



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

チャの生産性に及ぼす炭水化物の動態に関する研究

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2015-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 鈴木, 利和 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/49107">http://hdl.handle.net/20.500.12099/49107</a>

チャの生産性に及ぼす炭水化物の動態に関する研究

2013 年

岐阜大学大学院連合農学研究科  
生物資源科学  
(静岡大学)

鈴木 利 和

## 目 次

第1章 緒論	1
第2章 光環境がチャの炭水化物生産に及ぼす影響	5
2.1 緒言	5
2.2 樹体内デンプンの簡易分析法の確立	6
2.3 光環境条件がチャの光合成能および炭水化物の分配に及ぼす影響	11
2.4 総合考察	26
2.5 要約	30
第3章 環境ストレスが樹体内炭水化物含量とチャの生育に及ぼす影響	49
3.1 緒言	49
3.2 冬から春期の樹体内炭水化物含量が一番茶新芽の生産性に及ぼす影響	50
3.3 土壌の乾燥, 完全遮光および整枝がチャの生育および 炭水化物生産に及ぼす影響	59
3.4 総合考察	68
3.5 要約	72
第4章 チャにおける炭水化物ソース能とシンク能の品種間差異	99
4.1 緒言	99
4.2 一番茶期および秋期におけるソース能の品種間差異	99
4.3 貯蔵シンク能およびシンク能(一番茶の生産性)の品種間差異	105
4.4 総合考察	109
4.5 要約	112
第5章 総括	126
Summary	131
謝辞	137
引用文献	138

## 第 1 章 緒論

日本では、チャは主に西南地域の広い範囲で栽培されており、粗生産額は約 1,000 億円で国内農業産出額の 1.3%、栽培面積は約 45,900ha で耕地面積の 1.0%を占めている。国内農業全体に占める割合は他の作物に比べて大きくないが、平成 23 年の茶産出額（生葉産出額＋荒茶産出額）が農業算出額に占める割合は、静岡県で 19.4%（作物別で第 1 位）、京都府で 11%（同第 3 位）、三重県で 9%（同第 4 位）などとなっており、主要な生産府県では茶が基幹的な地位を占めている。加えて、中山間地域では茶業が地域振興に重要な役割を果たしている場合も少なくない。しかしながら、近年の茶価の低迷に加え、茶業従事者の高齢化、生産コストの高騰、気象災害の頻発等から、経営体質の弱体化や生産意欲の減退が懸念されている。また、静岡県では樹齢 31 年生以上の茶園が 63.5%を占めており（静岡県経済産業部 2013）、茶樹の生産力の低下が進展していると推察される。一方、茶生産の収益性を改善するためには、年間に生産される茶のうちで収益の約 80%を占める一番茶の粗収益を増加することが重要である。茶の粗収益は収量と単価を掛け合わせたものであり、単価はその時々の方場の影響も受けるが、一般的には品質によって決まる。つまり、茶園面積当たりの収益性を決定する主要因は、収穫される茶葉の収量と品質であり、両者をバランスよく高めることが収益性の向上に寄与する。このため、生産現場では一定以上の品質で多収量を得られるような高い生産力の茶園づくりが求められている。

チャの生産性向上を目的として、1950 年代後半から 1990 年代前半にかけて、光合成特性や光合成産物の樹体内での消費・分配に関する研究が精力的に行われ、チャの栽培技術の改善や多収性品種の育成に大きく貢献した。原田ら（1957, 1958, 1960, 1961, 1965）、酒井（1987）、中山ら（1979）により、光飽和点、補償点などのチャの光合成特性の解明が進み、光強度および光質と新芽の生育、光合成速度、形態形成および成分変動との関係が明らかにされるなど、チャの光環境応答について多くの知見が集積された。また、玉露やてん茶などの遮光栽培における品質向上を目的として、遮光が新芽の生育（築瀬 1974）、形態（淵之上 1960）、アミノ酸やカテキン類等の成分含量（岩浅 1968, 小西・高橋 1969, 阿南・中川 1974, 西條・竹尾 1978, 西條・大沢 1981）に及ぼす影響が明らかにされた。しかしながら、これまでの研究では、近年の光強度の基準として用いられている光合成有効光量子束密度（PPFD, 植物が利用できる波長幅 400~700nm における光量値）ではなく照度（lx）や遮光率（%）を用いていたこと、光質の試験ではカラーフィルムや着色ランプが用いられ比較的広い波長幅で光質の違いが設定されていたことなど、実験条件設定の

