

日長がデンドロビウム (*Dendrobium Ekapol* cv. Panda) の Crassulacean Acid Metabolism 型光合成に及ぼす影響*

関塚 史朗・野瀬 昭博**・川満 芳信・

村山 盛一・有隅 健一***

(琉球大学農学部・***鹿児島大学農学部)

1994年6月6日受理

要 旨: デンドロビウム (*Dendrobium Ekapol* cv. Panda) の Crassulacean Acid Metabolism (CAM) 型 CO₂ 交換に及ぼす日長の影響を調べた。日長処理として長日、短日及び中日の3区を設定し、長、短日区は各々16及び10時間日長のグロースキャビネット内で57~60日間生育させた後、個葉のガス交換を調査した。中日区は自然日長下で生育させ、日長が12時間に達した時に調査を開始した。その結果、デンドロビウムはいずれの日長条件下でもCAM型CO₂交換を示す固定的なCAM植物であった。CAM型CO₂交換の日変化における各PhaseのCO₂収支量は、日長条件により変化した。短日条件ではPhase1が、長日条件ではPhase2と4のCO₂収支量が増加した。1日の総CO₂収支量は中・短日条件下で高く、また測定葉のリンゴ酸含量の日変動幅が大きかった。葉のホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性は、日長処理の影響が認められなかったが、リンゴ酸に対するホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの感受性は、Phase4からPhase1の前半にかけて処理間差が認められ、その時期で得られたCO₂交換速度の違いと密接に関連するものと推察された。

キーワード: 拡散伝導度, CAM型光合成, デンドロビウム (*Dendrobium Ekapol* cv. Panda), 日長, ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ, リンゴ酸感受性。

Effects of Day Length on Gas Exchange Characteristics in Crassulacean Acid Metabolism Plant, *Dendrobium Ekapol* cv. Panda: Fumiaki SEKIZUKA, Akihiro NOSE, Yoshinobu KAWAMITSU, Seiichi MURAYAMA and Ken-ichi ARISUMI*** (College of Agriculture, University of the Ryukyus, Okinawa 903-01, Japan; *** Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Kagoshima 761-07, Japan)

Abstract: Effects of growth day length on gas exchange characteristics were investigated in a crassulacean acid metabolism (CAM) plant, *Dendrobium Ekapol* cv. Panda. Long (16h) and short (10h) day lengths were treated for 57 to 60 days in a growth chamber set at day/night temperatures of 30/25°C. As a control, plants were grown under natural conditions (light period was 12h). The data showed that the diurnal CO₂ exchange of *D. Ekapol* was classified as typical crassulacean acid metabolism type, an obligate CAM. The CO₂ balance of each phase was affected by the day length treatments. The CO₂ balances of short-day-length grown plants were increased in phase 1, whereas those of long-day-length grown plants were increased in phases 2 and 4. The CO₂ balance of whole day and diurnal malate fluctuation was increased in natural and short-day-length grown plants. The activity of phosphoenolpyruvate carboxylase did not response to the day length treatments. However, susceptibility of phosphoenolpyruvate carboxylase to malate was detected clearly in phase 4 and at the beginning of phase 1 under different day length. It was suggested that the difference between treatments was related to the changes in the CO₂ exchange rate in those phases.

Key words: Crassulacean acid metabolism, Day length, *Dendrobium Ekapol* cv. Panda, Leaf conductance, Malate susceptibility, Phosphoenolpyruvate carboxylase.

ファレノプシスタイプのデンドロビウム (ラン科デンドロビウム属の種間雑種の一群、通称デンファレ) は、切り花および鉢物用の花き園芸作物である。沖縄には1983年頃導入され、現在切り花生産では全国一まで成長し、重要な作物となっている。デンファレは台風能耐得るような重装備の施設内で栽培されているが、成長が極めて遅く、春季シュート(リードバブル)が萌芽してから採花できるまで5.5~8ヶ月を要し、生長促進による生産性の向上が望まれ

ている。また、デンファレはバルブが完成すれば、特別な環境条件は必要なく花芽を形成することが知られており、この意味からも生長促進・物質生産構造の解明は重要であると考えられる。筆者ら¹⁾は、個葉のガス交換の測定からデンファレの代表種である *Dendrobium Ekapol* cv. Panda がCAM植物であることを報告した。現在、最大の生長速度が得られる好適生育環境条件を明らかにするため、様々な環境条件下でガス交換を調査している。

CAM型CO₂交換は1日を通して特徴的な推移を示すことから、これに対する環境要因に影響を調

* 大要は第197回講演会(1994年4月)において発表。

** 現在、佐賀大学農学部。

査した研究は多い。それらの報告によると、CAM 植物は環境条件により CAM が誘導される可塑的 CAM 植物と、いかなる環境条件でも CAM が維持される固定的 CAM 植物に類別される。可塑的 CAM における CAM 誘導因子は、水ストレスや塩ストレス及び個体の齢が挙げられ、加えて日長条件も CAM 発現にとって重要な因子であることが報告されている^{1,2)}。ペニベンケイやナガベンケイは、長日条件下では C_3 型の CO_2 交換を行うが、短日条件に移すと 7 日間の lag phase を経て CAM 型の CO_2 交換を示すようになり、短日下 60 日目前後には CO_2 交換は最も活発になる。この時 CAM 型光合成に必要な酵素の発現と活性化が同調する²⁾。

