

LED照明がキク組織培養苗の生育に及ぼす影響

浅見逸夫¹⁾・黒柳 悟²⁾

摘要：赤色、青色及び赤色と青色の混合LED照明がキク組織培養苗の生育に及ぼす影響を調査した。

培養6週後の培養苗の茎葉重と葉数は白色蛍光灯も含めて試験区による差は無かったが、茎長は赤色光で著しく伸長し、次いで青色光及び赤青混合(赤2:青1)で、白色蛍光灯が短かった。赤色光に青色光を5:1の割合で混合した場合、赤色光割合が高いにもかかわらず、培養苗の茎伸長は著しく抑えられ、赤2:青1区の茎長とほぼ同じであった。さらに青色光の割合の少ない赤11:青1区においても伸長抑制効果があった。

1日16時間照明の内、点灯時に赤色光または青色光で照明した後、消灯の2時間前または8時間前に反対色の照明に切り替えたところ、赤色光照明から消灯前2時間の青色光切り替えは強力な茎伸長抑制効果があったが、青色光照明から消灯前2時間の赤色光切り替えでは茎伸長効果がほとんど無かった。また、点灯時の青色光照明から消灯8時間前の赤色光へ切り替えでは、茎伸長効果があった。青色光照明で2週間及び4週間、生育させた後に赤色光照明へ切り替えると、節間伸長によって培養苗の茎長が急速に伸長した。逆に、赤色光照明で2週間及び4週間生育後に青色光照明へ切り替えると、伸長が著しく抑えられた。

キーワード：LED、キク、組織培養、赤色光、青色光、茎伸長

Influence of LED Lighting on the Growth of Chrysanthemum Tissue Culture Plantlets

ASAMI Itsuo and KUROYANAGI Satoru

Abstract: We investigated the influence of three different LED lighting regimes, namely, red LED (R), blue LED (B), and a mixture of red and blue LED (RB), on the growth of chrysanthemum tissue culture plantlets.

After 6 weeks of culture, we observed no significant differences in shoot fresh weights or leaf numbers of plantlets among any of the LED light treatments or the white fluorescent light (FL) control. However, we determined the highest stem lengths for plantlets grown under R, followed by plantlets grown under B and RB (2R:1B). Control plantlets had the lowest stem lengths. Under a high R:B ratio (5R:1B) lighting, stem elongation was markedly restricted, but the stem length was almost identical to that obtained under a lower R:B ratio (2R:1B). Under an R:B ratio of 11R:1B, stem elongation was similarly restricted.

When R was changed to B at 2 h or 8 h before the end of the 16-h light period, stem elongation was markedly restricted. However, when B was changed to R at 2 h before the end of the 16-h light period, stem elongation was not significantly affected. Moreover, when B was changed to R at 8 h before the end of the 16-h light period, stem elongation was increased. When B was changed to R after 2–4 weeks of culture, the stem length was markedly increased, through internode elongation. On the other hand, when R was changed to B after 2–4 weeks of culture, stem elongation was markedly restricted.

Key Words: LED, Chrysanthemum, Tissue Culture, Red Lighting, Blue Lighting, Stem Elongation

緒言

LED光は省エネルギー、環境負荷が少ない等の特徴から植物栽培光源としての期待が高まっており¹⁾、LED光源価格の低下や消費者の安全・安心志向によって植物工場の建設が相次いでいる²⁾。さらに、単色光が得られることから植物の形態形成や花成反応の研究も盛んである。

一方、植物組織培養の研究では、閉鎖型（環境完全制御型）植物工場と似た環境、すなわち空調装置のある施設内で、主に蛍光灯を光源とした多段の培養棚を設置して様々な試験や無病苗生産が古くから行われてきた。浅見と山田はキクの組織培養時に、多数の蛍光灯を点灯すると、ほぼ密閉状態である培養容器内の温度が室温より5℃程度上昇することを報告した³⁾。このことは、蛍光灯は赤外線が多い（蛍光灯の赤外線放射エネルギーの転換率が消費電力の40%、赤色LEDは0%）⁴⁾ことに起因し、培養植物の生育促進のために光量を増したり、培養容器を蛍光灯に近づけた場合、容器内温度上昇による植物への悪影響が懸念される。

そこで、培養施設のエネルギー削減目的で照明を蛍光灯からLEDに転換する際、LED光源の種類を選択するために、LED光の単色や混合色による照明、さらに1日の照射時間内や生育時期による単色光の切り替えがキク培養苗の生育に及ぼす影響を調査したので報告する。

