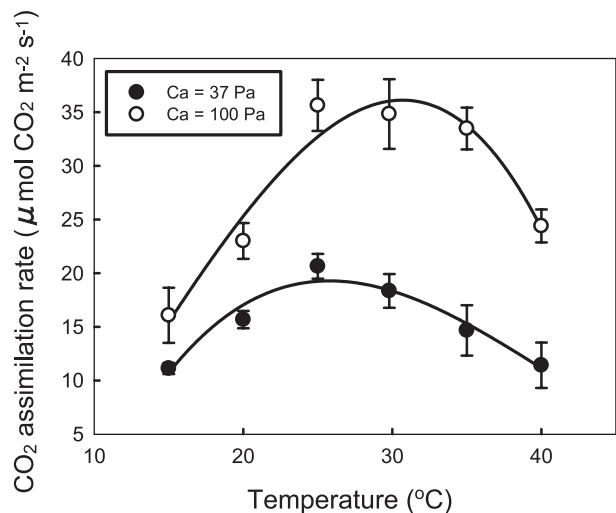
3. 結果

LT葉の大気二酸化炭素分圧下での光合成適温は葉温20°C、HT葉では30°Cであった(第3図A)。HT葉はLT葉に比べ高温での光合成速度が維持された。高二酸化炭素施用(100 Pa CO₂)時の光合成適温はLT葉で葉温20°C~35°C、HT葉は35°Cであった(第3図B)。日平均気温22°Cのガラス温室で栽培された葉についてみると(第4図)、大気二酸化炭素分圧下での光合成適温は25°C、高二酸化炭素施用(100 Pa CO₂)時の光合成適温は25–35°Cであった。



第3図 異なる温度下で生育した葉における葉温と光合成速度の関係

(A) 大気二酸化炭素分圧下(37 Pa)、(B) 高二酸化炭素分圧下(100 Pa)で測定。●はLT葉の平均を、○はHT葉の平均を示す。バーは標準偏差を示す。



第4図 ガラス温室(日平均気温22°C)下で生育した葉における葉温と光合成速度の関係

●は大気二酸化炭素分圧下(37 Pa)での光合成速度の平均を、○は高二酸化炭素分圧下(100 Pa)での光合成速度の平均を示す。バーは標準偏差を示す。

4. 考察

周年生産のために品種改良されたバラの栽培品種では、光合成適温は20–30℃程度である (Kim and Lieth 2003, Pasion and Lieth 1989, Lieth and Pasion 1990). バラの野生種では、同一環境で栽培した場合でも寒冷地に自生する種と温暖な地に自生する種で光合成適温が異なり、寒冷地に自生する種の適温は低いことが報告されている (Ueda ら 2000). 本研究において、バラ葉光合成適温は葉形成時の栽培温度に馴致することが明らかとなった (第3図). 同一種でも、栽培温度が異なると光合成適温がシフトする現象が知られている (Berry and Bjorkman 1980, Badger ら 1982, Hikosaka ら 1999, Sage and Kubien 2007). しかし周年生産される温室栽培作物における光合成適温の変動に関する知見は見当たらない. 環境を制御できる温室であっても通常の施設の場合は年間の温度変化は大きく、バラでは葉形成時の気温によって光合成適温が季節変動すると考えられる. 高二氧化碳分圧下の光合成速度はLT葉では、低温でも光合成速度の十分な増加が認められるが、HT葉ではほとんど増加しない (第3図B). バラ栽培では冬の短日に光合成促進のため二氧化碳施用が普及しており、LT葉は低温でも二氧化碳施用による光合成促進効果が期待できると考えられる. 平均気温がHTとLTの中間となるような温度下のガラス温室で形成されたバラ葉は、HTとLTの光合成適温のほぼ中間値を示した (第4図).

第3節 栽培温度が同化専用枝葉の過剰光エネルギー発生および光阻害に与える影響

1. 背景および目的

第1節の結果より、光合成適温は栽培温度に馴致することが明らかとなった. このことは、葉形成時の栽培温度によって光合成による光利用能力に差が生じることを示している. 光合成によって利用される光エネルギーと光消費系によって消費される光エネルギーを上回る過剰な光エネルギーは、光阻害を引き起こし、光合成を低下させる. 特に低温域での光合成速度の低下には、光阻害が関与する可能性が高い. そこで、異なる温度条件下で形成された葉の様々な温度下での過剰光エネルギー発生を明らかにし、光阻害の受けやすさに差があるか明

らかにする必要がある. 変動する環境条件下では葉の光消費能力を超えた過剰光エネルギーによって葉の光合成機能がダメージを受け、光阻害による光合成能の低下をまねくことが数々の実験によって明らかになっており、これが生産性低下の要因となることが報告されている (Powles 1984). しかし、バラのアーチング栽培において同化専用枝葉の光合成機能の健全性が重要であるにもかかわらず、環境要因の変動に対応した同化葉の光エネルギー代謝の変化と光阻害の関係については調べられていない. 光合成で消費されない過剰光エネルギー消去の代謝系として、①吸収した光エネルギーを熱として放散する系 (Demmig-Adams and Adams 1992, Demmig-Adams ら 1995, Demmig-Adams and Adams 1996, Horton ら 1996, Gilmore 1997), ②光化学系 I で酸素に電子を渡し、活性酸素消去系酵素によって水へと変換する water-water cycle に代表されるオルターナティブな電子伝達系 (Asada 1996, Miyake and Yokota 2000) がある. water-water cycle は活性酸素消去系として機能するだけでなく、電子伝達によってチラコイド膜を介した ΔpH を形成することができ、この ΔpH によってキサントフィルによる熱放散系が機能する (Asada 1999, 2000). 葉形成期の栽培環境の違いによってストレスの受けやすさ、光阻害の程度に差異があるのかを明らかにすることは栽培管理において重要な情報となると考えられる. 葉形成時の栽培温度の異なる同化専用葉を供試し、様々な温度下で光阻害に対する感受性を比較する. また、光阻害がみられなかった場合、光阻害回避機構を明らかにし、葉における光エネルギー代謝の環境応答について解析する.

2. 方法

1) 栽培方法

第1章第1節に従った. HT, LT で栽培し、それぞれの温度下で形成された葉を用いた.

2) F_v/F_m の測定

温度処理開始後40日のHT葉, LT葉を用いた. 切り葉をシャーレにつけ、温度を15–40℃の任意にコントロールした人工気象器に入れ、800–1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の強光を60分後照射し、室温25℃の実験室内で30分暗黒下に置いた後、Chl 蛍光 F_v/F_m を測定した. 測定はLI6400-40で行った.

3) ガス交換-Chl蛍光測定

第1章第2節のガス交換測定に従った。それぞれの温度下で形成された温度処理開始後40-45日の最上位完全展開葉を用いた。測定はLI6400-40で行った。光強度は200, 500, 1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ とし、大気二酸化炭素分圧下で測定した。

4) Chl蛍光のパラメータの計算

光合成速度が定常に達した時にChl蛍光測定装置を用いて蛍光強度を求め、次の各パラメータを計算した。

Excess :

大気二酸化炭素分圧下でのデータを用いてPSIIに吸収された光エネルギーのうち、電子伝達系にも流れず、熱放散で消去されなかった過剰な光エネルギー *Excess* を算出した (Demmig-Adams ら 1996). photochemical quenching を示すパラメータ *qP* は

$$qP = (Fm' - F) / (Fm' - Fo')$$

という式で表される (Schreiber ら 1994). この値を以下の式に代入して求めた。

$$Excess = (1 - qP) \times Fv'/Fm'$$

$1 - Fv'/Fm'$:

照射下ではPSIIの最大量子収率 (Fv/Fm) よりも酸化型 Q_A の量子収率 (Fv'/Fm') の方が低い値を示すが、これは ΔpH に依存した熱放散が行われるためであるといわれている (Demmig-Adams and Adams 1996, Demmig-Adams ら 1996). そこで Demmig-Adams and Adams (1996) は、全てのエネルギーが光化学反応に使われる場合に Fv/Fm は1.0になることから、PSIIの吸収した光エネルギーのうちPSIIアンテナで熱として消去される割合を示すパラメータ ($1 - Fv'/Fm'$) を考案した。この値は

$$1 - Fv'/Fm' = 1 - (Fm' - Fo') / Fm'$$

で求めることができる。

5) 光合成および光呼吸で利用された電子の消費速度 (Jg) の算出

Rubisco の carboxylase 反応により光合成が、oxygenase 反応により光呼吸が生じるが、これらの各反応速度は、以下のように計算した。

$$A = Vc - 0.5Vo - Rd$$

(ただし、*A*: CO_2 純同化速度、*Vc*: RuBP carboxylation 反応速度、*Vo*: RuBP oxygenation 反応速度、*Rd*: day respiration を示す) であり、また

$$Vo = \frac{Vc \times pO_2}{Sr \times Cc}$$

(ただし、*pO₂*: 酸素分圧、*Sr*: Rubisco の比特異係数、*Cc*: 葉緑体内 CO_2 分圧) である (von Caemmerer and Farquhar 1981) から式変形により

$$Vc = \frac{A + Rd}{1 - \frac{pO_2}{2 \times Sr \times Cc}}$$

と表すことができる。

大気 CO_2/O_2 分圧下で、Rubisco の触媒反応により1分子の CO_2 が RuBP と反応したとき、カルビンサイクルでは2NADPHを消費する。また1分子の O_2 が RuBP と反応したとき、光呼吸回路でも2NADPHを消費する。1分子の NADPH の生成には $2e^-$ が必要であることから、2NADPH の生成に各 $4e^-$ が非循環的電子伝達から供給されることが必要となる。従って、光合成および光呼吸で利用された電子の消費速度 (Jg) は

$$Jg = 4Vc + 4Vo$$

として計算することができる (Jg の単位は $\mu\text{mol } e^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)。

本論文では、この Jg を計算するにあたり、以下のようにしてパラメータを決定した。

Rd: 暗呼吸 (Dark での CO_2 放出速度) を *Rd* として計算に用いた。

Sr: 比特異係数は以下の式により求められる

$$Sr = \frac{Vc_{max} \times K_o}{V_o_{max} \times K_c}$$

(ただし、 V_{cmax} : carboxylase 活性の V_{max} , V_{omax} : oxygenase 活

性の V_{\max} , K_c : carboxylase 活性の K_m , K_o : oxygenase 活性の K_m)

この値は当然、温度によって変わるため、ハウレンソウにおいて調べられている Rubisco の V_{\max} , K_m 値の温度レスポンス (Jordan and Ogren 1984) を用いて V_{\max} , K_m 値を算出し、 S_r を求めた。

C_c : 葉内 CO_2 分圧 C_i から、葉緑体内 CO_2 分圧 C_c を算出した。葉内 CO_2 分圧 C_i は細胞間隙の CO_2 分圧であり、実際に光合成を行っている葉緑体内の CO_2 分圧 C_c は細胞間隙から葉緑体までの拡散抵抗のため若干低下する。細胞間隙間から葉緑体までの拡散伝導度 g_w は

$$g_w = 0.5 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

と見積られている (von Caemerer and Evans 1991, Makino ら 1994)。これにより、 C_c は以下の式で計算される。

$$C_c = C_i - A/g_w \text{ (Harley ら 1992)}$$

6) PSIIにおける電子伝達速度(J_f)の計算

Genty ら (1989) によると酸化型 Q_A の割合 (qP) と酸化型 Q_A の量子収率 (F_v'/F_m') の積が PSII の量子収率 (Φ PSII) を表し

$$\begin{aligned} \Phi \text{ PSII} &= qP \times F_v'/F_m' \\ &= (F_m' - F)/(F_m' - F_o') \times (F_m' - F_o')/F_m' \\ &= (F_m' - F)/F_m' \end{aligned}$$