一方、固定的 CAM においては日長条件は CO_2 固定量を増減させる要因であり、短日条件で CO_2 呼吸量が増加するもの^{1,6,7,12)}、長日条件で増加するもの^{3,5,13)} と、種によって異なった反応を示す。

野瀬^{6,8)} は、日長時間を光強度とともに葉面が受ける明期の光合成有効放射量を決定する因子として位置づけ、パインアップルを用いて明期の光強度を違えることにより日長処理間で 1 日の光合成有効放射量が等しくなる条件下で CO_2 交換特性を調査した。その結果、処理区間で 1 日の光合成有効放射量を等しくした場合でも、長日に比較して短日条件において CAM 性が増加したことから、固定的 CAM においても日長条件は CAM 型光合成を促進すると結論づけている。一方、Nobel^{4,5)} は野瀬と同様な設定で、*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. における日長の影響を検討したところ、長日条件下で Phase 1^{注)} の CO_2 吸収速度が増加するという結果を得ている。そして、日長は 1 日に葉面が受ける光エネルギー量を決めるだけの因子であると結論づけている。

デンファレは、日長条件が異なっても固定的な CAM を示すものと予想されるが、 CO_2 吸収量や CAM 性が日長によりどのように影響されるか不明である。本研究では、野瀬ら⁸⁾ 及び Nobel⁵⁾ の方法に従って光条件の設定を行い、デンファレにおける日長と CAM の関係を検討した。

材料と方法

D. Exapol cv. Panda を 1992 年 3 月に水ゴケを培地として素焼鉢 (直径 10.5 cm 深さ 9 cm) に植え付け、日長処理開始まで約 60% 遮光したガラス室内で栽培した。施肥は週 1 回の頻度で 2000 倍希釈の液肥 (住友 2 号, N:P₂O₅:K₂O=10:5:8%) を 100 ml/と与えた。

日長処理として、長日、短日及び自然日長の 3 区を設定した。長・短日処理はグロースキャビネット (日本医科機械, HTP-1000) 内で行い、長日区 (LD) の明期は人工光により 6 時から 22 時までの 16 時間、暗期は 8 時間に設定した。短日区 (SD) は明期を 7 時から 17 時までの 10 時間、暗期を 14 時間とした。光源は陽光ランプ (東芝, D 400-C) を用い、植物体頂部で約 $325 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光強度となるよう調節した。温度条件は明期を 30°C、暗期を 25°C に設定した。自然日長区はガラス室内にて 2×2 mm メッシュのダイオネット遮光下 (平均気温 26~28°C) で育成した材料を用いた。長日区は 1992 年 7 月に、短日区は 8 月に処理を開始した。

ガス交換の測定は、長日区は処理後 57 日目に、短日区は処理後 60 日目に、自然日長区は 9 月に行った。なお、自然日長区の測定期間中に日長はほぼ 12 時間であったので、この区を中日区 (ND) とした。測定期間中の長・短日区の日長条件は処理期間と同様にし、中日区は明期を 6 時 30 分から 18 時 30 分の 12 時間とした。

CO_2 交換の測定は、リードバブルの最上位完全展開葉あるいはその 1 葉位下の葉を用い、赤外線 CO_2 分析計 (島津製作所, URA-106 及び 107 型) を用いた通気式同化箱法で行った。同化箱 (アクリル製, 幅×奥行×高さ=35×18×12 cm) に 2 枚の葉をセットし、測定株及び同化箱は同化箱温度と同様に温度設定をしたキャビネット内に設置した。同化箱内にはラジエーターとファンを取り付けた。蒸散速度の測定は、同化箱の出入口の湿度を相対湿度計 (バイサラ社, HMP111Y) で測定し求めた。葉の拡散伝導度は、葉温と気温及び蒸散速度から算出した。葉温は被測定葉の裏側に直径 0.1 mm の銅・コンスタンタン熱電対を密着して測定した。同化箱内の温度は明期 $29.8 \pm 0.7^\circ\text{C}$ 、暗期 $24.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に維持した。光源は陽光ランプを用い、測定葉が実際に受けた光合成有効放射量については第 1 表に示した通りである。各光条件下で 3 日間連続測定し、最終的のデー

注) Osmond⁹⁾ は、CAM 型 CO_2 交換速度の日変化を 4 つの相 (Phase) に分類した。すなわち、 CO_2 交換が盛んに行われる暗期を Phase 1、引き続き CO_2 交換が行われる明期始めを Phase 2、気孔を閉鎖し CO_2 交換が停止する明期の時間帯を Phase 3、再び CO_2 交換が開始される明期後半の時間帯を Phase 4 と類別した。

Table 1. Total daily photosynthetic active radiation (PAR) in gas exchange experiments.