精度が十分でなかった。また、光処理に伴う樹体内炭水化物含量の変化が調査されていなかったことから、異なる光環境条件下におかれた茶樹の光合成能の変化とその結果生じる光合成産物の各部位への分配に及ぼす影響については十分に明らかになってはいない。一方、近年開発された発光ダイオード（LED）は、波長選択性に優れ光量調節が容易にできる。これまでのチャにおける研究事例は少ないが、LED を光源として用いることにより、より詳細な光環境応答や光合成特性のデータを集積することが可能であるとともに、その成果を活用した光制御技術による新たな栽培方法の開発が期待できる。

樹体内炭水化物の分配メカニズムや蓄積量を詳細に解明するためには、糖類とデンプンの分別定量を効率的かつ安価に行うことができる方法を確立する必要がある。これまで行われたチャの光合成や物質生産の研究においても幾つかの炭水化物定量法が用いられた。讃井ら（1966）は、Hanese 法（1929）により幼茶樹体内の糖およびデンプンを分別定量した。酒井（1968）は、牧草の栄養価を評価する目的で開発された Weinmann 法（1947）を改良し、糖・デンプンを TAC として一括定量する方法を考案し、その後チャの炭水化物研究で主に用いられた。さらに、グルコースオキシダーゼ固定化膜と過酸化水素電極を利用して糖とデンプンを分別定量する簡易分析法（青木 1985a）や、市販のデンプン分析キットを用いた定量法（東島ら 2001）がチャに適用された。しかしながら、これらの方法には、分別定量の可否、操作の簡便性・能率、コストなどの点で長短があり、樹体内炭水化物の分配メカニズムや蓄積量について詳細に、かつ効率的に解明するための最適な分析法は確立していない。

そこで第 2 章では、まず炭水化物分析の効率化を図るため、デンプンを短時間で安全かつ低コストでできる簡易分析法を確立した。次に、LED を用いた幼茶樹への照射試験により、光強度、光質および明期がチャの生育、形態、光合成能、炭水化物の分配および窒素同化能に及ぼす影響を明らかにし、物質生産的な側面からチャの光環境応答についての基礎的な知見を集積した。

作物の乾物生産に対する貯蔵炭水化物の重要性が、これまでに多くの作物で明らかにされている。イネでは、出穂期の貯蔵炭水化物の子実収量への貢献度が高いこと（角 1996）や、多収性品種で貯蔵炭水化物量が多いことが指摘されている（斉藤ら 1991, 楠谷ら 1993）。果樹では、秋冬期に蓄積される貯蔵炭水化物が発芽、新梢の生長、結実などに大きく貢献する（尾形 1978, 松井 1989）。チャにおいては、幼茶樹を用いた樹体内炭水化物の消長に関する研究（讃井ら 1966, 袴田・酒井 1980a, 1980b, 1981, 袴田 1981）が行われ、貯蔵

炭水化物の重要性が指摘されている。さらに、環境要因や栽培管理方法と樹体内炭水化物の消費・分配との関係が解析され（山下ら 1982, 関谷・山下 1988）、前年秋から春期の貯蔵炭水化物量の多少が一番茶新芽の生育に影響を及ぼすことが報告されている（酒井 1987）。このため、生産現場において一番茶の生産性を向上するためには、冬（秋）から春にかけての茶樹各部位への炭水化物の分配・蓄積と成木園レベルでの生産力（収量および品質）との関係を詳細に明らかにする必要がある。しかしながら、これまで行われてきた研究では、幼木を対象として物質生産的な観点から各部位の炭水化物含量と新芽生育量との関係を考察する検討に止まったものが多く、成木園における樹体内炭水化物含量の多少が収量、摘芽の収量構成および摘芽の成分に及ぼす影響は十分に明らかにされていない。