の式で計算できる。これより PSII における電子伝達速度 (J_f) は、以下の式で求めることができる。

$$J_f = \text{PPFD} \times \alpha \times \Phi \text{ PSII}$$

本論文では、 α を以下の測定より算出した。弱光下では Alternative Electron Flow はなく、 J_g が J_f に等しいという仮定のもと、光強度 $200 \mu \text{ mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ において大気 CO_2 分圧および O_2 分圧がそれぞれ 37 Pa および 2 kPa であるという条件で様々な葉温下でガス交換-Chl 蛍光測定を行い、得た蛍光値より算出した。

7) Alternative Electron Flowへ流れる電子速度(J_a)の計算

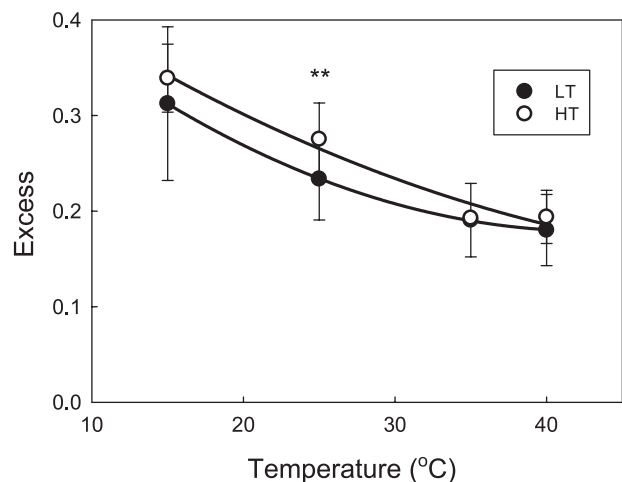
alternative electron flow は電子伝達系へ流れた電子のうち Rubisco の oxygenase 反応にも carboxylase 反応にも使われなかった電子の流れを示し、主には water-water cycle もしくは PSII cyclic への電子の流れを表し (Miyake and Yokota 2000, 2001)

$$J_a = J_f - J_g$$

で表される。

3. 結果

LT 葉および HT 葉について様々な温度条件下での生育温度の違いによる過剰光エネルギー生成の特性をガス交換-Chl 蛍光同時測定によって調べた (第 5 図)。過剰光エネルギーを示す蛍光パラメータ $Excess$ は 15°C において HT が若干高い傾向が見られたものの、生育温度 (HT, LT) による明確な違いは認められなかった (第 5 図)。 $Excess$ は葉形成時の生育温度にかかわらず、低温で高く 35°C まで一貫して低下し、 40°C でわずかに増加に転じる傾向が観察された (第 5 図)。 F_v/F_m について調べたところ、LT 葉および HT 葉ともに特に $Excess$ の高い 15°C を含めたすべての温度域において F_v/F_m は健全なレベルである 0.8 程度となり、光障害は認められなかった (第 4 表)。異なる温



第 5 図 $Excess$ の温度依存性

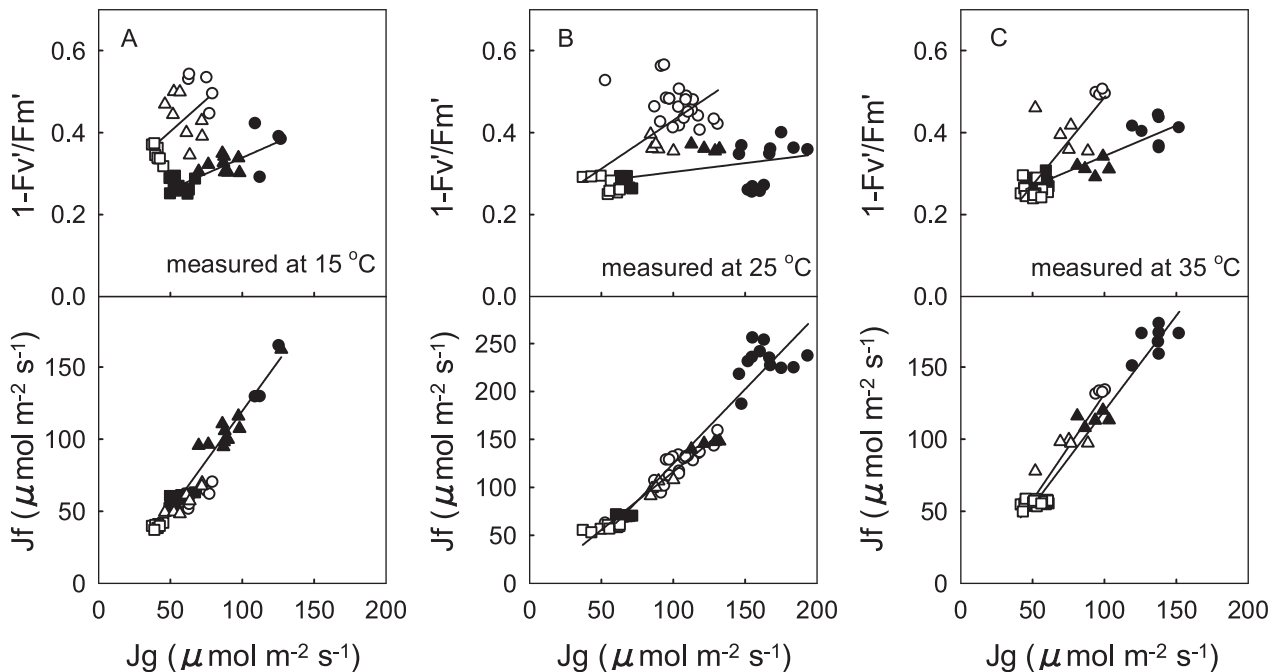
●は LT 葉の平均を、○は HT 葉の平均を示す。バーは標準偏差を示す。測定は光強度 $1000 \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ で行った。** は t 検定により 1% 水準の有意差があることを示す。

第 4 表 強光処理時の温度による F_v/F_m の変化

Temperature under high light exposure (°C)	LT	HT
15	0.819 ± 0.011	0.822 ± 0.007
25	0.816 ± 0.010	0.815 ± 0.009
35	0.816 ± 0.002	0.800 ± 0.018
40	0.797 ± 0.007	0.800 ± 0.010

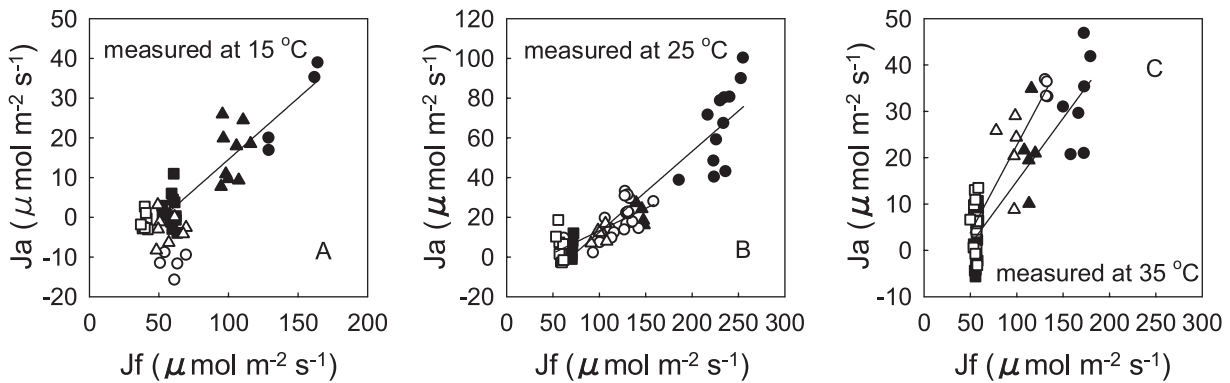
度下で生育した葉の、過剰光消去機構を比較した。蛍光パラメータ $1 - Fv'/Fm'$ は熱放散を、 Jg はガス交換より算出した電子伝達速度、 Jf はChl 蛍光より算出した電子伝達速度、 Ja はオルターナティブな電子伝達系を表す。光強度の増加とChl 蛍光パラメータの変化を見たのが第6図、第7図および第8図である。 $1 - Fv'/Fm'$ は、 Jg の増加に伴って増加した(第6図A, B, C)。HT葉では、 Jg の高い強光条件下では葉温 15, 25, 35°C すべてにおいて、LT葉に比べ高い $1 - Fv'/Fm'$ を維持していた(第6図A, B, C)。 Jf と Jg の関係についてみると、葉温 15, 25, 35°C すべてにおいて、 Jf は Jg の増加とともに直線的に増加した(第6図A, B, C)。 Ja は Jf と Jg の差で表される。葉温 15°C では、LT葉ではHT葉に比べ光強度の増加による Jf の増加に伴って、 Ja すなわちオルターナティブな電子伝達系への光エネルギーの流れを相対的に増大させ、 $1 - Fv'/Fm'$ を維持していた(第7図A)。一方、HT葉は光強度が増加してもオルターナティブな電子伝達の増大は見られなかった(第7図A)。 Jf/Jg の増加は、オルタ

ーナティブな電子伝達速度の相対的な増加を表す。第8図Aより、光強度の低いときはHT, LTの Jf/Jg に差は認められないが、光強度が強い場合(第8図B, C)の葉温 15°C における Jf/Jg はLTの方がHTより高い傾向が認められた。このように、LT葉は低温下で機能するオルターナティブな電子伝達系を発達させていると考えられた。葉温 25°C, 35°C では、LT葉だけでなくHT葉においても光強度増加とともにオルターナティブな電子伝達系へ流れる光エネルギーの増加が認められた(第7図B, C)。第8図Cより、光強度が強い場合(1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)の葉温 35°C での Jf/Jg は、LTよりHTの方が高い傾向があった。以上のことから、LTは高温から低温域に至るまでオルターナティブな電子伝達系が過剰光を消去に関わることで、HTは熱放散系が過剰光消去に機能することがわかった。高温ではHTはオルターナティブな電子伝達系を機能させ、高い熱放散を維持していた(第6図C, 第7図C, 第8図C)。



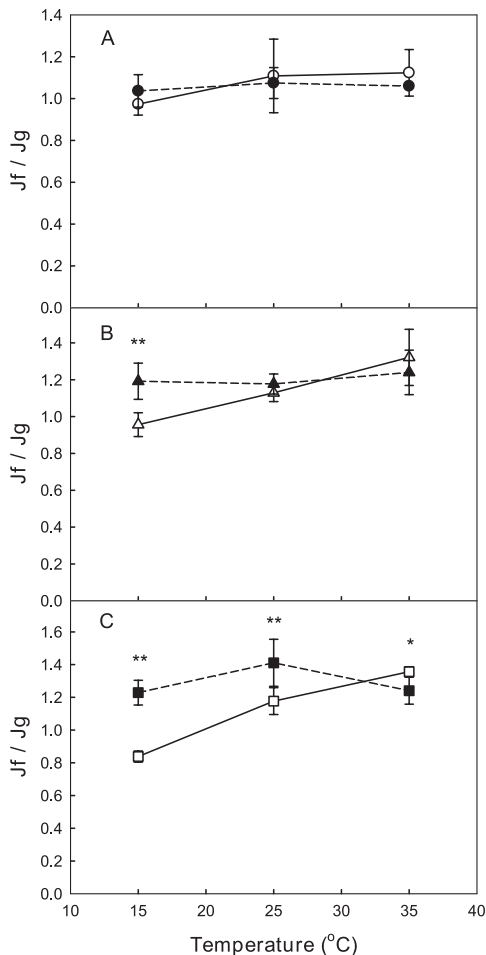
第6図 異なる光強度における $1 - Fv'/Fm'$ および Jf の Jg 依存性