Exp. block	Mean incident PAR ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)					
	700	585	440	357	270	112
LD	45.5*	33.7	25.3	20.6	15.6	6.5
ND	30.2	26.1	20.0	15.8	11.9	5.0
SD	25.2	19.4	15.5	13.2	9.7	4.4

* $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$; LD, long day length (16hr); ND, natural day length (12hr); SD, short day length (10hr).

タを結果として採用した。1 処理区 3 反復とした。

ガス交換の測定終了後、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEPCase) の活性とリンゴ酸含量、クロロフィル含量を測定した。サンプルの採取時刻は第 2 表に示した通りである。試料は精秤後速やかに液体窒素中で固定し、その後 -45°C で保存した。

試料は氷冷した試験管内で 5 ml の抽出用緩衝液¹⁵⁾ (0.2 M Bicine-KOH pH 8.2, 0.2 mM Etylendiamine-tetra acetic acid, disodium salt, 0.5 mM Dithiothreitol, 2 mM ヨード酢酸) を用いて、ホモジナイザーにより 20 秒間で磨砕した。磨砕液は一重のミラクロスで濾過し濾液を抽出液とした。抽出液の 2 ml をリンゴ酸に、1 ml をクロロフィルに、残りを PEPCase 活性の定量に使用した。PEPCase の活性定量は分光光学的測定法によった。すなわち、15 秒間遠心 (12,000 rpm) した抽出液上澄 0.1 ml を反応液に加えて反応を開始させ、340 nm の吸収度変化から活性を求めた。反応液の組成¹⁵⁾ は、25 mM Bicine-KOH, 25 mM MES-KOH, 25 mM MOPS-KOH (pH 8.5), 5 mM MgCl_2 , 2 mM NaHCO_3 , 0.1 mM Nicotinamide adenine dinucleotide (還元型), 10 units Malic dehydrogenase, 2 mM Phosphoenolpyruvate である。なお、リンゴ酸による PEPCase 活性阻害の程度を見るために、反応後にリンゴ酸を 2 mM 添加した区と無添加区を設け、PEPCase の活性を前述同様に測定した。

Winter^{15,16)} は、抽出後の PEPCase の特性変化を CAM 化したアイズプラントを用いて調査し、調査 5 分以降 PEPCase のリンゴ酸感受性が急激になくなること認めている。また、抽出液の脱塩処理についても検討し、抽出後 3 分以内であれば非脱塩抽出液中における低分子の混在も PEPCase のリンゴ酸反応特性に影響を及ぼさないことを明らかにしている。このような報告に基づき、本研究においては脱

Table 2. Sampling time for analyzing PEP Carboxylase and malate content.

Exp. block	Sampling time				
	LS	P-3	P-4	DS	P-1
LD	7:00	12:00	21:00	23:00	2:00
ND	7:30	12:00	17:30	19:30	2:00
SD	8:00	12:00	17:00	18:00	2:00

LS, 1 hr after light on in Phase 2; P-3, Phase 3; P-4, at peak of CO_2 influx rate in Phase 4; DS, 1 hr after light off; P-1, at peak of CO_2 influx rate in Phase 1. LD, long day length; ND, natural day length; SD, short day length.

塩処理を行わない粗抽出液を用いて、PEPCase の活性及びリンゴ酸感受性を抽出後 2 分以内で測定した。

リンゴ酸含量の定量は、抽出液 2 ml に 5% HClO_4 を 1 ml 加え冷凍保存 (-45°C) し、後日 KOH を加えて中和 (pH 5.5) した後、有機酸分析システム (島津製作所; LC-6A, CDD-6A) により測定した。クロロフィル含量の測定は、Arnon の方法¹⁷⁾ に従った。

結 果

1. 日長がガス交換の日変化パターンに及ぼす影響

いずれの日長条件下においてもデンファレの CO_2 交換は、暗期と明期の始め、明期の後半に吸収が見られる CAM 型光合成特有のものであり、その CO_2 交換の日変化は 4 つの phase に分けることができた。第 1 図は 3 種類の日長下で明期の平均光強度を $357 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ に揃えた時の CO_2 交換の日変化を、第 2 図は平均光強度を変え 1 日の光合成有効放射量を $25 \sim 26 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ に揃えた場合の日変化である。1 日の最大 CO_2 吸収速度は中・短日区では Phase 1 で、長日区では Phase 1 と 2 で観察され、その値は各日長条件ではほぼ同様であった。 CO_2 交換に対する日長の影響を各 Phase ごとに見ると、Phase 2 の最大 CO_2 吸収速度は日長が長くなるにつれて高くなり、その継続時間も長くなった。Phase 4 の最大 CO_2 吸収速度は長・中日区で高く、その期間は長日区で長くなった。中・短日区では Phase 4 から Phase 1 に移る時に CO_2 吸収の抑制が観察されたが、長日区においては認められなかった。また、短日区では Phase 1 の終わりに CO_2 吸収速度が大きく低下したが、中・長日区ではその低下