材料及び方法

1 供試材料と共通培養条件

材料は25℃に設定した培養室内において、白色蛍光灯16時間日長で継代培養している一輪ギク品種「神馬」とスプレーギク品種「プリティララ」の培養苗を用いた。

直径40 mm高さ150 mmの円筒型ガラス製培養管内で十分に生育した両品種の幼植物を、各節の葉を葉柄基部から切除し、各節の直上部分をハサミで切断して、節毎に分割した長さ8～12 mmの茎を直径40 mm高さ150 mmのガラス培養管中の培地（1/2 MS、シヨ糖2.5%、ゲルライト0.35%、15 ml/本）に1本ずつ約3 mmの深さで挿し芽した。

培養室の設定温度は25℃、明期16時間、暗期8時間の日長サイクルで上記培養条件により試験を行った。光源は対照として白色蛍光灯（日立サンライン40 W型）を、LEDは赤色、青色、緑色の単色LEDを用いたが、ピーク波長、照射強度や照射方法は試験毎に記した。

2 共通調査項目

節ごとに分割した茎を挿し芽後、葉腋の側芽が生育した幼植物体について、元の葉腋部分から成長点までの茎長を2週間隔で測定するとともに、伸長した幼植物体の茎葉重（新鮮重）と葉数を6週後に調査した。各試験区当たり幼植物体10本を用いた。測定値は、試験区間をSceffeの方法により多重比較して有意差の有無を結果に示した。

試験1 単色光及び混合光が培養苗生育に及ぼす影響

光源は120 cm長の棒状LED（LED Flex、鍋清株式会社、名古屋）を用い、①赤色（630 nm）、②青色（470 nm）、③混合色（前出の赤色と青色が2：1になるように設置）、④白色蛍光灯（日立サンライン40 W型）を用いた。光強度（光合成有効光量子束密度：PPFD）は、光源の高さを調節することにより、培養棚面で全て60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に揃えた。

試験2 赤色光への青色光や緑色光の混合が培養苗生育に及ぼす影響

光源は単色LED（各2 W）が12個ずつ組み込まれた24 W電球形LEDランプを用いた。単色LEDは、赤色（630 nm）、緑色（525 nm）、青色（470 nm）を用いた。

1回目の試験では、①赤色12個、②赤色10個＋緑色2個、③赤色10個＋青色2個、④赤色8個＋青色4個の4種類を用いた。

2回目の試験では、①赤色12個、②赤色11個＋青色1個、③赤色10個＋青色2個、④赤色8個＋青色4個の4種類を用いた。光強度（PPFD）は、LEDランプの高さを調節することにより、全て45 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に揃えた。

試験3 1日の照明時間内での赤色光と青色光の切り替えが培養苗生育に及ぼす影響

光源は赤色（630 nm）と青色（470 nm）の120 cm長の棒状LED（LED Flex、鍋清株式会社、名古屋）を用いた。1日16時間の照明の際に、赤色光と青色光をそれぞれ16時間連続照明する区と、点灯時に赤色光または青色光で照明した後、消灯前の2時間もしくは8時間を反対色の照明に切り替える区を設けた。光強度（PPFD）は全て60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に揃えた。

試験4 2週間間隔での赤色光と青色光の切り替えが培養苗生育に及ぼす影響

光源は赤色（630 nm）と青色（470 nm）の120 cm長の棒状LED（LED Flex、鍋清株式会社、名古屋）を用いた。赤色光及び青色光を培養開始時から6週間継続して照明する区と、培養開始から赤色光や青色光で照明した後、2週間後または4週後に、反対色に切り替える区を設けた。光強度（PPFD）は全て60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に揃えた。

試験結果

試験1 単色光及び混合光が培養苗生育に及ぼす影響

「神馬」、「プリティララ」ともに赤色LED下で茎長が著しく伸長した。次いで青色光と混合色（赤2：青1）がほぼ同等で、白色蛍光灯が短かった（図1）。赤色光における茎の伸長は「プリティララ」で特に著しく、6週間後に約150 mmに達し、高さ150 mmの培養容器の蓋裏側に接したので、それ以降の調査は行わなかった（図2）。