一方、気象変動と栽培管理の多様化により、茶樹は年間を通じて多くのストレスを受けている。茶樹が強光、乾燥、低温等の環境的ストレスに加え、強遮光栽培、整せん枝など的人為的なストレスを周年的に受けた場合、光合成能の低下に伴い炭水化物の生成量と貯蔵量が減少し、生産性の低下をもたらすと推察される。また、生育期に受けた各種ストレスが、当該茶期だけでなく翌茶期以降の茶芽の生育にも影響を及ぼすものと推察されるが、ストレスがチャに及ぼす長期的な影響についての研究例は少なく詳細は明らかになっていない。このため、今後の茶生産においてストレスによる茶樹のダメージと回復程度を的確に評価し、回復のための栽培技術を確立することは極めて重要な課題であると考えられる。

そこで、第3章では、成木および土耕ポット茶樹を用いた遮光試験により、光合成産物の樹体内での分配と貯蔵炭水化物含量の多少が一番茶の生産性に及ぼす影響を明らかにした。さらに、各種の環境ストレスが光合成能、炭水化物の分配および新芽の生育に及ぼす影響についても明らかにした。

作物育種の過程では、葉の光合成（ソース）と光合成産物を受け入れる器官（シンク）の能力の改良が交互に重ねながら行われてきた（藤田 2008）。イネでは、まずソース能の改良のため受光態勢の改善や葉面積の増加が行われ、その後、穂数や1穂粒数の増大といったシンクサイズの拡大が行われ、多くの多収性品種が育成されている（武田 1971, 斉藤 1993）。また、光合成機能強化のため、光合成のキー酵素である Rubisco に関する研究が行われてきた（牧野 2002）。近年では、Rubisco の活性を高めた形質転換イネの作出（深山 2013）やシンクサイズに関与する遺伝子の QTL 解析（Xing ら 2010）など、ソース能やシンク能の改良を目的とした生化学・分子生物学的研究が急速に進んでいる。

他の作物と同様に、チャにおいても多収は重要な育種目標である。一番茶の収量性を高

めるためには、葉の光合成能力の改良などのソース能の向上、枝や根などの貯蔵シンク的能力向上、新芽の芽重・芽数の増大によるシンクサイズの拡大が重要であると考えられる。大石ら（1976）と日高・鈴木（1976）は、品種の生育特性と収量との関係を調査し、ソース能を示す樹体量（樹高、株張り、分枝数）と収量との相関が高いことを明らかにした。これら樹体量に関する項目は、現在、収量性や生育良否の指標の一つとして利用されている。一方、個葉の光合成活性（酒井 1987）、貯蔵シンクとしての木化根の形態特性（松尾 2002）、シンクサイズとしての収量構成要素（山下 1984）についても調査され、これらには品種間差異があることが報告されている。しかしながら、これまでのチャの育種研究においては、主に個々の器官レベルでのソース能やシンク能の量的評価が行われているのみであり、ソースーシンク間の炭水化物の生成・分配・蓄積に関するデータは収集されておらず、ソース・シンク能と新芽生産性（収量・品質）との関係についてはほとんど明らかになってはいない。また、チャにおいては Rubisco をはじめとする光合成関連酵素に関する研究がほとんど行われておらず、早期選抜を目的としたソース能の定量化手法についての検討も遅れている。

そこで、第 4 章では、5 品種の成木園における光合成能、炭水化物貯蔵能および一番茶の生産性並びにこれらの相互関係を解析することにより、チャの炭水化物のソース・シンク能の品種間差異を明らかにした。

なお、本論文における炭水化物とは、植物体を構成するセルロース等の構造的炭水化物は含まれず、可溶性糖とデンプンをあわせた名称で、全可利用炭水化物（酒井 1968）、可給態炭水化物（久田 1992）、機能態炭水化物（杉山 1992）と同じである。