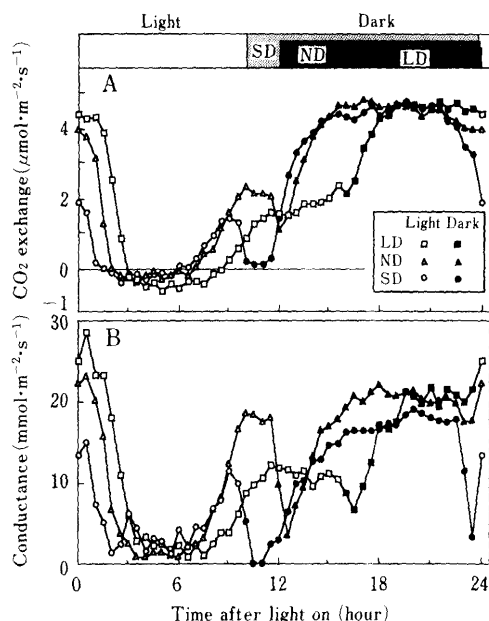


Fig. 1. Effects of day length on diurnal CO_2 exchange rate (A) and leaf conductance (B) at $357 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ of photosynthetic active radiation (PAR) in *D. Ekapol* cv. Panda. LD, long day length; ND, natural day length; SD, short day length. Open and closed symbols indicate under light and dark conditions, respectively.

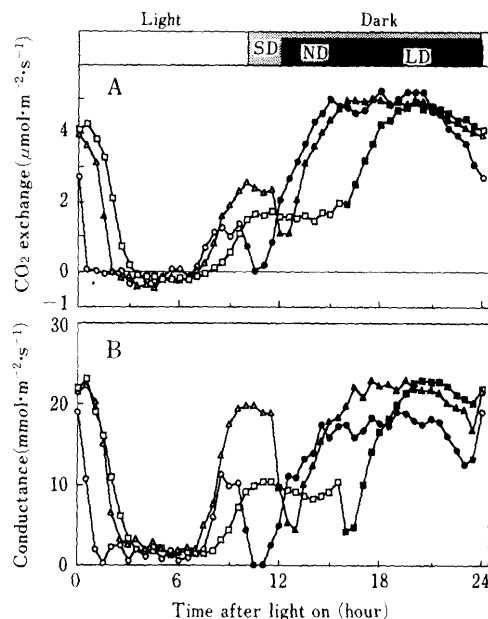


Fig. 2. Effects of day length on diurnal CO_2 exchange rate (A) and leaf conductance (B) at $25\text{--}26 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ of PAR in *D. Ekapol* cv. Panda. See Fig. 1 for the symbols.

は小さかった。このように CO_2 交換速度の日変化は、日長条件の違いにより大きく変化した。日長処理間の CO_2 交換の日変化の違いは $270 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上の光強度においても、また、光強度を変えて1日の光合成有効放射量を等しくした場合でもほぼ同様に認められた。

葉の拡散伝導度も、いずれの日長区においてCAM型光合成特有の日変化を示し、各Phaseに日長処理の影響が認められた(第1, 2図)。Phase 1及び2において、拡散伝導度は中・長日区に比較して短日区は低い値で推移し、Phase 4においては中日区で著しく大きくなった。このような拡散伝導度の日変化での処理間の違いは、明期の平均光強度を等しくした場合、または光強度を違えて1日の光合成有効放射量を等しくした場合でも同じ結果であった。拡散伝導度は気孔開度のパラメーターとなることから、気孔開度の1日の推移は日長条件により異なるものと考えられる。

第3図は明期の平均光強度を $357 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ に設定した時の拡散伝導度と CO_2 吸収速度の関係をPhaseごとに見たものである。いずれのPhaseに

おいても拡散伝導度が大きくなるにつれて CO_2 吸収速度が増加し、両者の関係に日長条件による違いは認められなかった。Phaseごとに検討すると、Phase 1の CO_2 吸収速度は拡散伝導度が $17\text{--}20 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ で定常値になる飽和型曲線となったが、Phase 2と4では直線的に増加した。Phase 1の初期勾配はPhase 2と4に比較して大きかったが、これは、各々のPhaseで優先的に働いている CO_2 固定酵素の CO_2 に対する親和性の違いによって生じているものと考えられる。

2. 日長が CO_2 収支とCAM性に及ぼす影響

CO_2 吸収量から CO_2 放射量を差し引いた値を CO_2 収支量とした。1日及びPhase 1, 2, 4での CO_2 収支量は、いずれの日長条件下においても明期の光合成有効放射量が増えると増加し、 $10\text{--}15 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ で定常値に達した(第4図)。各Phaseで得られた定常値には日長条件による差が認められた。Phase 1の CO_2 収支量の定常値は、短日、中日、長日の順で低下し5%水準で有意な差が生じた。Phase 2と4では逆に長日、中日、短日に順に CO_2 収支量の定常値が有意に低下した。1日当たりの CO_2 収支量としては、長日区の定常値が中・短日区に比較して有意に少なかった。長日区の CO_2 収支量は、短日区と比較して暗期で減少した分を明期で減