培養6週後の茎葉重と葉数は試験区によってほとんど差は無く、ほぼ同等であった。赤色光で茎長が長かったことから、比例して平均節間長も赤色光が最も長くなった（表1）。

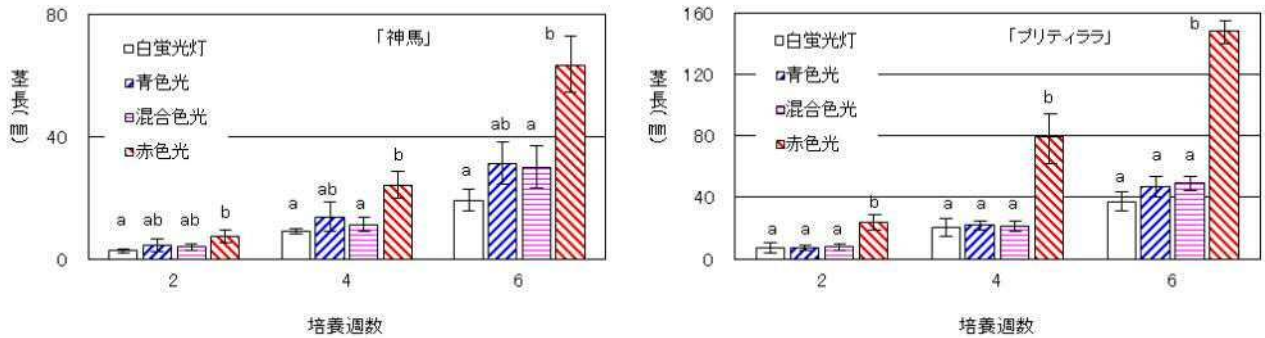


図1 異なる光源によるキク培養苗の茎長の変化

注：左「神馬」、右「プリティララ」。光強度は全て $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ とした。混合色は赤2：青1の割合。異なるアルファベット間に5%以下のレベルで有意差あり（Sceffeの方法による多重比較）。

表1 異なる光源によるキク培養苗の培養6週後の茎葉重、葉数と節間長

光源	神馬			プリティララ		
	茎葉重(mg)	葉数	節間長(mm)	茎葉重(mg)	葉数	節間長(mm)
白蛍光灯	421 (68) a	11.1 (1.1) a	1.72 (0.23) a	647 (94) a	12.6 (1.2) a	2.96 (0.39) a
青色光	442 (89) a	12.2 (0.8) a	2.59 (0.62) a	610 (64) a	12.8 (1.2) a	3.67 (0.34) a
混合光	513 (111) a	11.5 (0.8) a	2.64 (0.70) a	663 (107) a	13.1 (0.7) a	3.74 (0.25) a
赤色光	546 (66) a	11.0 (0.9) a	5.83 (1.02) b	690 (153) a	11.8 (1.6) a	12.69 (1.47) b

注：節間長は茎長を葉数で割って算出した。()内は標準偏差。混合色は赤2：青1の割合。

異なるアルファベット間に5%以下のレベルで有意差あり（Sceffeの方法による多重比較）。



図2 異なる光源による培養6週後のキク培養苗の姿

注：品種は「プリティララ」。上段が白色蛍光灯、下段が赤色LED。

試験2 赤色光への青色光や緑色光の混合が培養苗生育に及ぼす影響

1回目の試験では「神馬」、「プリティララ」とともに、赤色光に青色光を少し混合（赤10：青2）した場合、茎伸長は著しく抑えられ、赤8：青4区とほぼ同じ茎長であった。また、緑色の混合（赤10：緑2）は青色ほど伸長抑制されなかった（図3）。2回目試験で、青色割合をさらに少なくした場合（赤11：青1）でも、赤10：青2混合区の半分ほどであるが、茎伸長抑制効果があった。抑制程度は「神馬」、「プリティララ」でほぼ同じであった（図4）。

試験3 1日の照明時間内での赤色光と青色光の切り替えが培養苗生育に及ぼす影響

試験3では赤色光による茎伸長効果が高い「プリティララ」を用いた。試験1と試験2と同様に、培養2、4、6週後の茎長は常に赤色光16時間照明区が最も長く、青色光16時間照明区の6週後の茎長は赤色の半分以下であった。点灯時から青色光を14時間照明した後、消灯前2時間前から赤色光に切り替えた場合、ほとんど青色光16時間照明区の茎長と変わらず、茎伸長効果は無かった。逆に点灯時から赤色光で14時間照明の後、消灯2時間前から青色光に切り替えた場合、茎長は赤色光16時間照明区の約60%に抑えられた（図5）。