●, ▲および■はそれぞれLTにおける光強度 1000, 500 および 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の測定値を、○, △および□はそれぞれHTにおける光強度 1000, 500 および 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の測定値を示す。測定は(A) 15°C, (B) 25°C, (C) 35°Cで行った。図中実線は回帰直線を示す。回帰直線の式および相関係数は以下のとおり。(A) LT: $1 - Fv'/Fm'$ 対 Jg について $y = 0.00155x + 0.184$, $r^2 = 0.657$, Jf 対 Jg について $y = 1.38x - 18.2$, $r^2 = 0.952$, HT: $1 - Fv'/Fm'$ 対 Jg について $y = 0.00312x + 0.247$, $r^2 = 0.355$, Jf 対 Jg について $y = 0.738x + 10.2$, $r^2 = 0.905$, (B) LT: $1 - Fv'/Fm'$ 対 Jg について $y = 0.00043x + 0.260$, $r^2 = 0.171$, Jf 対 Jg について $y = 1.55x - 30.7$, $r^2 = 0.922$, HT: $1 - Fv'/Fm'$ 対 Jg について $y = 0.00236x + 0.194$, $r^2 = 0.424$, Jf 対 Jg について $y = 1.21x - 4.72$, $r^2 = 0.936$, (C) LT: $1 - Fv'/Fm'$ 対 Jg について $y = 0.00148x + 0.195$, $r^2 = 0.826$, Jf 対 Jg について $y = 1.32x - 12.3$, $r^2 = 0.960$, HT: $1 - Fv'/Fm'$ 対 Jg について $y = 0.00427x + 0.0584$, $r^2 = 0.723$, Jf 対 Jg について $y = 1.47x - 15.7$, $r^2 = 0.918$ 。



第7図 異なる光強度における J_a の J_f 依存性

●, ▲および■はそれぞれ LT における光強度 1000, 500 および 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の測定値を, ○, △および□はそれぞれ HT における光強度 1000, 500 および 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の測定値を示す. 測定は (A) 15°C, (B) 25°C, (C) 35°C で行った. 図中実線は回帰直線を示す. 回帰直線の式および相関係数は以下のとおり. (A) LT: $y = 0.309x - 16.3, r^2 = 0.799$, HT: $y = -0.226x + 7.25, r^2 = 0.244$, (B) LT: $y = 0.407x - 28.2, r^2 = 0.847$, HT: $y = 0.226x - 9.38, r^2 = 0.553$, (C) LT: $y = 0.272x - 12.3, r^2 = 0.773$, HT: $y = 0.376x - 14.9, r^2 = 0.802$.



第8図 J_f/J_g の温度依存性

●, ▲および■はそれぞれ LT における光強度 (A) 200, (B) 500 および (C) 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の測定値の平均を, ○, △および□はそれぞれ HT における光強度 (A) 200, (B) 500 および (C) 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の測定値の平均を示す. バーは標準偏差を示す. 白抜きは HT を, 黒塗りは LT を示す. * と ** はそれぞれ t 検定により 5% 水準または 1% 水準の有意差があることを示す.

4. 考 察

異なる温度下で生育した葉の過剰光エネルギー発生 の程度を様々な葉温下で比較したところ, HT, LT ともに低温域で特に過剰光が増大する傾向が認められた (第5図). 低温下では, カルビンサイクル酵素の機能低下 (Kingston-Smith ら 1997) により光合成が低下するため過剰光による光阻害をより受けやすい状態となる. しかし, 過剰光が増大する低温下であっても F_v/F_m の低下は見られず (第4表), バラ葉は葉形成時の生育温度にかかわらず, 幅広い温度に対して機能する過剰光消去系を十分備えていることが示唆された. 低温域での光合成速度の低下は, 光阻害によるものではないことが分かった. バラ葉は短期的な温度環境の変化に対して光阻害を受けることは無く, 発生する過剰光エネルギーを安全に消去する能力があることが示唆された. そこで, 異なる温度下で生育した葉の過剰光消去機構を比較した (第6図, 第7図, 第8図). HT は LT に比べ熱放散系が過剰光消去に機能し, 光阻害回避に貢献していることが示唆された (第6図). さらに, LT 葉は低温下で機能するオルターナティブな電子伝達系を発達させていることも示唆された (第7図, 第8図). HT 葉は低温下ではオルターナティブな電子伝達系は機能しないが, 高温下でオルターナティブな電子伝達系を機能させ (第7図, 第8図), 高い熱放散を維持していたと考察された.

まとめ

バラ葉の光合成能力は養分条件が同一であっても、栽培温度環境に強く依存することがわかった。LTにおいて、光合成速度は温度処理開始直後に抑制されたが、その後葉の光合成能力が高められた。光合成能力の増加は葉面積あたりの Rubisco 含量、窒素含量の増加に関連していた。同化専用枝葉形成過程において葉面積あたりの葉の光合成能力を高めるためには LT の方が HT より適していると考えられた。

大気二酸化炭素分圧下での光合成適温は LT 葉では葉温 20°C、HT 葉では葉温 30°C となり、栽培昼温に馴致する応答が見られた。LT 葉では低温を含めた広い温度領域で高二酸化炭素施用効果が認められた。HT 葉は低温での施用効果がほとんど見られなかった。

栽培温度にかかわらず過剰光エネルギーの多い低温であっても光阻害は受けていないことがわかった。

第II章 同化専用枝葉の光合成機能の維持

第1節 同化専用枝葉の老化に伴う光合成能力の変動

1. 背景および目的

葉の光合成能は、老化に伴って低下することが知られている (Thomas and Stoddard 1980, Smart 1994)。アーチング法において生産性を向上させるには、同化専用枝葉群の光合成能を、高いレベルで長期にわたって維持することが重要であると考えられる。同化専用枝形成後の連続採花期には同化専用枝の葉が長期間維持管理されることになるが、この間徐々に葉の老化が進行すると考えられる。しかし、バラは常緑樹であることから、葉の老化の判断が難しく、老化がどの程度の期間で起こるのかということはわかっていない。同化専用枝群の光合成能を一定レベル以上に維持するには、古い同化専用枝の光合成能が低下したところで若い葉を持つ新しい枝を水平に折り曲げ、新たな同化専用枝とする、すなわち同化専用枝の更新を行う必要がある。同化専用枝の更新を適切に行うためには、同化専用枝の葉の光合成能や光合成速度が老化に伴ってどのように変化するかを知る必要がある。

アーチング法によるバラの場合、その独自の栽培方

法によって通常の葉の老化とは異なる特徴を示す可能性がある。通常、生長に伴って下位葉は上位葉に遮光され光があたりにくくなるが、アーチング法では同化専用枝は水平に折り曲げられているため、老化が進んでも常に強い光を受けやすい状態にある。葉の老化による光合成速度の低下は通常光環境と密接に関連しており、遮光される下位葉で老化は促進される (Evans 1989, Hikosaka ら 1994)。しかし、アーチング栽培では枝を水平に折り曲げて維持することから、同化専用葉の光条件は変わらない。光条件の変わらない条件で、人工的に維持管理されるアーチング栽培での同化専用枝葉の光合成能が、どのように変動するかは未解明である。

そこで、形成された同化専用枝葉の光合成能力が老化に伴ってどのように維持され、低下するのかを明らかにすることを本章における第一の目的とし、老化過程における光合成速度、葉の窒素含量、Rubisco 含量、Chl 含量の変動について調べた。

また、老化過程における光合成速度の低下に関わる要因として、老化に伴う光阻害または光傷害の発生の可能性もある。光は光合成に不可欠な要因であるが、その一方で光合成で利用できない過剰な光エネルギーはしばしば光阻害を引き起こし、結果として光合成を低下させるという問題がある。一般的に、このような光合成の低下は光傷害と言われている。老化に伴って葉の光合成能が低下すると、光合成で消費できない過剰光が生じやすくなっていく。実際、老化葉は光阻害を受けやすいことが知られている (Murchie ら 1999, Kar ら 1993, Jiao ら 2003)。アーチング法による同化専用枝は、光を最大限に吸収しそれを光合成に利用できるというメリットがある一方、光合成機能の低下した老化葉においては利用しきれない強光を受けた場合に、光阻害を受けやすいというリスクを伴う可能性が高い。

このように、アーチング法によるバラの同化専用枝、特に老化した同化専用枝は、光阻害を受けやすいという特性を有している。しかし、アーチング法によるバラの同化専用枝における光阻害の実態は明らかにされていない。そこで、本章では、同化専用枝葉は老化過程において光阻害を受けているのか、明らかにすることを第二の目的とした。仮に、バラ葉の老化過程において光阻害が発生する傾向が認められれば、Chl 蛍光によって最大量子収率を測定することによって簡易に老化を判定でき、同化専用枝光合成能力の簡易判定技術につながる。

また、葉の老化は、老化過程における光以外の環境要因によっても影響を受けると考えられる。例えば、光環

境に差がなくても、施肥窒素が不足すると葉の老化が促進されることが知られているが (Hikosaka ら 1994), バラ養液栽培では十分窒素が与えられるため、窒素不足の影響は除外できる。しかし、長期間維持管理される同化専用枝葉群は、葉形成後の温度環境が葉形成時と異なる場合が十分考えられる。そこで、本章の第三の目的として、葉形成後の同化専用枝維持管理温度が葉の老化にどのような影響を与えるか、明らかにすることを目的とした。

2. 方法

1) 栽培方法

第 I 章第 1 節に従って同化専用枝を LT で栽培した。LT で形成された枝を折り曲げ、同化専用枝とした。葉裏から赤色の消えた展開直後の完全展開葉の隅に展開日を書き込んだシールを貼り付け、完全展開後日数を区別するための目印とした。展開直後の葉、老化中期葉 (展開後およそ 90 日)、老化後期葉 (展開後 150 日) について光合成速度、窒素含量、Rubisco 含量、Chl 含量を調べた。

2) 光合成速度、窒素含量、Rubisco 含量、Chl 含量の測定

第 I 章第 1 節に従って行った。光合成測定時の葉温は栽培昼温と同じ 20°C とした。

3) Fv/Fm の測定

栽培しているファイトトン内で、着生葉を用いて測定を行った。晴れた日の昼 12 時にアルミホイルで葉を 30 分間覆い、暗黒条件とした。その後、LI6400-40 を用いて Chl 蛍光 Fv/Fm 測定を行った。第 I 章第 2 節に従って行った。

4) 栽培方法 温度処理

第 I 章第 1 節に従って同化専用枝を LT または HT で栽培し、同化専用枝を仕立てた。同化専用枝形成後、一部の個体を LT から HT へ、または HT から LT へ移動した。このように、同化専用枝維持管理期間の温度が異なる処理を行った。同化専用枝形成温度→同化専用枝維持温度とすると、HT→HT、HT→LT、LT→HT、LH→LH の 4 つの試験区を設けた。同化専用枝形成後、温度処理区を移動した日に全試験区一斉に展開直後の完全展開葉の隅に展開日を書き込んだシールを貼り付け、完全展開後日数を区別するための目印とした。その後一定期間ご