## 第2章 光環境がチャの炭水化物生産に及ぼす影響

### 2.1 緒言

チャの樹体内炭水化物の分配メカニズムや蓄積量を詳細に解明するためには、糖類とデンプンの分別定量を効率的かつ簡便に行うことができる方法を確立する必要がある。糖の定量法としては、硫酸処理あるいは銅の還元性反応により比色定量を行う、フェノール硫酸法、アンスロン硫酸法、Somogyi-Nelson法など多くの方法が開発されている(福井 1969)。しかし、これらの方法では全糖あるいは還元糖を一括定量するため、特定の糖の定量には不向きであることから、現在では酵素法や高速液体クロマトグラフィー (HPCL) 法が広く用いられている(北村・中屋 2012)。植物体中の可溶性糖を 80%エタノールで抽出し(大崎 1990)、HPLCにより複数の種類の糖を同時に分別定量する方法は、牧草(柁木ら 1978)、果樹(渡辺ら 1990, 矢野ら 2000, Yanoら 2002, Yahataら 2006)等、多くの作物で用いられている。阿南ら(1985)は茶葉中の個々の遊離糖を HPLC で定量した結果、5種類の遊離糖の存在を確認し、このうちスクロースの含量が 60~80%を占め、次いでグルコース、フルクトースが多く、ラフィノースおよびスタキオースはわずかであったことを報告している。これらのことから、本研究では、グルコース、フルクトース、スクロースを対象として、チャの樹体各部位の可溶性糖含量をエタノール抽出および HPLC 法により定量した。

デンプンの定量法についても、多くの方法が考案され改良されてきた。基本的には、対象試料から熱水、アルカリ、酸、有機溶媒等でデンプンを抽出し、酵素法や酸処理によりグルコースに分解した後、前述のような比色法を用いて定量するが、測定対象の種類に応じて抽出法と定量法を適切に組み合わせる必要がある(中村・貝沼 1986)。これらの方法は、操作が比較的簡便、発色安定性が高い、試薬が入手しやすい、特殊な装置が不要等の長所があるが、硫酸等の劇物の試薬を使用するため取扱いに注意が必要である。一方、作物試料に用いられている簡便なデンプン定量法としては、ヨウ素呈色法がある。ヨウ素呈色法はヨウ素デンプン反応による呈色を用いる方法であり、これまでのチャのデンプン定量過程(酒井 1968)で用いられてきた酵素処理が不要なこと、事前に低分子の糖類を除去する必要がないことから操作が簡便で多数の試料を迅速に分析する場合に適している。また、濃硫酸などを使用しないことや試薬の種類や量が少なくすむことなどから安全で低コストな方法でもある。

植物の生育・形態に及ぼす光環境の要素として、光強度、光質および明期(日長)がある(Goto 2003)。光強度は光合成速度を決定し、植物種ごとに好適な強度域が存在する。



日長は一日の光合成量を定める要素である。光質は、質的な光情報として植物に作用してさまざまな形態形成反応とそれに伴う発育に影響を及ぼす（後藤 2004）。近年、LED の開発に伴い、波長域や光量を選択的に精密に調節することが可能となり、特定波長光または複数光の組合せが植物の生長、葉の形態形成、開花習性等に及ぼす影響が徐々に解明されつつある。葉菜類では、植物工場での LED の実用化が既に開始されている（後藤 2005, 2011, 岩井 2011）。一方、チャにおいては、小林ら（2011）が幼茶樹を用いて LED 光照射下での新芽の生育を調査し、光強度が新芽の生育量、葉色、遊離アミノ酸およびカテキン類の含量に大きな影響を及ぼすことを明らかにした。Honma ら（2011）は、LED による特定波長（青、緑、赤、黄色）光が幼茶樹の生育に及ぼす影響を調査し、光質により根の生育が異なることを明らかにした。しかしながら、LED を用いてチャの光環境応答を精密に調査した研究はこの 2 つ以外にはみあたらず、光環境がチャの光合成能や炭水化物分配に及ぼす影響については十分明らかにされていない。