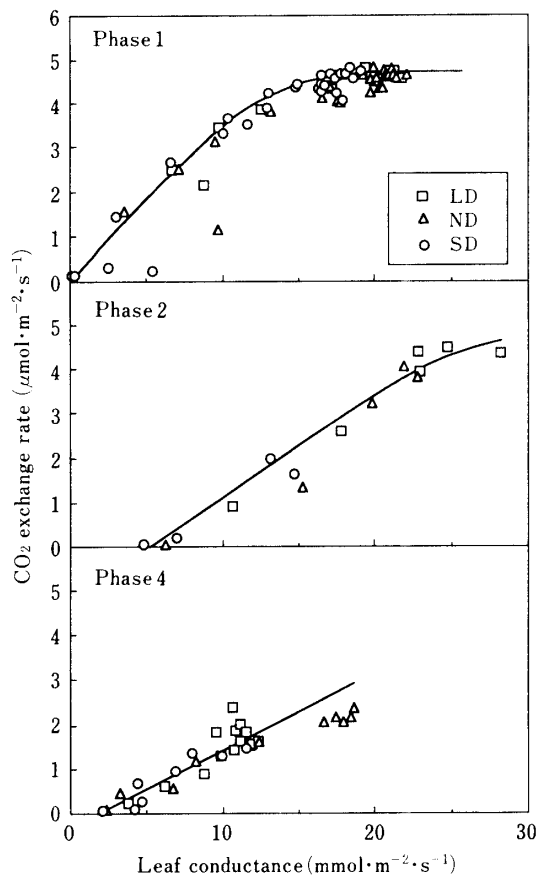


Fig. 3. Effects of day length on the relationship between CO_2 exchange rate and leaf conductance in different phases in *D. Ekapol* cv. Panda. LD, long day length; ND, natural day length; SD, short day length.

少しの分を明期で補う形になったが、1日当たりの CO_2 収支量としては中・短日区よりも減少した。

1日の総 CO_2 収支量に占める暗期の CO_2 収支量の割合を示す CAM 性^{6,7,8)} は、いずれの日長条件下でも光合成有効放射量が高くなるにつれ急激に低下し、 $10 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{day}^{-1}$ 付近で定常値に達した (第5図)。定常値は日長が長い程低くなり、短日区の定常値は約 90%、中日区は約 80%、長日区は約 60%であった。

3. 日長がリンゴ酸含量と PEPCase 活性の日変化に及ぼす影響

CAM 植物は夜間吸収した CO_2 を有機酸として葉肉細胞の液胞に蓄え昼間消費するため、有機酸含量の日変化が生じる。変動する有機酸としてはリンゴ酸やクエン酸が知られている。デンファレでも有機酸含量の日変化が認められ、変化する有機酸はリンゴ酸であった (第6図-A)。単位クロロフィル当りのリンゴ酸含量はいずれの日長条件下においても

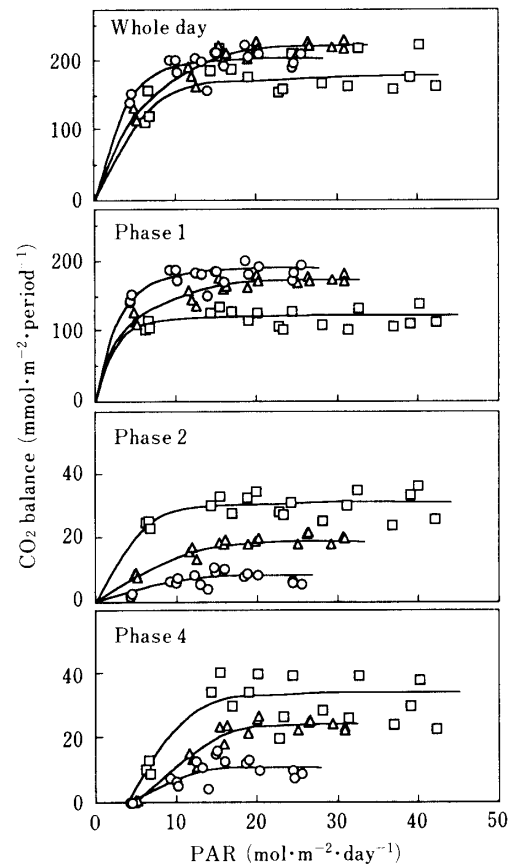


Fig. 4. Effects of day length on the relationship between CO_2 balance and PAR at different phases in *D. Ekapol* cv. Panda. See Fig. 3 for the symbols. There are significantly different at steady state at 5% levels among the day length treatment in each phase (F-test).

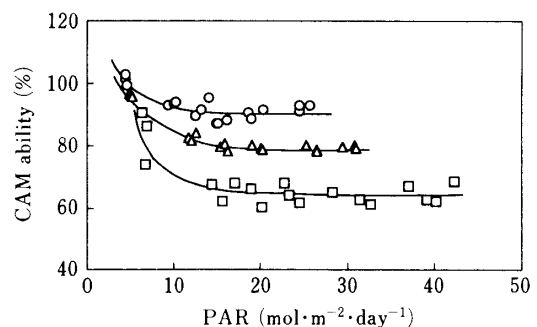


Fig. 5. Effects of day length on the relationship between CAM ability and PAR in *D. Ekapol* cv. Panda. See Fig. 3 for the symbols. CAM ability means the ratio of CO_2 balance at phase 1 to those of whole day.