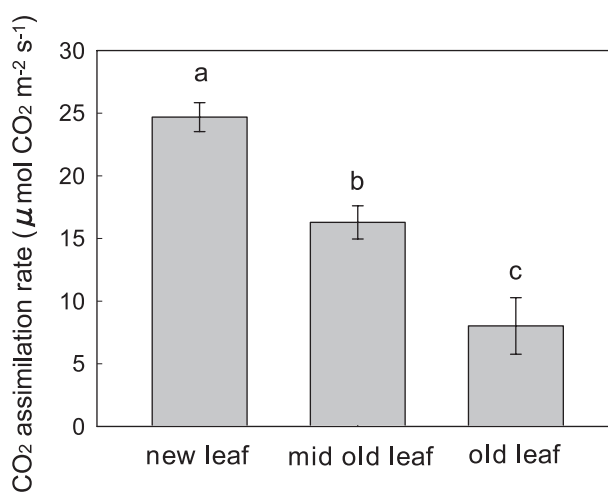
とにリーフディスクをサンプリングし、窒素含量の定量に供した。

3. 結果

1) 折り曲げ後の同化専用枝葉の老化に伴う光合成成分の推移

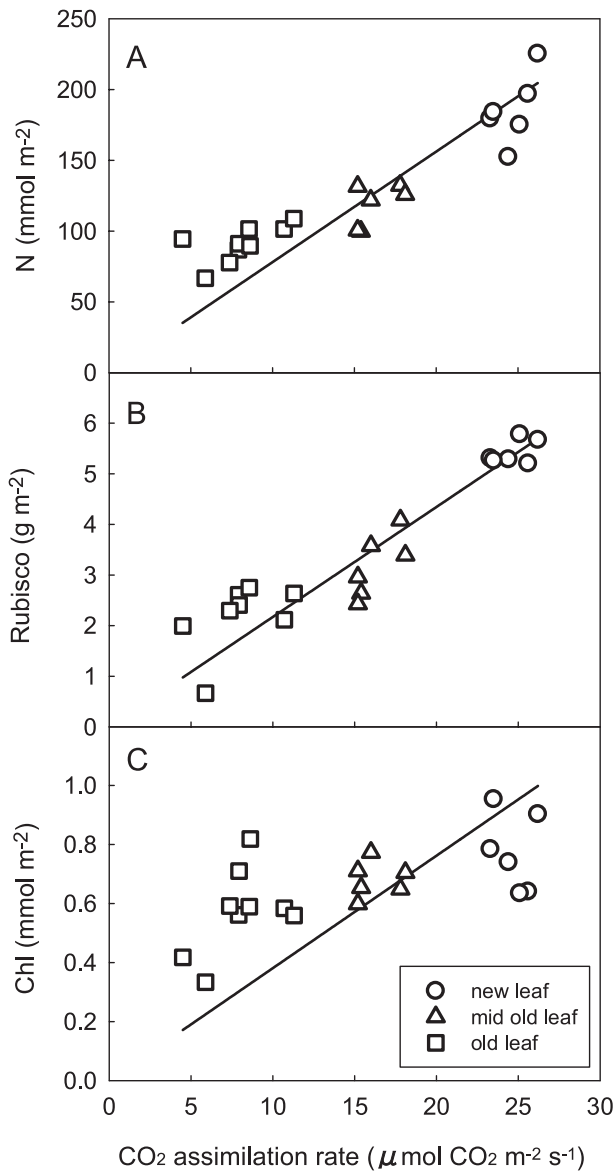
20/15°C (LT) で形成された枝を折り曲げ、同化専用枝とした。展開直後の葉、老化中期葉 (展開後およそ 90 日)、老化後期葉 (展開後 150 日) について光合成速度、窒素含量、Rubisco 含量、Chl 含量を調べた (第 9 図, 第 10 図)。その結果、光合成速度は、老化に伴い低下した (第 9 図)。光合成速度の減少と窒素含量および Rubisco 含量との相関は高かったが、Chl 含量との相関は低かった (第 10 図)。葉の完全展開後の日数経過とともに葉の窒素含量、Rubisco 含量、Chl 含量がどのように変化するか調べた (第 11 図)。その結果、窒素および Rubisco 含量は日数経過に伴って直線的に減少する傾向がみられたが、Chl は 100 日までほぼ一定で、その後減少に転じた。

このようにバラ葉の老化に伴う光合成能力の減少は Chl 含量の減少と一致せず、葉色から葉の光合成能力を診断することはできないことがわかった。完全展開後 90 日程度で葉の窒素含量は完全展開直後の 64% に低下し、光合成速度は 66% に減少した。150 日では展開直後の 32% に光合成速度が低下し、窒素含量と Rubisco 含量はそれぞれ 49% と 40% に減少した。



第 9 図 葉老化過程における光合成速度の変化

展開直後 (new leaf), 展開後およそ 90 日 (mid old leaf), 展開後およそ 150 日 (old leaf) の平均を示す。バーは標準偏差を示す。a, b, c はそれぞれ 5% 水準で有意差があることを示す。

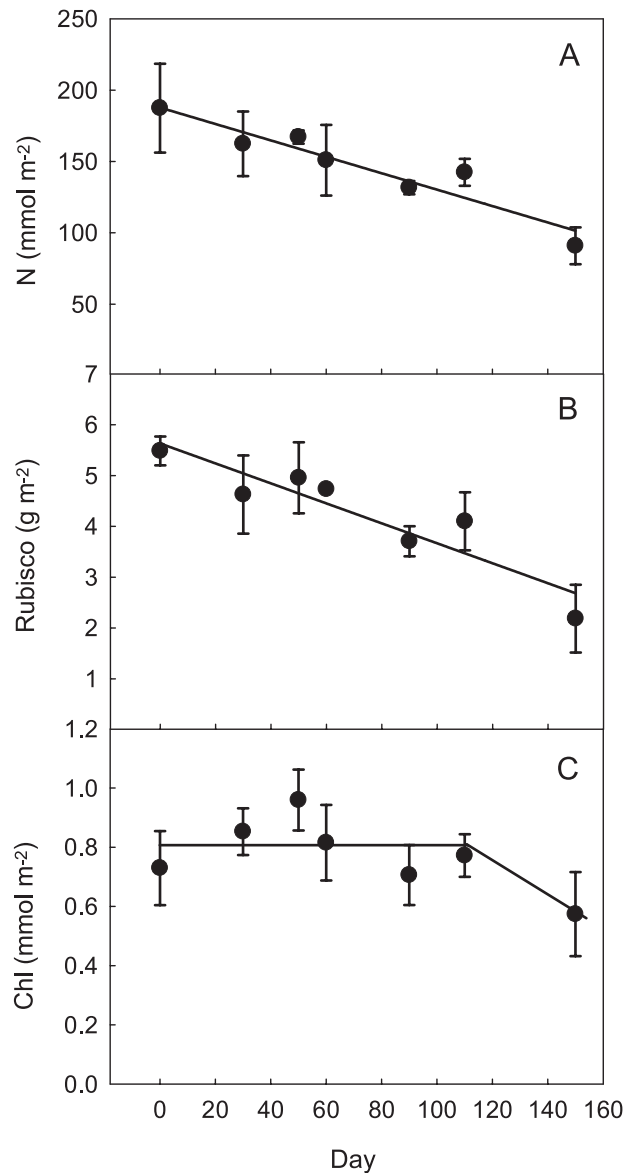


第10図 葉老化過程における光合成速度と(A)窒素含量、(B) Rubisco 含量、(C) Chl 含量との関係

○は展開直後の葉 (new leaf) を、△は展開後およそ90日経過した葉 (mid old leaf) を、□は展開後およそ150日経過した葉 (old leaf) を示す。回帰直線の式および相関係数は以下のとおり。(A) $y = 7.81x$, $r^2 = 0.820$, (B) $y = 2.17 \times 10^{-1}x$, $r^2 = 0.875$, (C) $y = 3.81 \times 10^{-2}x$, $r^2 = 0.459$.

2) バラ葉老化に伴う光阻害の解析

光阻害は、Chl 蛍光解析によって得られる最大量子収率 Fv/Fm によって評価できる。このような観点から、老化に伴う光合成能力の低下によって Fv/Fm に変化が見られるか、晴れた日の昼に同化専用枝を調べたところ、老化葉はわずかに Fv/Fm の低下が見られたが、光合成の著しく低下した老化葉であっても健全なレベルである0.8付近の値を維持していた(第12図)。従って、バラ



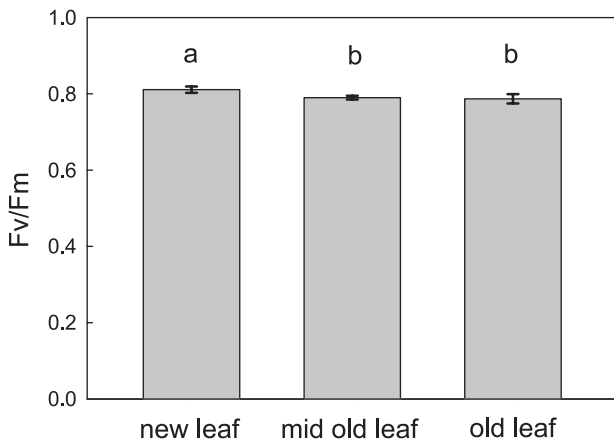
第11図 葉老化過程における葉の(A)窒素含量、(B) Rubisco 含量、(C) Chl 含量の平均の変動

バーは標準偏差を示す。横軸は展開後の日数を示す。

同化専用枝葉は、老化過程において光阻害を受けていないことが示唆された。

3) 温度が同化専用枝葉の老化速度に与える影響

バラにおいて、光合成速度の減少は葉の窒素含量の減少と一致していたことから(第10図)、老化にともなう光合成能力の低下の指標として窒素含量に着目し、葉の窒素含量の変動に栽培温度が与える影響を調べた。20/15°C (LT), 30/25°C (HT) という2つの異なる昼温

第12図 葉老化過程における Fv/Fm の平均の変動

バーは標準偏差を示す。a, bはそれぞれ5%水準で有意差があることを示す。

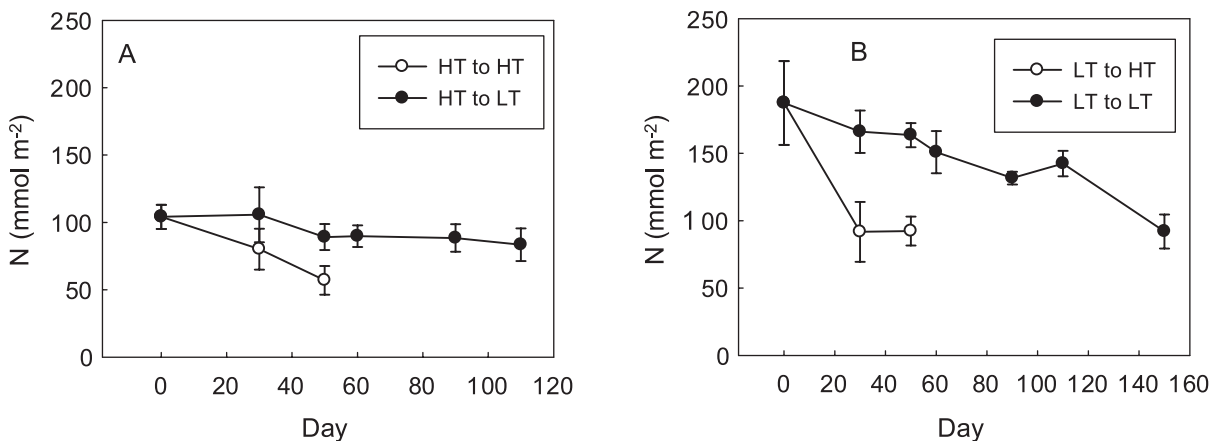
／夜温で同化専用枝を形成した後、一部の個体を 20/15℃ (LT) から 30/25℃ (HT) へ、または 30/25℃ (HT) から 20/15℃ (LT) へ移動した(第13図)。その結果、葉の形成温度の違いにかかわらず葉が完全展開した後の温度管理が低い場合(LT)に比べ、高い場合(HT)は、窒素含量低下の速度が速く、老化が促進された(第13図)。