そこで本章では、チャの貯蔵デンプンの定量法として熱水抽出・ヨウ素呈色法（以下、ヨウ素法）に着目し、チャ各部位のデンプン分析への適用の可否と実用性を評価し、簡易分析法を確立した。次に、LED を用いて光強度、光質および明期の異なる各光環境条件下での幼茶樹の生育、形態変化、光合成能、炭水化物の分配および窒素同化能を明らかにすることにより、物質生産的な側面からチャの光環境応答について基礎的な知見を集積した。

## 2.2 樹体内デンプンの簡易分析法の確立

フェノール硫酸法（Dubois ら 1956, Hodge and Hofreiter 1962）は、デンプンを還元糖に分解し比色定量することでデンプンを分別定量するものであり、水稻（平野ら 1999）、果樹（持田 2005）、根菜類（加藤・野呂 2008）などでも用いられている。また、過塩素酸は優れたデンプン抽出溶剤として、水稻組織（村山ら 1955）や牧草（柁木ら 1978）などのデンプン分析に応用されている。さらに、過塩素酸による抽出液を前処理なしに直接フェノール硫酸法で定量できることから、過塩素酸抽出・フェノール硫酸法は有効なデンプンの抽出法と定量法の組合せとして示されている（中村・貝沼 1986）。一方、大豆（宮崎ら 1985）やウンシュウミカン（杉山・大城 1999）では、デンプンによるヨウ素呈色程度を目視により 5～10 段階に評価する簡易測定法が用いられた。杉山・大城（2001）は、ウンシュウミカンの樹体診断を目的とした根中デンプンの定量にヨウ素呈色法が適用できることを明らかにした。チャにおいても、水野・金兵（1964）は、葉中のデンプンの分別定量法

として過塩素酸抽出したデンプンをヨウ素呈色法で測定する方法が有効であることを報告している。しかし、水野・金兵（1964）の場合は、葉のみを対象とした検討であり、葉より貯蔵デンプン濃度が著しく高い根などの試料への適用性は確認されていない。また、過塩素酸の使用は安全性やコストの点で改善されることが望ましい。そこで、チャの樹体内デンプンにヨウ素法を適用するため、成葉、太枝、中根を材料として、適切な水抽出条件を検討した。さらに、過塩素酸抽出・フェノール硫酸法を対照として、両者の測定値を比較し有効性を評価した。以上より、ヨウ素法によるチャ樹体内デンプンの簡易分析法を確立した。

## 2.2.1 材料および方法

### (1) デンプン分析用試料の調製および標準デンプン

静岡県農林技術研究所茶業研究センター（静岡県菊川市、以下、茶業研究センター）内の「やぶきた」（7年生、B2ほ場）成木園から、2010年10月、2011年1月、2月および3月に、中根（径5 mm前後）、太枝（径10 mm前後）および成葉を採取した。採取後直ちに、水道水で洗浄、裁断し、通風乾燥機（MOV-212P, SANYO製）により60℃で24時間乾燥させた後、粉碎機（TI-200, CMT製）により微粉碎した。次に、可溶性糖類を除去するため、上記の粉碎試料0.1 gに80%エタノール5 mLを加え、80℃で15分間湯浴した後、120 rpmで30分間往復振とう（DOUBLE SHAKER NR-30, TAITEC製）し、次に3,000 rpmで20分間遠心分離（H-3FR, KOKUSAN製）し、上清を取り除いた。再度80%エタノール2.5 mLを加え、同様の操作を行い、得られた残渣をデンプン分析用の試料として冷凍保管した。

ヨウ素法における標準デンプンはMerck社製Starch（純度99%、ポテト由来）を使用した。吸光度測定には、標準デンプンに超純水を加え、沸騰湯浴中で30分間加熱し糊化させた水溶液を200 mg L<sup>-1</sup>に定容したものを使用した。