CAM 型特有の日変化を示した。リンゴ酸含量の最大値はいずれの日長下でも Phase 2 で得られ、最小値は中・長日区は Phase 4 で、短日区は Phase 1 始めに認められた。最小値は日長条件による差が小さ

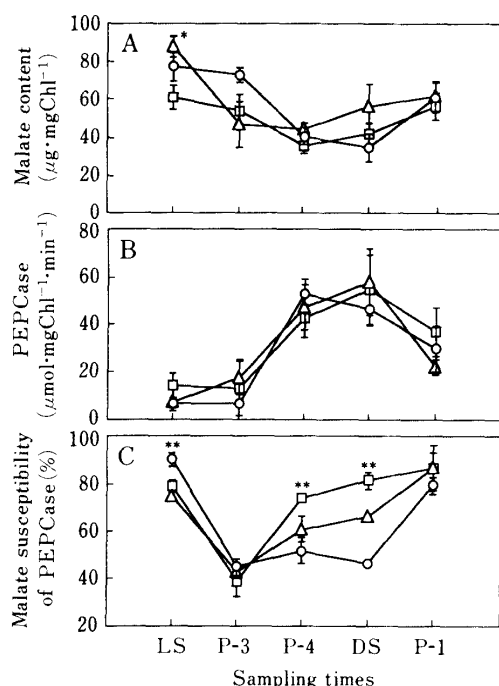


Fig. 6. Effects of day length on malate content (A), phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCase) activity (B) and malate susceptibility of PEPCase (C). See Table 2 for the sampling time. ** and * indicate significantly different at 1% and 5% levels (F-test), respectively. See Fig. 3 for the symbols. Malate susceptibility of PEPCase means the ratio of the activities with 2mM malate to those without malate.

かったが、最大値は長日区が中・短日区に対して有意に小さく、長日区ではリンゴ酸含量の日変動幅が小さかった。なお、各日長のクロロフィル含量は、長日区 0.31 ± 0.04 ，中日区 0.13 ± 0.07 ，短日区 $0.33 \pm 0.06 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$ というように、処理間に差は認められなかった。

第6図-BはPhase 1のCO₂固定酵素であるPEPCaseの活性に対する日長の影響を示した。PEPCase活性はいずれに日長条件下でもPhase 2と3で低く、Phase 4からPhase 1始めにかけて最大値に達し、Phase 1半ばにおいて低下するという日変化を示した。活性はPhase 2において長日区が中・短日区に比較して高かったが、いずれのPhaseにおいても有意差はなかった。PEPCaseの活性が3日長区ともPhase 1半ばで低下している現象は、CO₂吸収速度の日最大値の大小にPEPCaseが直接関係していないことを示している。

PEPCaseはアロステリック特性を有し、反応生成物質であるリンゴ酸によるフィードバック阻害を受

ける。CAM植物では、PEPCaseのリンゴ酸に対する感受性が日変化することが報告されている^{14,15,16}。すなわち、明期でPEPCaseは少量のリンゴ酸によって大きな活性阻害を受けるが、暗期ではリンゴ酸による活性阻害が小さくなる。

デンファレのPEPCaseにおけるリンゴ酸感受性の日変化を見たのが第6図-Cである。リンゴ酸に対する感受性は、PEPCaseの活性測定用の反応液に2mMリンゴ酸を共存させた場合とさせない場合との活性値の比率で表した。デンファレにおけるリンゴ酸によるPEPCase活性阻害は、Phase 3で強くPhase 1から2にかけて弱いという変化、換言すればPhase 3で感受性が高くPhase 1から2にかけて低いという日変化が認められた。日長条件による感受性の有意な違いは、Phase 2とPhase 4からPhase 1始めにかけて認められた。Phase 2では短日区が他の日長に比べ感受性が低かった。Phase 4からPhase 1始めにかけては、長日区がPhase 4の時点で既にPhase 1と同等の低感受性に達していたのに対し、短日区ではPhase 1始めまでPhase 3と同じ高感受性を維持するという違いがあった。この期間の中日区は短日と長日区の間値で推移し、日長条件による違いが顕著に認められた。

考 察

日長はデンファレのCAM型光合成に影響を及ぼし、1日当りのCO₂固定量は中日及び短日条件で増加することが明らかとなった(第1, 2, 4図)。各日長下での特徴として、短日条件ではPhase 1のCO₂吸収量が増加し、長日条件ではPhase 2と4のCO₂吸収が活発になることが明らかになった。従って、CAM性においては日長処理間差が顕著に現れ、日長が長くなる程CAM性は低下し(第5図)、短日条件下でCAM化が促進されることが明らかとなった。リンゴ酸含量の日変動幅においても処理間差が認められ、長日と比較して中・短日で大きくなった(第6図)。これは、Phase 1のCO₂収支量の日長処理間差と一致した。しかしCO₂固定酵素であるPEPCaseの活性には日長に影響が認められなかった。