4. 考 察

バラ葉の老化に伴う光合成速度の低下について、Aiken and Hanan (1975)は採花枝の第一節の5枚葉について調べ、葉裏から赤色の消えた時点完全展開葉とみなした場合、完全展開後8日で光合成速度が最大になり、16日以降には半減すると述べている。さらに、採花期

となる完全展開後40日目には、最大時の20%程度まで減少するという結果が示されている。この結果は、アーチング栽培された同化専用枝葉の光合成速度の減少程度と比較すると著しく早い。採花枝では発達中の花蕾が強力なシンクになっていると考えられるが、採花枝の下位葉は生長に伴って陰になるため、被陰によって老化が促進され光合成産物だけでなく、葉の窒素転流が促進されるためにこのように老化速度が速い傾向があるのかもしれない。または、Aiken and Hanan (1975)の報告で採花期の光合成速度が大幅に低下した要因として、葉の老化によるものでなく、花蕾の発達がほぼ完了し、光合成産物が葉に蓄積したために糖による光合成抑制がおきた可能性を指摘している。Lieth and Pasion (1990)は葉齢と光合成速度の関係を調べ、葉齢70-90日で光合成速度は最大時の半分程度になるという結果を示している。この報告での葉齢は完全展開後日数ではなく、葉展開後の日数と考えられることから、光合成速度が最大になった時期を完全展開時として換算すると、完全展開後55-75日に光合成速度が半減している計算になる。アーチング栽培した同化専用枝の光合成速度は、完全展開後90日程度でも展開直後の66%程度は保っていた(第9図)。従って、アーチング栽培された同化専用枝葉はこれまでの報告(Aiken and Hanan 1975, Lieth and Pasion 1990)と比較して葉の老化に伴う光合成速度の低下が遅く、上位葉による被陰がないため老化が抑制され、より長期間光合成能力を高いレベルで保つことができると考えられる。

施肥窒素が不足すると葉の老化が促進されることが知られているが、バラの養液栽培では十分窒素が与えられ



第13図 同化専用枝葉展開後の温度環境がバラ葉老化に与える影響

(A) HTで形成された同化専用枝葉をHT(○)または温度処理区を移動しLT(●)で管理した。(B) LTで形成された同化専用枝葉をLT(●)または温度処理区を移動しHT(○)で管理した。プロットは平均を、バーは標準偏差を示す。横軸は温度処理区移動開始からの日数を示す。

るため、窒素不足の影響は除外できる。また、葉の老化は光条件によって影響を受け、被陰されると陰になった葉から光の当たっている葉に窒素が転流され、陰になった葉の老化が促進される (Evans 1989, Hikosaka ら 1994)。

葉の光合成速度は、葉齢の違いを含めて窒素含量と比例関係が認められることが多くの植物で認められている (Evans 1989)。これは、葉の窒素の多くが葉緑体に存在するためである。例えば草本植物では、光合成能力および窒素含量は完全展開直後に最大となり、その後の老化過程では時間の経過とともに直線的に低下することが報告されている (Thomas and Stoddart 1980, Smart 1994)。一方、常緑樹では、葉の老化パターンが草本植物と異なる場合がある。常緑樹のうちいくつかの種では、老化に伴う光合成能力と窒素含量の減少が一致しているが (Field and Mooney 1983, Kitajima ら 1997)、窒素含量は老化後期までほぼ変わらないのに光合成能力が徐々に減少する種も存在することが報告されている (Kitajima ら 2002 and 2005)。このように、寿命の長い常緑樹では、老化過程における光合成能力の低下と窒素含量の減少が必ずしも一致しない場合がある。本研究でのバラの葉の老化過程においては、光合成速度と葉の窒素含量には高い相関が見られた (第 10 図)。このことから、老化葉における光合成能力と窒素の関係において、バラは草本植物と同じタイプであるといえる。また、 C_3 植物の草本植物では葉の窒素のうち 20–30% が Rubisco タンパクに使われている (Evans and Seemann 1989, 牧野, 前 1994)。イネにおいて、葉の光合成速度と Rubisco 含量との関係が定量解析され、大気二酸化炭素分圧、光飽和条件のもとで、光合成速度は Rubisco 含量によって律速されることが報告されている (Makino ら 1984)。バラ老化葉において、光合成速度ともっとも高い相関を示したのは Rubisco 含量であった (第 10 図)。また、葉の老化過程において、Rubisco の分解は Chl や他の可溶性タンパクに先行しておこることが報告されており (Makino ら 1983)、Rubisco 含量の減少が Chl 含量の減少に比べて先行するという点で、バラの場合と一致していた (第 11 図)。このように、バラの葉の老化過程では Chl 含量の低下する前からすでに光合成能力の低下がおこることから、葉色から老化の程度を判断することはできない。葉色に変化が見られる段階は老化後期であり、すでに大部分の光合成能力が失われていた (第 9 図, 第 11 図)。

次に、バラ葉の老化と光阻害について考察する。バラ葉の老化過程において、光阻害は起こらないことが明らかとなり (第 12 図)、Chl 蛍光解析から老化レベルの判断はできないことがわかった。バラの葉の老化過程では、

Chl 含量は Rubisco 含量よりも減少が遅く、光合成能力の低下に対して集光機能が相対的に高くなると考えられる。さらに、同化専用枝は人為的に水平に折り曲げ光を受けやすくしているため、老化葉では過剰光エネルギーが発生しやすい条件にある。それにもかかわらず、老化葉で光阻害が見られなかったことから、バラ老化葉では高い光阻害の回避能を持っていることが推察される。本研究においては、光合成能力の大きく低下した老化葉でも光阻害を受けやすい傾向は認められなかったが、一方で老化葉は光阻害を受けやすいという報告もある。例えば、Murchie ら (1999) はイネ葉の老化に伴って葉の配向が垂直方向から水平に変化して日中強光にさらされるため、光阻害を受けやすくなることを報告している。他にも、老化葉が光阻害を受けやすくなるのがいくつか報告されている (Kar ら 1993, Jiao ら 2003)。このような光阻害に対する応答の差は、アーチング法独特の光環境要因に起因する可能性が考えられる。弱光で生育した植物は、強光で生育した植物より光阻害を受けやすい (Demming-Adams and Adams 1992, Long ら 1994, Osmond 1994)。老化に伴って被陰される通常老化葉に比べて、アーチング法では同化専用枝は葉形成期以降も常時強光を受けやすい条件下にあり、そのためにかえって過剰光に対する回避機構を強化する特性を獲得したのかもしれない。

また、葉の老化速度は、葉形成後の温度管理によって明確な差があった (第 13 図)。折り曲げ後の同化専用枝の温度管理が高温の場合に窒素含量の減少が早く、光合成速度の低下はより早いと推定された。第 I 章の結果より、葉形成時の栽培温度が高温であると、葉の光合成能力が低い葉が形成される。このように、光合成能力の低い葉を高温で維持管理した場合、葉の老化が促進されるため光合成能力は著しく低下する。従って、高温管理となる夏季に同化専用枝の光合成能力を一定以上に保つためには、同化専用枝の更新をより短期間で行う必要があると考えられる。一定以下の長さの採花枝は、折り曲げて同化枝とするなど、短期間での同化専用枝葉の更新は有用な対策であるといえる。

アーチング栽培では夏の連続採花によって樹勢が低下し、秋冬期の収量が低下することが問題となっているが、その要因の一つとして夏期高温管理による同化専用枝光合成能の低下が関与しているかもしれない。HT で形成された葉を LT で維持管理した試験区は、夏に形成された葉がその後の秋冬に同化専用枝として残存した場合と似ていると考えられる。高温期に形成された葉は、たとえ若い葉であっても光合成能力が低く、秋冬期に気温の低下

する条件下でこれが維持管理された場合、葉の光合成能力は比較的ゆるやかに低下すると考えられるが、同化専用枝の光合成能力は相対的に低いと考えられる。よって、秋冬期に気温がある程度低下してから形成された光合成能力の高い葉に同化専用枝を更新したほうが良いことが推定される。しかし、秋冬期は短日低照度となるため新たな採花枝の発生が少ない上、採花枝のシュートの長さが長くなるため、一定以下の長さの採花枝を折り曲げる方式の同化専用枝の更新が行われにくい。このため、高温期に形成された光合成能力の低い葉、さらに高温維持管理によって老化が促進された葉が秋冬期に持ち越され、生産性低下の一因となる可能性が考えられる。秋冬期に採花枝を収穫する際、下位葉を数節残して収穫すると、ほとんどの品種で冬の切り花本数が増加したことが報告されている(乾 1996)。低温期に形成された光合成能力の高い葉を一定程度株に残して同化葉として利用することで、同化専用枝葉の更新と同様に光合成能力の向上に役立つのかもしれない。

第2節 老化葉における光阻害回避機構の解析

1. 背景および目的

バラ葉老化過程では集光系 Chl は Rubisco よりも減少が遅く、光合成能力の低下に対して集光機能が相対的に高くなると考えられる。さらに、同化専用枝は人為的に水平に折り曲げ光を受けやすくしているため、老化葉では過剰光エネルギーが発生しやすい条件にあると考えられる。それにもかかわらず、老化葉で光阻害が見られなかったことから、バラ老化葉では何らかの光阻害回避機構を持っていることが推察された。そこで、本節では、バラ葉老化過程における光阻害回避機構を明らかにすることを目的とした。光阻害回避機構として、熱放散系、オルターナティブな電子伝達系が存在する。オルターナティブな電子伝達のうち主要な代謝系として water-water cycle があるが、ほかに PSI 循環型電子伝達系も低二酸化炭素分圧下 (Cornic ら 2000) や低温下 (Clarke and Johnson 2001) での光阻害回避に機能するという報告がある。water-water cycle は活性酸素消去系として機能するだけでなく、電子伝達によってチラコイド膜を介した Δ pH を形成することができ、この Δ pH によって、キサントフィルによる熱放散系が機能する (Asada 1999, Asada 2000)。PSI 循環型電子伝達系もチラコイド膜を

介した Δ pH 形成に貢献できることから、熱放散による過剰光消去に関与することが指摘されている (Endo ら 1999, Miyake ら 2004, Miyake ら 2005)。そこで、熱放散、オルターナティブな電子伝達、PSI 循環型電子伝達系がバラ葉の老化に伴ってどのように変化するか調べた。