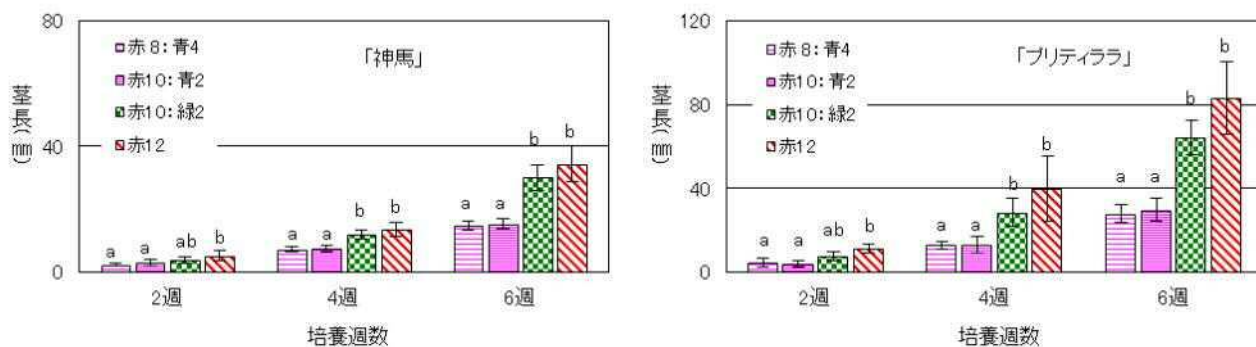


図3 赤色光に青色光または緑色光をわずかに混合した場合の茎長の変化（1回目試験）

注：左「神馬」、右「プリティララ」。光強度は全て $45 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ とした。

異なるアルファベット間に5%以下のレベルで有意差あり（Sceffeの方法による多重比較）。

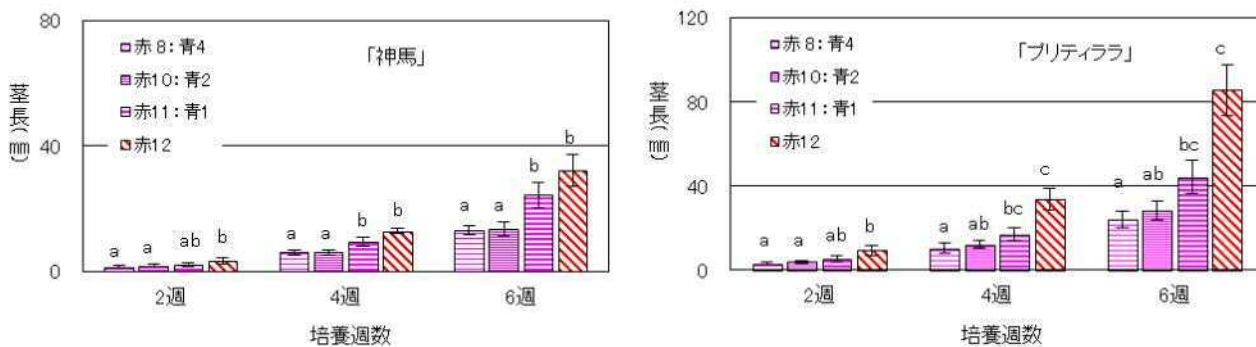


図4 赤色光に青色光または緑色光をわずかに混合した場合の茎長の変化（2回目試験）

注：左「神馬」、右「プリティララ」。光強度は全て $45 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ とした。