### (2) ヨウ素法および対照法における抽出・定量方法

ヨウ素法による抽出・定量は、杉山・大城（2001）の方法を一部改変して行った。(1)項で得られたデンプン分析用試料を湯浴（80℃）中に10分間静置し、エタノールを完全に除去した。次に超純水5 mLを加え、沸騰湯浴中で30分間加熱しデンプンを糊化させ、室温まで冷却した後、3,500 rpmで10分間遠心分離（以下、記述の無い装置名等は上記と同じ）し、上清を得た。続いて、残渣に再度超純水5 mLを加え、同様に遠心分離して得られた上清を先の上清に加え抽出液とした。適宜希釈した抽出液1 mLに、塩酸水溶液（超

純水 100 mL に 6 N 塩酸 0.3 mL を添加したもの) 3.8 mL を加え、さらに 0.025 M ヨウ素溶液 0.2 mL を加え、ボルテックスミキサーで攪拌後、分光光度計 (UV-1800, SHIMADZU 製) で 600 nm の吸光度を測定した。

対照法 (過塩素酸抽出・フェノール硫酸法) による抽出・定量は、中村・貝沼 (1986) の方法を一部改変して行った。(1) 項で得られたデンプン分析用試料を湯浴 (80 °C) 中に 10 分間静置し、エタノールを完全に除去した。次に、超純水 2 mL を加え、沸騰湯浴中に 10 分間静置し、氷中で冷却した後、52% 過塩素酸 2.5 mL を加え、氷上にて 120 rpm で 20 分間振とう、4 °C、3,000 rpm で 30 分間遠心分離し、上清を得た。続いて、残渣に再度 52% 過塩素酸 2.5 mL を加え、同様の操作を繰り返した。得られた上清を先の上清に加え、超純水で 10 mL に定容し、ろ紙 (No.6, ADVANTEC 製) によりろ過したものを抽出液とした。適宜希釈した抽出液 500  $\mu$ L に 5% フェノール液 500  $\mu$ L を加え攪拌した後、濃硫酸 2.5 mL を加えて再度攪拌した。30 °C のドライサーモバス (MG-2300, EYELA 製) 中で 30 分静置した後、分光光度計で 490 nm の吸光度を測定した。デンプン含量は D-グルコースで作成した検量線から算出したグルコース量に 0.9 を乗じて算出した。

### (3) チャデンプンの吸光特性

チャデンプンの吸光特性を明らかにするため、チャの各部位の中でも比較的デンプン濃度が高いと予想される中根を対象とした。抽出液のデンプン濃度が 200 mg L<sup>-1</sup> 程度 (予備調査による) となる中根試料を用いた。ヨウ素法により、中根試料の熱水抽出液に塩酸水溶液およびヨウ素溶液を加えて攪拌したものについて、分光光度計で 500~700 nm の吸光度を測定した。

### (4) ヨウ素法における抽出条件の検討

ヨウ素法における抽出方法の違いがデンプン測定値に及ぼす影響を明らかにするため、抽出を熱水および過塩素酸により行い両者の測定値を比較した。また、対照法による測定値とも比較した。熱水抽出および過塩素酸による抽出は (2) 項と同様の方法で行った。試料はデンプン濃度の異なる成葉 (8 点) を用いた。

次に、ヨウ素法における最適な抽出時間を検討するため、熱水抽出時間 (沸騰湯浴中での加熱時間) を 0, 5, 10, 20, 30, 40 分として各測定値を比較した。抽出時間以外の条件は (2) 項と同様の方法で行った。試料はデンプン濃度の異なる 3 種類 (低, 中, 高, 予備調査による) の中根 (1 月~3 月採取) を用いた。

### (5) ヨウ素法の適用と評価

チャの各部位から採取したデンプン濃度の異なる試料 54 点（中根 16 点，太枝 18 点，成葉 20 点）を用いて，ヨウ素法による測定値と対照法による測定値との関係を調査した。

ヨウ素法および対照法について，分析時間およびコストを比較した．なお，デンプン分析用試料の調整および抽出で使用した遠心分離機の 1 単位操作数が 24 点であることから，24 点を 1 組として，分析時間およびコストを算出した。