野瀬ら^{6,7)}は、日長は固定的CAMにおいてもCAM型代謝を制御する因子として位置づけ、Nobel^{4,5)}は、Phase 1のCO₂吸収量と1日の光合成有効放射量との関係から日長とCAMとの関係はエネルギー論的に整理できるものであると考えている。本報でもこの点について考察してみたい。デン

ファレの場合、日長処理間に1日当たりの光合成有効放射量を等しくした時でも、Phase 1のCO₂収支量は短日条件下で増加し、短日区のCO₂収支量の定常値は長日区の1.5倍以上になった。これは、日長が長くなることによる光合成有効放射量の増加が、Phase 1のCO₂収支量の増加には結びつかないことを示している。つまり、この結果は、デンファレでは日長とCAMとの関係が単純なエネルギー論で成り立たないことを示している。デンファレにおいて日長は、パインアップルと同様に、本質的なCAMの制御に関係している因子であると考えられる。しかし、日長処理を60日間前後行っても、可塑的CAM植物で報告²⁾されているようなPEPCase活性の増加は認められなかった。

また、パインアップルの結果と異なる点もいくつか示された。一つは、Phase 1の最大CO₂交換速度がパインアップルでは短日条件で増加した^{6,8)}のには対し、デンファレでは処理間で差が認められなかったことである。これは、パインアップルでは気孔抵抗やCO₂固定酵素の活性が日長処理間で異なったが、デンファレでは同じであったことに関係しているものと考えられる。二つめは、Phase 1のリンゴ酸蓄積量においてパインアップルでは日長処理間差が認められなかった^{6,8)}が、デンファレでは短日条件で多くなったことである。*Peperomia camptotricha*では、生育中の日長条件の違いは葉の断面形態に違いをもたらす、短日では葉肉細胞の容量が大きくなるなることが報告¹²⁾されている。デンファレにおけるリンゴ酸蓄積量が日長処理間で異なったことは、貯蔵容量が変化したことによるものかも知れない。このように、同じ短日条件下でCAM性が高くなる植物においても、その反応の様式には違いがあるものと考えられる。

本報では、リンゴ酸に対するPEPCaseの感受性に日変化があることが認められた(第6図-C)。Winter^{15,16)}はアイスプラントにおいて、リンゴ酸に対するPEPCaseの感受性には昼間と夜型であることを報告している。この感受性の日変化は、CAM光合成の機作において中心的役割を果たしていると言われて⁷⁾。すなわち、夜間はPEPCaseが生成物質のリンゴ酸により阻害を受けない感受性の低い状態になることで活発にリンゴ酸を生成でき、昼間は感受性が高い状態にあることにより脱カルボキシル化により葉内で放出されたCO₂を再固定しないようになっているというものである。デンファレでもPEP-

Caseのリンゴ酸感受性の変化が、1日のCO₂交換速度の日変化を制御していることが示唆された。

さらに、PEPCaseのリンゴ酸感受性に日長の影響が認められた。すなわち、長日条件のPEPCaseはPhase 4で既に夜型に近い感受性を有していたが、逆に短日条件ではPhase 1初期においても昼型に近い状態にあったことである。Winter¹⁵⁾はアイスプラントにおいて、Weddingら¹⁴⁾は*Crassula*で抽出したPEPCaseの昼型の維持にはリンゴ酸に共存が必要であると報告している。本研究では、リンゴ酸含量の日最低値は日長処理間で違いは確認できなかったが、長日条件は短日条件に比較して暗期に蓄積されたリンゴ酸含量が少ないことから、脱カルボキシル化により低レベルのリンゴ酸含量に早く到達するものと考えられる。同時に、低いリンゴ酸含量が葉内で継続する時間帯、つまりPhase 4の長さも長い。従って、PEPCaseはより長い時間低いリンゴ酸濃度条件下に保たれているものと予想される。すなわち、長日区のPhase 4で観察されたPEPCaseのリンゴ酸感受性の変化は*in vivo*において低いリンゴ酸含量が長い時間にわたって続いたために生じたのかも知れない。逆に短日区では細胞質内の低いリンゴ酸含量の時間帯が短かったために、Phase 1始めまで昼間の感受性が維持されたのかも知れない。

以上のようなPhase 1初期のリンゴ酸に対するPEPCaseの感受性の日長処理間差は、同時期のCO₂吸収速度の推移においても見られる。一般に、Phase 1始めのCO₂吸収速度の低下は、光呼吸由来のCO₂放出が関与しているものと考えられるが、この現象は日長条件に関係なく同じ程度に出現するはずである。しかし、長日区ではCO₂呼吸速度の低下の仕方が僅かであった(第1, 2図)。これは、長日条件下ではPEPCaseの夜型への転換がPhase 4で行われていたことから、PEPCaseは自ら生成するリンゴ酸による活性阻害を受けず、消灯後直ちに活性化状態でCO₂を固定できたことによるものと予想される。