異なるアルファベット間に5%以下のレベルで有意差あり（Sceffeの方法による多重比較）。

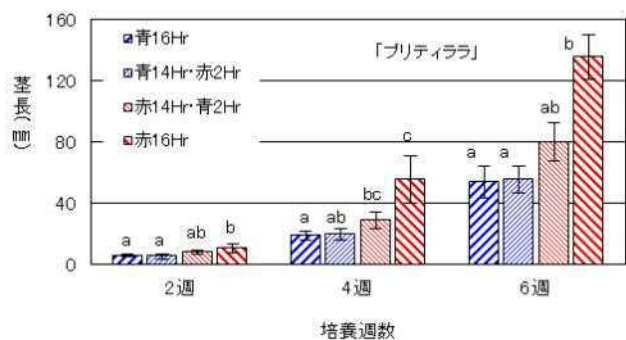


図5 1日16時間照明の消灯2時間前に青色光と赤色光を切り替えた場合の茎長の変化

注：光強度は全て $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ とした。

異なるアルファベット間に5%以下のレベルで有意差あり（Sceffeの方法による多重比較）。

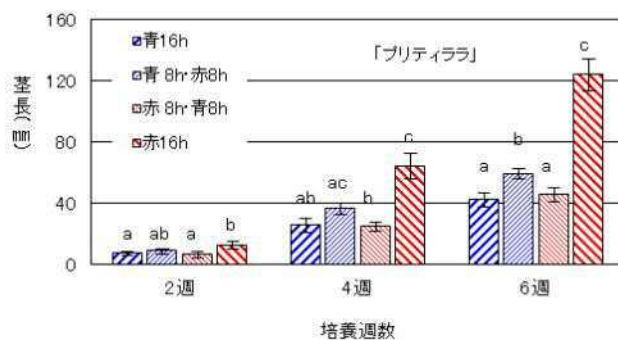


図6 1日16時間照明の消灯8時間前に青色光と赤色光を切り替えた場合の茎長の変化

注：光強度は全て $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ とした。

異なるアルファベット間に5%以下のレベルで有意差あり（Sceffeの方法による多重比較）。

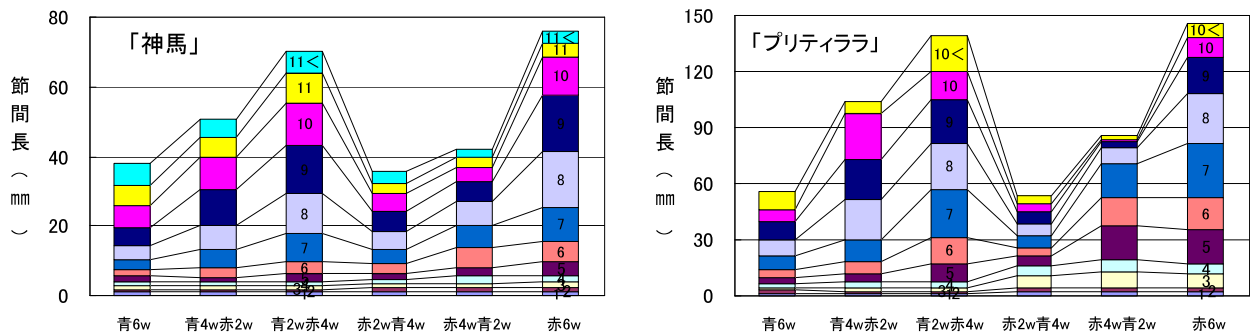


図7 2週間間隔で青色光と赤色光を切り替えた場合の培養6週後の各節の節間長

注：左「神馬」、右「プリティララ」。棒中の数字は下からの節数。

各棒グラフの下側表示は培養中の各色の照射週数(W)を示す。光強度は全て $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ とした。

また、16時間日長の内、前半と後半の8時間を赤色光と青色光を切り替えた場合、前半の8時間を赤色光照明しても、後半の8時間を青色光照明すると茎伸長が抑制され、青色光16時間照明区の茎長と差は無かった。逆に、後半8時間の赤色光照明では茎伸長効果が認められたので、同じ時間の赤色光照明ならば後半に行う方が茎伸長効果が高いことがわかった(図6)。

試験4 2週間間隔での赤色光と青色光の切り替えが培養苗生育に及ぼす影響

培養6週後の各節節間長を測定し、下からの節順に積み上げて図7に示した。「神馬」、「プリティララ」ともに、6週後の培養苗の葉数(節数)は、どの区でもほぼ同等であった。6週後の茎長は赤色光6週区が最も長く、青色光6週区と赤色光2週青色光4週区が短かった。赤色光下での「プリティララ」の茎伸長は著しく、赤色光6週区の第7節は節間が約30 mmになった。

青色光で2週及び4週、生育させた後に赤色光へ切り替えると、その後、急速に節間が伸長した。「プリティララ」の例では、青色光4週後切り替えて第8節から上位の節間が、青色光2週後切り替えては第7節から上位の節間が伸びていた。一方、赤色光から青色光に切り替えると、その後の伸長は著しく抑えられ、「プリティララ」では、赤色光2週後切り替えては第5節から上位の節間が、赤色光4週後切り替えては第7節から上位の節間が短くなった。