2. 方法

1) 栽培方法

第II章第1節に従った。LTで形成された同化専用枝葉をそのままLTで管理した。

2) ガス交換-Chl蛍光測定および $1-Fv'/Fm'$, J_f , J_g の算出

第I章のガス交換-Chl蛍光測定に従った。測定葉温は20°C、光強度 $1000 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、二酸化炭素分圧37 Paで測定した。 $1-Fv'/Fm'$, J_f , J_g の算出に関しても第I章に従った。

3) ガス交換-Chl蛍光-P700⁺吸収測定および Φ PSI, Φ PSIIの算出

Hirotsu ら (2004) の方法に従い測定し、PSI 量子収率 (Φ PSI), PSII 量子収率 (Φ PSII) を算出した。測定葉温は20°C、光強度 $1000 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、二酸化炭素分圧37 Paで測定した。

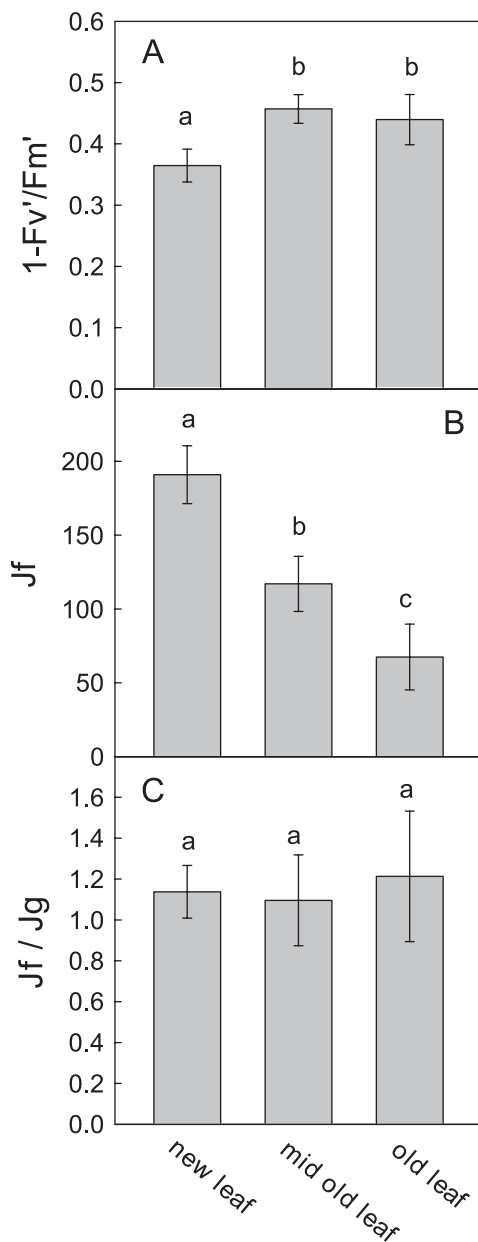
3. 結果

老化中期、老化後期には $1-Fv'/Fm'$ が増加したが、老化中期と後期の間には差がなかった(第14図)。 J_f は老化が進むにつれて低下したが、 J_f/J_g は葉齢のステージにかかわらず一定であった(第14図)。これは、オルターナティブな電子伝達の相対割合は、老化が進行しても変わらないことを示している。 Φ PSI, Φ PSIIは老化に伴って徐々に減少し、光合成速度との関係をプロットするとほぼ同じ傾きの直線となった(第15図)。しかし、 Φ PSIと光合成速度の回帰直線のy切片は Φ PSIIと光合成速度の回帰直線のy切片より高い値であることから(第15図)、 Φ PSI/ Φ PSIIは老化後期に大きく増加した(第16図)。このことは、光合成速度が低下し、電子伝達が著しく減少する老化後期にはPSI循環型電子伝達が増加することを示している。

4. 考 察

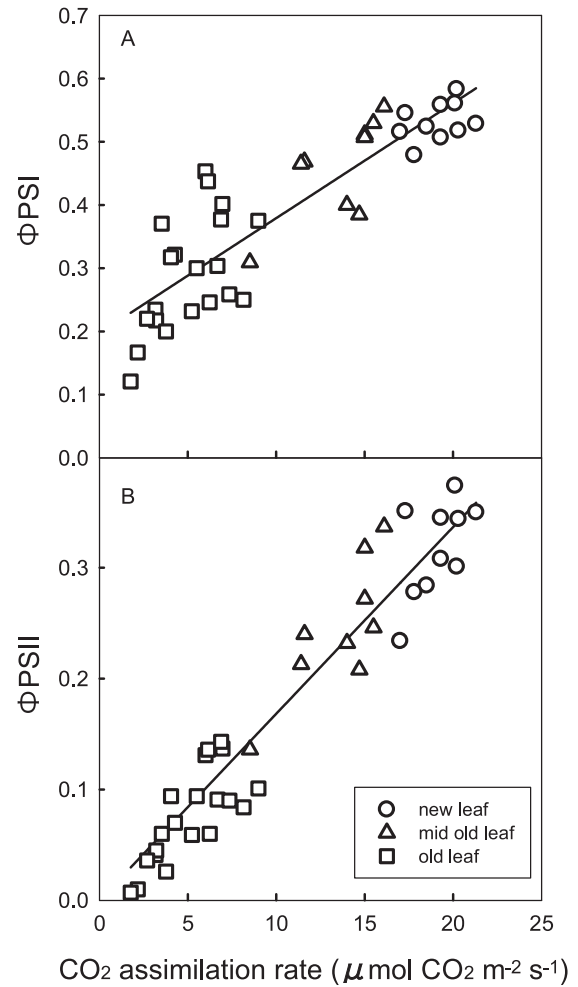
光合成能力の低下する老化葉は光阻害を受けやすい、または光ストレス感受性が増加する特性があることが報告されている (Kar ら 1993, Jiao ら 2003). それに対し、バラ葉老化過程において、PSII は健全な状態を保っていた (第 12 図).

若い葉に比べ、老化中期、および老化後期には明らかに $1-Fv'/Fm'$ が増加した (第 14 図 A) ことから、老化



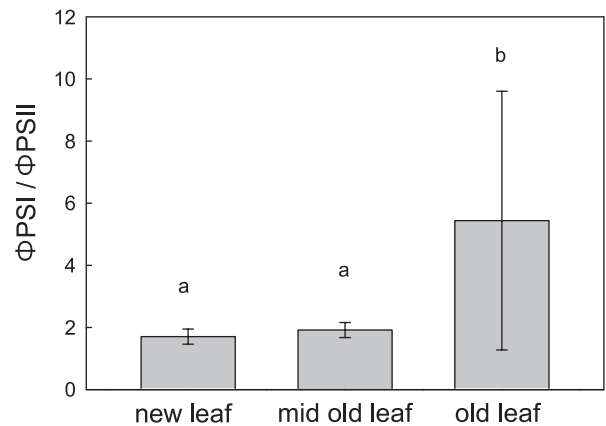
第 14 図 葉老化過程における (A) $1-Fv'/Fm'$, (B) Jf および (C) Jf/Jg の変動

バーは標準偏差を示す. a, b, c はそれぞれ 5% 水準で有意差があることを示す.



第 15 図 (A) Φ PSI および (B) Φ PSII と光合成二酸化炭素同化速度の関係

○は展開直後の葉 (new leaf) を, △は展開後およそ 90 日経過した葉 (mid old leaf) を, □は展開後およそ 150 日経過した葉 (old leaf) を示す. 回帰直線の式および相関係数は以下のとおり. (A) $y = 0.0182x + 0.1973, r^2 = 0.775$, (B) $y = 0.0168x, r^2 = 0.924$.



第 16 図 葉老化過程における Φ PSI / Φ PSII の変動

バーは標準偏差を示す. a, b はそれぞれ 5% 水準で有意差があることを示す.

過程における光合成の低下で発生した過剰光は熱放散系によって消去されると考えられた。クローバー (Yoo ら 2003), コムギ (Lu ら 2003), イネ (Murchie ら 1999) などの老化葉においても熱放散を示すパラメータである NPQ または $1-Fv'/Fm'$ が増大することが報告されており, 老化葉ではキサントフィルサイクルによる熱放散が光合成機能を保持するために重要な働きを持つと考えられる。

次に, オルターナティブな電子伝達系について考える。 Jf/Ig の増加は, オルターナティブな電子伝達速度の相対的な増加を示す。バラ葉老化過程においては, 老化に伴って電子伝達速度 Jf は低下するが, オルターナティブな電子伝達系が相対的に増大する傾向は認められなかった (第 14 図 B, C)。このことは, バラ葉では老化に伴ってオルターナティブな電子伝達系へ流れる電子の絶対量は減少することを示している。これまでに, 老化に伴ってオルターナティブな電子伝達系の主要な代謝系である water-water cycle を構成する活性酸素消去系酵素活性が低下することがタバコ (Ohe ら 2005), クルミ (Longa ら 1994) において報告されている。また, シロイヌナズナでは, ストレス誘導性の活性酸素消去系酵素の発現が老化に伴って低下するという報告もある (Orendi ら 2001)。老化によって活性酸素消去系の活性が低下すると, 過剰光から生成する活性酸素を捕捉できず, これが光化学系にダメージを与えて老化が促進されるという仮説が提唱されている (Ohe ら 2005, Jiao ら 2003)。バラ葉老化における活性酸素消去系の酵素活性の変動は調べていないが, 老化に伴う water-water cycle 酵素活性低下による光酸化ダメージのリスクを回避するため, バラ老化葉では, オルターナティブな電子伝達系を過剰光消去系として積極的に利用する応答はみられないのかもしれない。

バラ老化後期葉では, $\Phi\text{PSI}/\Phi\text{PSII}$ は大きく増加し, PSI 循環型電子伝達が促進されていた (第 16 図)。PSI 循環型電子伝達によってチラコイド膜を介した ΔpH を形成し, 熱放散を維持していると考えられた。PSI 循環型電子伝達は ΔpH を形成できるが water-water cycle と異なり有害なラジカルを生成しないことから, 老化葉では PSI 循環型電子伝達が重要な役割を持つと考えられる。

まとめ

アーチング栽培において葉の老化にともなう光合成速度の低下は, Chl 含量の低下に先立って発生することがわかった。20/15°C (LT) で形成した葉を同一温度で管理すると, 展開後 90 日程度で展開直後の 66% 程度に光合成速度が低下した。展開後 150 日では, 展開直後の 32% に大きく低下した。LT で管理した場合でも, 展開後 90 日程度で新しい同化葉と交換するのが望ましいことがわかった。光合成速度の低下した老化した同化専用枝葉において, 光阻害は見られなかった。折り曲げ後の同化専用枝の温度管理が高温では葉の老化がより早いため, 更新時期を早める必要がある。

第 III 章 同化専用枝光合成能力の違いが切りバラ生産に与える影響の解析

1. 背景および目的

本研究は同化専用枝の NAR を高めることで切りバラの生産性や品質向上につながるのではないかと、という仮説の元で行っている。しかし, NAR を高めることが生産性に寄与するかどうかは明らかでない。そこで, 本章において実際に光合成能の異なる葉群からなる同化専用枝を仕立て, 採花枝の生育と品質にどのような影響があるのか比較し, 同化専用枝葉群の NAR を高めることが生産性向上につながるかを検証することを目的とした。