## 2.2.2 結果および考察

### (1) 標準デンプンおよびチャデンプンの吸光特性

図 2-1 にヨウ素呈色した標準デンプンおよびチャ中根由来デンプンの吸収スペクトル（500～700 nm）を示した．極大吸収波長は，標準デンプンでは 570 nm 付近，チャ中根由来デンプンでは 600 nm 付近であった．次に，材料および方法の（1）項で調製した標準デンプン水溶液を適宜希釈しヨウ素呈色を行い，チャ中根由来デンプンの極大吸収波長である 600 nm における吸光度を測定した．その結果，デンプン濃度と吸光度の間に高い相関が認められ，ヨウ素法における検量線として十分に使用可能であると考えられた（図 2-2）．以上のことから，チャ試料のデンプン測定におけるヨウ素法の測定波長は 600 nm が適していると考えられた．

### (2) ヨウ素法における抽出条件の検討

表 2-1 に成葉を試料とした熱水および過塩素酸抽出・ヨウ素法によるデンプン測定値と対照法による測定値との関係を示した．対照法による測定値で概ね 30 mg g<sup>-1</sup> DW 以下の場合，熱水および過塩素酸抽出によるヨウ素法の測定値はいずれも対照法の 1/10 以下と極めて低い値となり，対照法とは明らかに乖離した．一方，ヨウ素法における抽出方法の違いを比較すると，熱水抽出による測定値は，過塩素酸抽出に対し 2～6 割程度低くなった．植物体からのデンプン抽出法のうち，熱水抽出は植物の種類によっては葉組織からのデンプンの抽出が不完全になることが指摘されている（中村・貝沼 1986）．また，対照法で抽出剤として用いた過塩素酸はデンプン以外の多糖類も抽出しやすいことと，多糖類の抽出の影響は高濃度域では相対的に小さいが，低濃度域では大きくなることが指摘されている（中村・貝沼 1986）．これらのことから，熱水抽出は過塩素酸抽出に比べ成葉からのデンプン抽出効率が劣り，測定値が低くなったと推察される．しかし，前述のとおり低濃度域では抽出方法にかかわらず，ヨウ素法と対照法の測定値に大きな差がみられたことから，ヨウ素法自体に低濃度域での検出限界があることも示唆される．ヨウ素法の低濃度域での検出感度については，本研究で目的とした枝および根を試料とした場合の実験結果と併せて考

察する必要があると考えられることから、(3) 項で後述する。

図 2-3 にヨウ素法における熱水抽出時間がデンプン測定値に及ぼす影響を示した。デンプン測定値は、デンプン濃度の異なるいずれの試料においても 10 分程度で最大値となり、それ以降 40 分まではほぼ一定の値で推移した。一方、試料とともに糊化させた標準デンプン水溶液では、熱水投入後 10 分程度で白濁が消失し無色透明となることが観察され、比較的短時間で糊化状態に至ることが示された。これらのことから、チャの試料においても同様に、比較的短時間でデンプンは糊化し、熱水抽出時間を 10 分以上とするのが適当であると考えられた。