考 察

LEDによる赤色や青色の単色光照射が植物の茎長伸長に及ぼす影響は数多く報告されているが、花き園芸作物で分類すると、青色光で茎が伸長するのは、マリーゴールド、バラ、サルビア、ペチュニア、トルコギキョウ等であり、赤色光で伸長するのは、トレニア、シクラメン、キク等である⁵⁾。上記分類のキクの報告は実際の栽培場

面での結果⁶⁾であるが、本試験の培養環境下でも同様に赤色光で著しく伸長した。また、キク組織培養苗での種々の光源を用いた同様な試験においても、赤色光で節間伸長による著しい茎伸長と光源の違いによる葉数に差が無いことが報告されている⁷⁾。

試験1と試験2で設定した赤色光と青色光の混合については、植物工場等で最も良い照明条件を探るため、古くから混合割合が検討されている。基本的には消費電力量と光合成量の観点から赤色光を主光源として、植物の形態形成に寄与する青色光をどの程度の割合で加えるかが異なっている。試験1では、保有しているLED光源数と試験区設定の制限もあって、赤2:青1の割合で混合したが、植物工場におけるリーフレタス栽培の例では赤3:青1の割合が良く⁸⁾、培養植物を用いた試験では、シンビジウムなどの洋ラン3種、バナナ、ユーカリで赤8:青2が、イチゴでは赤7:青3の混合が最も生育が良かったと報告されている⁹⁾。

後述するが、組織培養時の光源は組織培養の目的によって求められる光源・光質が異なると予想される。スタンレー電気株式会社が技術・商品開発したバラのインビトロフラワー¹⁰⁾のように、組織培養時に特殊な波長の光を用いて花成誘導する場合を除き、多くの組織培養では栄養体の大量増殖が求められているので、細胞分裂や細胞伸長等の栄養成長への影響が重要である。また、組織培養では展開葉が容器内側に接する狭い容器内で生育することから、植物工場で生産される葉菜類のように、葉の形状等を含めた商品の善し悪しは考慮する必要はないと考えられる。

したがって、例えば茎切片からの不定芽分化によって優良個体の大量増殖を図る場合には、赤色光照明によって茎を著しく伸長させ、節間長を長くして多数の茎切片を得る利用方法が考えられる。一方、著しい茎伸長を必要としない場合には、赤色・青色の混合照明とし、赤色LEDより単価の高い青色LEDの使用数と、混合割合による茎や葉の伸長抑制効果を考慮して、設置LED割合を決める

べきであろう。

近年、EOD処理 (End of Day Treatment) と呼ばれる日没時期 (消灯前) に温度や光条件を変えて植物の種々の生育・形態反応を引き出す研究が行われ、例えばトルコギキョウ栽培での日没時の昇温処理 (EOD-Heating) と遠赤色光 (Far-Red:FR ; 700~800 nm) 照射処理 (EOD-FR) などを組み合わせた技術が実用化されている¹¹⁾。試験3で、消灯前の赤色光と青色光の切り替え照明の影響を調べたところ、消灯前の青色光照明は2時間でも強力な茎伸長抑制効果があったが、2時間の赤色光照明では茎伸長効果は認められなかった。また、点灯開始から8時間の赤色光照明でも、その後の青色光照明で茎の伸長が見られないので、点灯時からの赤色光8時間では時間不足であること、同じ赤色光8時間でも消灯前照明なら茎伸長効果があることがわかった。この結果については、通常栽培のキクにおいて、暗期に節間伸長が促進され、明期及び光中断期に抑制されることが報告されているので¹²⁾、消灯前の光質がフィトクロムやクリプトクロム等の光受容体へのシグナルとして働いて、暗期の節間の伸長・抑制を制御しているものと考えられる。

なお、遠赤色光 (FR) と赤色光 (R ; 600~700 nm) の割合 (R/FR) が花成に及ぼす影響が広く研究されている他、キクのEOD処理として、短日条件下での日没時遠赤色光照射処理 (EOD-FR) が花芽分化に影響せずに茎伸長が促進することが報告されている¹³⁾。しかし、本試験では、花成誘導を目指さないこと、狭い培養棚に光合成効率の低い遠赤色光LEDを設置するのは経済的でないことなどから、遠赤色光の試験は行わなかった。