2. 方法

LT と HT で同化専用枝を形成させ, 光合成能力の異なる葉群を得た。LAI をおよそ 3 程度に一定に揃えて, 同化専用枝を仕立てた後, 同一環境下 (LT または HT) において同化専用枝を維持管理し, 採花枝の生育を調査した。同化専用枝形成後, 一部の個体を LT から HT へ, または HT から LT へ移動した。試験区は各区 12 株とした。株あたりの採花枝を 2 本にそろえるように株元の芽を整理し, 一番花の到花日数および切り花品質 (切り花長および新鮮重) を調査した。

3. 結果

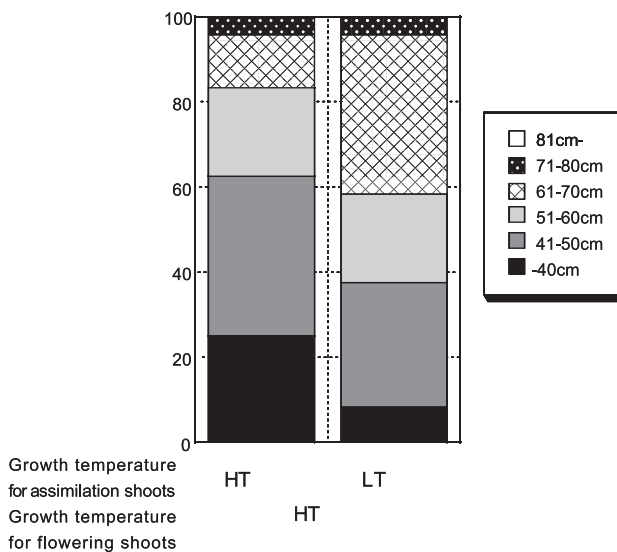
採花枝の到花日数および切り花品質は、採花枝が生育する期間の温度環境に強く依存していた(第5表)。しかし、採花期間を同一環境下で管理した試験区を比較すると、葉の光合成能の高いLTで仕立てた同化専用枝はHTで仕立てた同化専用枝に比べ採花枝の到花日数が短縮し、切り花長および切り花新鮮重が増加して切り花品質が向上した(第5表, 第17図, 第18図)。LTで同化専用枝を形成しHTで採花枝を栽培したもの(LT→HT)と、HTで同化専用枝を形成し、採花枝をHTで栽培したもの(HT→HT)とを比較すると、切り花長の長さが60cmを超えたものは、LT→HTが42%であったのに対し、HT→HTは17%であった(第17図)。HTで同化専用枝を形成しLTで採花枝を栽培したもの(HT→LT)と、LTで同化専用枝を形成しLTで採花枝を栽培したもの(LT→LT)とを比較すると、切り花長の長さが80cmを超えたものは、LT→LTが57%であったのに対し、HT→LTは30%であった(第18図)。

4. 考察

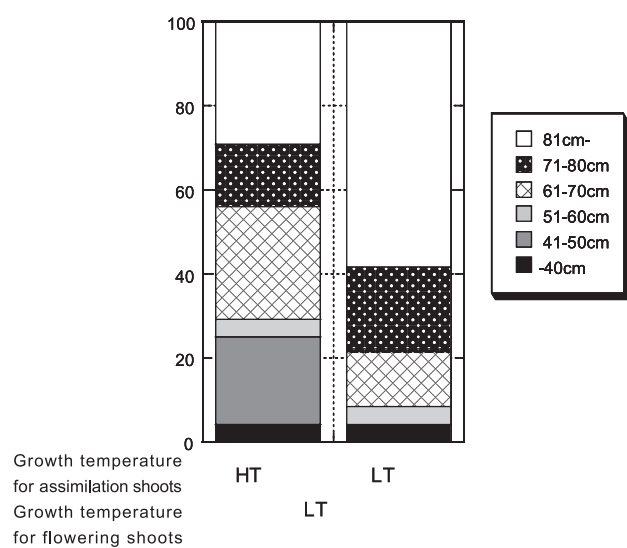
切り花品質は新鮮重が重く、切り花長が長いほど良いとされる。バラ同化専用枝葉が持つ光合成能力は、採花

枝の生育に影響する重要な因子であり、光合成能の高いLTで仕立てた同化専用枝はHTで仕立てた同化専用枝に比べ採花枝の到花日数が短縮し、切り花品質が向上することがわかった(第5表, 第17図, 第18図)。到花日数が短縮するということは採花期間が短くなることを示しており、採花サイクルの回転数が増加することから生産性が向上することが示される。これまでにアーチング栽培において切りバラ生産性向上のために同化専用枝LAIを最適化する方法が試みられ、LAIが3程度でもっとも収量、品質が良いことが報告されていた(Shimomuraら2003)。本研究において、同化専用枝葉群のNARを高めることでも切りバラ品質が向上することが明らかとなり、また生産性が向上する可能性も示された(第5表, 第17図, 第18図)。

一方、採花枝の到花日数および切り花品質は、採花枝が生育する期間の温度環境にも強く依存していた(第5表)。Morら(1979)は切り上げ方式で仕立てた場合のバラ生産において、新しい採花枝の生長が前の生長サイクルの葉の光合成産物の転流にどの程度依存するか調べた。その結果、新しい採花枝の生長は発芽から花蕾形成までは採花の際に残した葉の光合成産物に大きく依存するが、出蕾以降は採花枝自身の葉の光合成同化産物で採花枝の生育がまかなわれることを報告した。採花枝栽培温度が到花日数および切り花品質に深く関与するという本研究の結果は、採花枝の出蕾以降の生長に対して同化



第17図 HTで採花枝を栽培した場合の切り花長の分布
HTおよびLTで同化専用枝を栽培した後、HTに移した。



第18図 LTで採花枝を栽培した場合の切り花長の分布
HTおよびLTで同化専用枝を栽培した後、LTに移した。

第5表 光合成能力の異なる同化専用枝によって生産された採花枝の新鮮重合計(Total fresh weight), 切り花新鮮重(Fresh weight), 切り花長(Stem length), 到花日数(Days)

Growth temperature for flowering shoots	HT		LT	
Growth temperature for assimilation shoots	HT	LT	HT	LT
Total fresh weight (g)	471	551	1056	1577
Fresh weight (g)	20	23	44	66 *
stem length (cm)	48.5	56.7 *	64.5	83.4 *
Days	35.0	30.0 *	60.0	52.0 *

Total fresh weight は試験区 12 株から生産された採花枝 24 本の新鮮重の合計を示す。

*は採花枝栽培温度が同一の試験区間で t 検定により 5% 有意差があることを示す。

専用枝の光合成生産の寄与が採花枝自身の光合成生産に比較して低いためかもしれない。

まとめ

採花枝生育のときの温度環境は採花枝の生育に大きな影響を与え、低温で切花品質が良好となるが到花日数が長くなる特徴を示した。しかし、同一環境下では光合成能が高い葉を持つ同化専用枝の方が収穫した採花枝の切花品質が良好となり、到花日数も短縮した。採花枝生育時の温度環境に関わらず、光合成能力の高い同化専用枝を形成、維持すれば切花生産、品質が高まる可能性が示された。

摘要

- 高い光合成能力を有するバラ同化専用枝葉を形成するためには、LT の方が HT よりも適していた。
- 個葉光合成の温度馴化を見ると、大気二酸化炭素分圧下での光合成適温は LT で形成された葉では葉温 20℃ 付近、HT で形成された葉では葉温 30℃ 付近となり、栽培昼温に馴致する応答が見られた。また、LT で形成された葉では低温を含めた広い温度領域で高二酸化炭素施用効果があることが示唆された。
- 葉の老化に伴う光合成速度の減少は Rubisco 含量や窒素含量と相関が高く、Chl 含量との相関は低かった。
- 展開後の葉の窒素含量は HT で大きく低下し、折り曲げ後の同化専用枝の温度が高温であると光合成速度の低下が大きいと推察された。

○採花枝の到花日数および切り花品質は採花枝が生長する期間の温度環境に強く依存していたが、同一温度環境下で比較すると、葉の光合成能の高い LT で仕立てた同化専用枝は HT で仕立てた同化専用枝に比べ採花枝の到花日数が短縮し、切り花品質が向上することがわかった。

引用文献

- Aikin, WJ. and J. J. Hanan. 1975. Photosynthesis in the Rose; Effect of light intensity, water potential and leaf age. *J. Amer. Hort. Sci.* 100:551-553
- Amon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24:1-15
- Asada, K. 1996. Radical production and scavenging in the chloroplasts. In *Photosynthesis and the Environment*. Edited by Baker NR, pp. 123-150. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands
- Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts. scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50:601-639
- Asada, K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B* 355:1419-1431
- Badger, MR., O. Bjorkman, P. A. Armond. 1982. An analysis of photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. temperature acclimation in the desert evergreen. *Plant Cell Environ.* 5:85-99
- Beeson, RC. 1990. Ribulose 1,5-bisphosphate Carboxylase/Oxygenase activities in leaves of greenhouse roses. *J. Exp. Bot.* 41:59-65

- Berry, J and O. Bjorkman. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants., *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 31:491-543
- Bredmose, NB. 1998. Growth, flowering, and postharvest performance of single-stemmed rose (*Rosa hybrida* L.) plants in response to light quantum integral and plant population density. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123:569-576
- Clarke, J. E. and G. N. Johnson. 2001. In vivo temperature dependence of cyclic and pseudocyclic electron transport in barley, *Planta* 212:808-816
- Comic, G., N. G. Bukhov, C. Wiese, R. Bligny and U. Heber. 2000. Flexible coupling between light-dependent electron and vectorial proton transport in illuminated leaves of C₃ plants. Role of photosystem I dependent proton pumping. *Planta* 210:468-477
- Demming-Adams, B. and W. W. Adams. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:599-626
- Demmig-Adams, B., W. W. Adams, B. A. Logan and A. S. Verhoeven. 1995. Xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and flexible photosystem II efficiency in plants acclimated to light stress. *Aus. J. Plant Physiol.* 22: 249
- Demmig-Adams, B. and W. W. Adams. 1996. Xanthophyll cycle and light stress in nature. Uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta* 198: 460-470
- Demmig-Adams, B., W. W. Adams, D. H. Barker, B. A. Logan, D. R. Bowling and A. S. Verhoeven. 1996. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Physio. Plant.* 98: 253-264
- Endo, T., T. Shikanai, A. Takahashi, K. Asada and F. Sato. 1999. The role of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in photoprotection. *FEBS Lett.* 20:5-8.
- Evans, J. R. 1986. The relationship between CO₂-limited photosynthetic rate and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase content in two nuclear cytoplasm substitution lines of wheat and the coordination of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylation and electron transport capacities. *Planta.* 167:351-358
- Evans, J. R. 1989. Partitioning of nitrogen between and within leaves grown under different irradiance. *Aust. J. Plant Physiol.* 16:533-548
- Evans, J. R. and J. R. Seemann. 1989. *Photosynthesis*, edited by Briggs WR, Alan R. Liss Inc., New York, p. 183
- Field, C., H. A. Mooney. 1983. Leaf age and seasonal effects on light, water, and nitrogen use efficiency in a California shrub. *Oecologia* 56:348-355
- Genty, B., J. Briantais and N. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990:87-92
- Gilmore, A. M. 1997. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves. *Physiol. Plant.* 99:197-209
- Gonzalez-Real, M. M. and A. Baille. 2000. Changes in leaf photosynthetic parameters with leaf position and nitrogen content within a rose plant canopy (*Rosa hybrida*). *Plant Cell Environ.* 23:351-363
- Harley, P. C., F. Loreto, G. D. Marco and T. D. Sharkey. 1992. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to carbon dioxide flux by analysis of the response of photosynthesis to carbon dioxide. *Plant Physiol.* 98:1429-1436
- Hikosaka, K., I. Terashima and S. Katoh. 1994. Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia* 97:451-457
- Hikosaka, K., A. Murakami and T. Hirose. 1999. Balancing carboxylation and regeneration of ribulose-1,5-bisphosphate in leaf photosynthesis. temperature acclimation of an evergreen tree, *Quercus myrsinaefolia*, *Plant Cell Environ.*, 22:841-849
- Hirotsu, N., A. Makino, A. Ushio and T. Mae. 2004. Changes in the thermal dissipation and the electron flow in the water-water cycle in rice grown under conditions of physiologically low temperature. *Plant Cell Physiol.* 45:635-644
- Holaday, A. S., W. Martindale, R. Alred, A. L. Brooks and R. C. Leegood. 1992. Changes in activities of enzymes of carbon metabolism in leaves during exposure of plants to low temperature. *Plant Physiol.* 98:1105-1114
- Horton, P., A. V. Ruban and R. G. Walters. 1996. Regulation of light harvesting in green plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47:655-684
- Huner, N. P. A. 1985. Morphological, anatomical, and molecular consequences of growth and development at low temperature in *Secale cereal* L. cv. Puma. *Amer. J. Bot.* 72:1290-1306
- Hurry, V. M., G. Malmberg, P. Gardeström and G. Öquist. 1994. Effects of a short-term shift to low temperature and of long-term cold hardening on photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and sucrose phosphate synthase activity in leaves of winter rye (*Secale cereale* L.). *Plant Physiol.* 106:983-990
- Hurry, V. M., Å. Strand, M. Tobiæson, P. Gardeström and G. Öquist. 1995. Cold hardening of spring and winter wheat and rape results