ところで、本研究では、PEPCaseの活性が日長条件に関係なく、CO₂呼吸速度が日最大値に達するPhase 1半ばに低下することが観察された(第6図-B)。この現象は、PEPCaseが自ら生成したリンゴ酸によりフィードバック制御されたものとも考えられるが、この時期のPEPCaseのリンゴ酸感受性は低い(第6図-C)。従って、この現象の原因は、本研究の結果からだけでは説明できず、今後の検討が必要

である。

最後に、デンファレのCAM型光合成に対する日長の影響を実際の栽培面から整理してみたい。デンファレの1日のCO₂固定量は、日長が10～12時間の時に増加した。従って、物質生産的に見ると中日及び短日条件が適していると言える。逆に長日条件では物質生産が抑制されることが明らかとなり、沖縄における夏期のデンファレの生長抑制は¹⁰⁾、この時期の日長条件が関与しているものとも考えられる。従って、好適な日長条件で栽培することにより、成株の生長速度を最大限に引き出すことが可能になると推察される。さらにデンファレでは、培養プラスチックから順化して営利的切り花が収穫できるまで約4年を要する。この長い育成期間をいかに短縮するかは、農家の経営にとって重要な課題である。幼株の日長に対するCO₂ガス交換特性が、本結果と同様であるか否かは今後検討しなければならないが、もし同様であるならば、中日または短日処理により株育成期間の短縮が図られるものと期待される。

謝辞: 本研究を実施するに当たり、琉球大学農学部新城長有教授、農林水産省野菜・茶農試験場須藤憲一室長には有益な御助言を賜った。また、沖縄県農業試験場金城清郎元次長、小那覇安優前次長、平良朝正前室長には研究の機会を与えて頂いた。実験の遂行には琉球大学農学部作物学教室の学生諸君にご協力を頂いた。ここに記して謝意を表する。

引用文献

1. Brulfert, J., D. Muller, M. Kluge and O. Queiriz 1982. Photoperiodism and Crassulacean acid metabolism. I. Immunological and kinetic evidences of different patterns of phosphoenolpyruvate carboxylase isoforms in photoperiodically inducible and noninducible Crassulacean acid metabolism plants. *Planta* 154: 326—331.
2. ———, D. Guerrier and O. Queiroz 1982. ——— II. Relation between leaf aging and photoperiod in Crassulacean acid metabolism induction. *Planta* 154: 332—338.
3. Guralnick, L. J., P. A. Rorabaugh and Z. Hanscom 1984. Influence of Photoperiod and leaf age on Crassulacean acid metabolism in *Portulacaria afra* (L.) Jacq. *Plant Physiol.* 75: 454—457.
4. Nobel, P. S. and T. L. Hartsock 1988. Relationships between photosynthetically radiation, nocturnal acid accumulation, and CO₂ uptake for a Crassulacean acid metabolism plant, *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiol.* 71: 71—75.
5. ——— 1989. Influence of photoperiod on growth for three desert CAM species. *Bot. Gaz.* 150: 9—14.
6. 野瀬昭博 1986. パインアップルのCAM型光合成に関する研究. 琉球大農学報. 33: 1—70.
7. ——— 1992. CAM型光合成の変異と制御. 日作紀 61: 161—171.
8. Nose, A., K. Heima, K. Miyazato and S. Murayama 1986. Effects of daylength on CAM type CO₂ and water vapour exchange of pineapple plants. *Photosynthetica* 20: 20—28.
9. Osmond, C. B. 1978. Crassulacean acid metabolism: A curiosity in context. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29: 379—414.
10. 関塚史朗・平良朝正・須藤憲一 1991. デンファレの生育、開花に及ぼす高温の影響. 園学九州支部要旨. 31: 80.
11. Sekizuka, F., A. Nose, Y. Kawamitsu, T. Akinaga, C. Taira and A. Onaha 1992. Effect of day/night temperature conditions on CO₂ exchange rate and CO₂ balance of *Dendrobium Ekapol* Panda No. 1. *Acta Horticulturae* 292: 187—192.
12. Sipes, D. L. and I. P. Ting 1985. Crassulacean acid metabolism and Crassulacean acid metabolism modification in *Peperomia camptotricha*. *Plant Physiol.* 77: 59—63.
13. 須藤憲一 1993. ファレノプシスのCAM型炭酸固定に及ぼす光環境の影響. 野菜・茶業試花き部研究年報 6: 225—237.
14. Wedding, R. T. and M. K. Black 1986. Malate inhibition of phosphoenolpyruvate carboxylase from *Crassula*. *Plant Physiol.* 82: 985—990.
15. Winter, K. 1980. Day/night change in the sensitivity of phosphoenolpyruvate carboxylase to malate during Crassulacean acid metabolism. *Plant Physiol.* 65: 792—796.
16. ——— 1981. Change in properties of phosphoenolpyruvate carboxylase from the Crassulacean acid metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum* after isolation. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 115—119.
17. 葭田隆治 1985. 生体色素の分析法. 北条良夫・石塚潤爾編, 最新作物生理実験法. 農業技術協会, 東京. 337—346.