前述のとおり、組織培養の主目的には栄養体の大量増殖があり、そのための技術として多芽体や苗条原基増殖があるが、ホルモン添加の影響等による培養変異の可能性もあることから、単純な節分割による増殖も行われている。筆者らが行っているキク苗の節分割による増殖作業では、幼植物の節間が狭いと分割が難しいので、作業効率や分割・挿し芽後の発根等の面から、節間が3mm以上あることが望ましかった。そこで、試験4のように、赤色光で下位節を伸長させることによって、「神馬」では平均2本 (下位から7節目→5節目) の茎を、「プリティララ」では4本 (同7節目→3節目) の茎を、青色光より多く得ることができた。

試験3では1日の照明時間内に単色光を切り替えるために、今回は同じ培養棚に2種類のLEDを設置して片方ずつ点灯したが、実用場面では不経済である。しかし試験4の場合には、赤色光と青色光の培養棚を別々に用意しておけば、培養開始後の一定時期に培養容器を移動すればよいので、簡単に実施できる。生育時期による赤色LED光と青色LED光、あるいは適度な茎伸長抑制効果のある赤色光に緑色光を少し混合したLED照明への切り替えによって、望ましい節間長をした培養植物体に生育させることも可能である。

今回の試験は、特殊な培養技術を用いないキク栄養体の通常培養で行なった。本試験の結果から、低消費電力であるLED光源は従来の蛍光灯から代替できること、商品

化が進んで手に入れやすい赤色や青色LEDを光源に用いる場合、光合成有効光量子束密度 (PPFD) が同じなら、単色と混合で茎葉重と葉数はほぼ同等で、節間伸長による茎長だけが変化することがわかった。これらの反応は、異なる培養目的によって使い分けられれば良く、例えば貴重な遺伝資源植物について、茎伸長を抑えて長期培養する場合にも応用できる。

引用文献

1. 雨木若慶. 農業技術体系花卉編. 農山漁村文化協会. 東京. 3, p. 226 (2007)
2. 高辻正基. 完全制御型植物工場の最新動向と今後の展望. 植物工場とその照明技術. サイエンス&テクノロジー株式会社. 東京. p. 1-13 (2009)
3. 浅見逸夫, 山田真人. キク組織培養苗の冷蔵処理による定植後のロゼット化防止. 愛知農総試研報. 41, 21-27 (2009)
4. 渡邊博之. LEDを用いた植物工場実用化の現状. アグリフォトニクス (後藤英司監修). シーエムシー出版. 東京. p. 22 (2008)
5. 雨木若慶, 平井正良. 単色光下における園芸植物の形態形成反応. アグリフォトニクス (後藤英司監修). シーエムシー出版. 東京. p. 32 (2008)
6. Zhiyu, M., Shimizu, H., Moriizumi, S., Miyata, M., Douzono, M. and Tazawa, S. Effect of light intensity, quality and photoperiod on stem elongation of Chrysanthemum cv. Reagan. Environment Control in Biology. 45, 19-25 (2007)
7. Kim, S., Hahn, H., Heo, J. and Paek, K. Effects of LEDs on net photosynthetic rate, growth and leaf stomata of chrysanthemum plantlets *in vitro*. Scientia horticulture. 101, 143-151 (2004)
8. Furuyama, S., Ishigami, Y., Hikosaka, S. and Goto, E. Effects of blue/red ratio and light intensity on photomorphogenesis and photosynthesis of red leaf lettuce. Acta Hort. 1037, 317-322 (2014)
9. 田中道男. 赤色/青色発光ダイオード (LED) 光源を用いたマイクロプロパゲーション. アグリフォトニクス (後藤英司監修). シーエムシー出版. 東京. p. 81-88 (2008)
10. 森康裕, 高辻正基, 原田順二. 種々の波長のLEDとLD光がバラの生育と開花に及ぼす影響. レーザー研究. 33, 537-541 (2005)
11. 久松完. EOD反応を活用した施設生産花きの効率的生産技術. 農業電化. 64(5), 11-16 (2011)
12. 馬稚昱, 清水浩, 森泉昭治, 宮田真智子, 道園美弦, 田澤信二. 明期、暗期及び光中断期におけるキクの節間伸長量の画像解析. 植物環境工学. 18, 65-71 (2006)
13. 清水浩, 久松完. 画像計測システムを用いた明期終了時の短時間遠赤色光照射によるキクの伸長成長解析. 植物環境工学. 19, 203-207 (2007)