- in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content. *Plant Physiol.* 109:697-706
- 乾 正嗣 1996. バラ溶液栽培のアーチング仕立て法における冬季の採花法が開花枝の発生特性および採花本数に及ぼす影響. *静岡農試研報* 41:25-33
- Jiao, D., B. Ji and X. Li. 2003. Characteristics of chlorophyll fluorescence and membrane-lipid peroxidation during senescence of flag leaf in different cultivars of rice. *Photosynthetica* 41:33-41
- Jiao, J. and B. Grodzinski. 1998. Environmental influence on photosynthesis and carbon export in greenhouse roses during development of the flowering shoot. *J. Amer. Hort. Sci.* 123:1081-1088
- Jordan, D. B. and W. L. Ogren. 1984. The CO₂/O₂ specificity of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Planta* 161:308-313
- Kar, M., P. Streb, B. Hertwig and J. Feierabend. 1993. Sensitivity to photodamage increases during senescence in excised leaves. *J. Plant Physiol.* 141:538-544
- Kim, S. H. and J. H. Lieth. 2003. A coupled model of photosynthesis, stomatal conductance and transpiration for a rose leaf (*Rosa hybrida* L.). *Ann. Bot.* 91:771-781
- Kingston-Smith, A. H., J. Harbinson, J. Williams and C. H. Foyer. 1997. Effect of chilling on carbon assimilation, enzyme activation, and photosynthetic electron transport in the absence of photoinhibition in maize leaves. *Plant Physiol.* 114:1039-1046
- Kitajima, K., S. S. Mulkey, M. Samaniego and S. J. Wright. 2002. Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical pioneer tree species. *Amer. J. Bot.* 89:1925-1932
- Kitajima, K., S. S. Mulkey and S. J. Wright. 1997. Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical canopy tree species. *Amer. J. Bot.* 84:702-708
- Kitajima, K., S. S. Mulkey, S. J. Wright. 2005. Variation in crown light utilization characteristics among tropical canopy trees. *Ann. Bot.* 95:535-547
- Kool, M. T. N., A. D. Westerman and C. H. M. Rou-Haest. 1996. Importance and use of carbohydrate reserves in above-ground stem parts of rose cv. Motrea. *J. Hort. Sci.* 71: 893-900
- Lambers, H. and H. Poorter. 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants. a search for physiological causes and ecological consequences. *Adv. Ecol. Res.* 23:187-260
- Lieth, J. H. and C. C. Pasian. 1990. A model for net photosynthesis of rose leaves as a function of photosynthetically active radiation, leaf temperature, and leaf age. *J. Amer. Hort. Sci.* 115:486-491
- Long, S. P., S. Humpheries and P. G. Falkowski. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45:633-662
- Longa, M. A., L. A. del Rio, J. M. Palma. 1994. Superoxide dismutases of chestnut leaves, *Castanea sativa*. Characterization and study of their involvement in natural leaf senescence. *Physiol. Plant.* 92:227-232
- Loveys, B. R., I. Scheurwater, T. L. Pons, A. H. Fitter and O. K. Atkin. 2002. Growth temperature influence the underlying components of relative growth rate. an investigation using inherently fast- and slow-growing plant species. *Plant Cell Environ.* 25:975-987
- Lu, Q., X. Wen, C. Lu, Q. Zhang and T. Kuang. 2003. Photoinhibition and photoprotection in senescent leaves of field grown wheat plants. *Plant Physiol. Biochem.* 41:749-754
- Makino, A., T. Mae and K. Ohira. 1983. Photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves. changes in photosynthesis and enzymes involved in carbon assimilation from leaf development through senescence. *Plant Physiol.* 73:1002-1007
- Makino, A., T. Mae and K. Ohira. 1984. Relation between nitrogen and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves from emergence through senescence. *Plant Cell Physiol.* 25:429-437
- Makino, A., T. Mae and K. Ohira. 1985. Photosynthesis and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in rice leaves from emergence through senescence. Quantitative analysis by carboxylation/oxygenation and regeneration of ribulose-1,5-bisphosphate. *Planta* 166:414-420
- Makino, A. and B. Osmond. 1991. Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. *Plant Physiol.* 96:355-362
- 牧野 周・前 忠彦. 1994. 化学と生物 32:409
- Makino, A., H. Nakano and T. Mae. 1994. Effects of growth temperature on the response of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, electron transport components, and sucrose synthesis enzymes to leaf nitrogen in rice, and their relationships to photosynthesis. *Plant Physiol.* 105:1231-1238
- Miyake, C. and A. Yokota. 2000. Determination of the rate of photoreduction of O₂ in the water-water cycle in watermelon leaves and enhancement of the rate by limitation of photosynthesis. *Plant Cell Physiol.* 41:335-343
- Miyake, C. and A. Yokota. 2001. Cyclic Flow of Electrons within PSII in Thylakoid Membranes. *Plant Cell Physiol.* 42:508-515
- Miyake, C., Y. Shinzaki, M. Miyata and K. Tomizawa. 2004. Enhancement of cyclic electron flow around PSI at high light and its contribution to the induction of non-photochemical quenching of Chl fluorescence in intact leaves of Tobacco plants. *Plant Cell Physiol.* 45:1426-1433

- Miyake, C., S. Horiguchi, A. Makino, Y. Shinzaki, H. Yamamoto and K. Tomizawa. 2005. Effects of light intensity on cyclic electron flow around PSI and its relationship to non-photochemical quenching of Chl fluorescence in Tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.* 46:1819-1830
- Mor, Y. and A. H. Halevy. 1979. Translocation of ^{14}C -assimilation in roses. *Physiol. Plant.* 45:177-182
- Murchie, E. H., Y. Z. Chen, S. Hubbart, S. Peng and P. Horton. 1999. Interactions between Senescence and leaf orientation determine in situ patterns of photosynthesis and photoinhibition in field grown rice. *Plant Physiol.* 119:553-563
- Nilwik, H. J. M. 1981. Growth analysis of Sweet Pepper (*Capsicum annum* L.) 1. The influence of irradiance and temperature under glasshouse conditions in winter. *Ann. Bot.* 48:129-136
- Ohe, M., M. Rapolu, T. Mieda, Y. Miyagawa, Y. Yabuta, K. Yoshimura and S. Shigeoka. 2005. Decline in leaf photooxidative-stress tolerance with age in tobacco. *Plant Sci.* 168:1487-1493
- Ohkawa, K. and M. Suematsu. 1999. Arching cultivation techniques for growing cut-roses. *Acta Hort.* 482:47-51
- Orendi, G., P. Zimmermann, C. Baar and U. Zentgraf. 2001. Loss of stress-introduced expressions of catalase 3 during senescence in *Arabidopsis thaliana* is lower in mature-senescent than in young barley leaves. *Plant Physiol.* 161:301-314
- Osmond, C. B. 1994. What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. In *Photoinhibition of Photosynthesis. From Molecular Mechanisms to the Field.* Edited by N. R. Baker and J. R. Bowler 1-24, BIOS Scientific, Oxford
- Pasian, C. C. and J. H. Lieth. 1989. Analysis of the response of net photosynthesis of rose leaves of varying ages to photosynthetically active radiation and temperature. *J. Amer. Hort. Sci.* 114:581-586
- Powles, S. B. 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 35:15-44
- 佐伯敏郎 1965. 植物の“生長解析” *Bot. Mag. Tokyo* 78:111-119
- Sage, R. E. and D. S. Kubien. 2007. The temperature response of C_3 and C_4 photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 30:1086-1106
- Schreiber, U., W. Bilger and C. Neubauer. 1994. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In *Ecophysiology of photosynthesis.* Edited by Schulze, E.D. and Caldwell M.M. pp.49-70. Springer-Verlag, Berlin.
- Shimomura, N., K. Inamoto, M. Doi, E. Sakai and H. Imanishi. 2003. Cut Flower Productivity and Leaf Area Index of Photosynthesizing Shoots Evaluated by Image Analysis in “Arching” Roses. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 72:131-133
- Smart, C. M. 1994. Gene expression during leaf senescence. *New Phytologist* 126:419-448
- Strand, Å., V. Hurry, S. Henkes, N. Huner, P. Gustafsson, P. Gardeström and M. Stitt. 1999. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* leaves developing at low temperature. Increasing cyto-plasmic volume accompanies increased activities of enzymes in Calvin cycle and in the sucrose-biosynthesis pathway. *Plant Physiol.* 119:1387-1397
- Thomas, H. and J. L. Stoddart. 1980. Leaf senescence. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31:83-111
- Ueda, Y., S. Nishihara, H. Tomita and Y. Oda. 2000. Photosynthetic response of Japanese rose species *Rosa bracteata* and *Rosa rugosa* to temperature and light. *Sci. Hort.* 84:365-371
- von Caemmerer, S. and G. D. Farquhar. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153:376-387
- von Caemmerer, S. and J. R. Evans. 1991. Determination of the average partial pressure of CO_2 in chloroplasts from leaves of several C_3 plants. *Aus. J. Plant Physiol.* 18:287-305
- Yamori, W., K. Niguchi and I. Terashima. 2005. Temperature acclimation of photosynthesis in spinach leaves. analyses of photo synthetic components and temperature dependencies of photosynthetic partial reactions. *Plant Cell Environ.* 28:536-547
- Yoo, S. D., D. H. Gree, W. A. Laing and M. T. Mcmanus. 2003. Change in photosynthetic efficiency and carotenoid composition in leaves of white clover at different development stages. *Plant Physiol. Biochem.* 41:749-754