### (3) ヨウ素法の適用と評価

チャ中根、太枝および成葉を試料としたヨウ素法および対照法によるデンプン測定値の関係を図 2-4 に示した。ヨウ素法で得られたデンプン含量の分布範囲は、中根では  $0.3\sim 383.5\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$ 、太枝では  $4.9\sim 94.2\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$ 、成葉では  $0.9\sim 36.6\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$  であった。同様に、対照法での分布範囲は、それぞれ  $22.8\sim 402.1\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$ 、 $20.9\sim 96.0\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$ 、 $25.9\sim 68.9\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$  であった。全部位を対象としたヨウ素法による測定値と対照法による測定値との間には、回帰直線  $y=0.96x+27.0$  ( $r=0.98^{**}$ ) が得られた。回帰直線の傾きは 1 に近く y 切片は 27.0 であることから、ヨウ素法の測定値は対照法の測定値よりも概ね一律に  $20\sim 30\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$  程度低いという結果になった。これは、例えば  $300\sim 400\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$  程度の高濃度域では、ヨウ素法による測定値と対照法との差は数%であるが、 $30\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$  以下の低濃度域では、ヨウ素法の測定値は対照法の数分の 1 のレベルまで下がり、低濃度域ほど両者の格差は拡大することを意味している。ヨウ素法と対照法の測定値が一致せず、その乖離程度が濃度域で異なった要因として、(2) 項で述べた抽出方法の違いに加えて検出感度の差が考えられる。フェノール硫酸法の測定範囲は試料液濃度で  $0\sim 90\text{ mg L}^{-1}$  であり、ヨウ素法の  $0\sim 200\text{ mg L}^{-1}$  と比較して低濃度域にある(竹内ら 2001, 杉山・大城 2001)ことから、低濃度域での感度の違いが測定値の差を助長した可能性も考えられる。また、水野・金兵(1964)は茶葉のデンプン定量法を検討した際、過塩素酸抽出・アンスロン硫酸法(フェノール硫酸法と同様に比色定量法)による回収率は、ヨウ素法より 18%高くなったことを報告している。杉山・大城(2001)は、ウンシュウミカンの根を対象としてヨウ素法における効果的な抽出方法を検討した結果、熱水、オートクレーブのいずれの抽出方法においても低濃度域(概ね  $40\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$  以下)では従来法(熱水抽出・酵素処理・Somogyi-Nelson 法)と比較して 3~6 割程度低い値であったことを報告している。これら

のことから、対照法が低濃度域でデンプン以外の成分の影響により過大な測定値を示しやすいつ傾向があること、その反対にヨウ素法は低濃度域での検出感度が劣る可能性があることが示唆された。以上のことから、簡便性に優れるヨウ素法は、デンプン濃度の比較的高い枝、根には他の方法と遜色なく適用できるが、成葉などデンプン濃度の低い（概ね 30 mg g<sup>-1</sup> DW 以下）試料に適用する場合は、対照法の値に比べ低い値となることに十分留意する必要があると考えられた。

表 2-2 に分析時間およびコスト（試薬経費のみ算出）を示した。分析時間およびコストは、ヨウ素法では試料 24 点当たり 2.0 時間（熱水抽出 10 分間で算出）、13 円であった。一方、対照法では過塩素酸抽出および比色定量に時間を要し、分析時間の合計は試料 24 点当たり 5.6 時間となった。また、対照法では抽出に用いた過塩素酸が高価なため、試料 24 点当たりコストは約 1,100 円となった。

以上のことから、チャ樹体内デンプンの簡易分析法として、ヨウ素法を確立するとともに、ヨウ素法が枝や根のデンプン定量に有効であり、迅速かつ安価な方法であることが示された。

## 2.3 光環境条件がチャの光合成能および炭水化物の分配に及ぼす影響

### 2.3.1 光強度の影響

チャ個葉の光飽和点は 30,000~60,000 lx（PPFD 換算：500~850  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  相当）、光補償点は 2,000~3,000 lx（PPFD 換算：30~50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  相当）であり、他の C<sub>3</sub> 植物と比較して大差はないことが明らかになっている（酒井 1987, 中本ら 1996, Okano ら 1995）。被覆栽培下の光量は、遮光率 85%の被覆資材を被覆した場合、光合成有効光量子束密度（PPFD）で 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、遮光率 98%の資材では 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  程度に保たれる（小林ら 2011）。このような低光量下でチャを栽培すると、新芽中のアミノ酸含量が増加する（阿南・中川 1974）。一方で、被覆期間中には光合成速度は低く抑えられるため、新芽生育は抑制され収量は露天栽培の 60~70%と大きく低下する（築瀬ら 1974）。このように、光強度と個葉光合成速度の関係や低光量下での新芽の生育等については幾つかの知見が得られているものの、光強度の違いが光合成能や炭水化物の分配に及ぼす影響についての詳細なデータは少ない。

そこで、1 年生苗に対して異なる光強度下で LED 照射試験を行い、光強度がチャの生育、葉の形態、光合成能、炭水化物の分配および新芽成分に及ぼす影響を調査した。

### 2.3.1.1 材料および方法

#### (1) 供試材料および処理方法

2013年3月18日、1年生「やぶきた」挿し木苗（2012年6月挿し）を地上約20 cmでせん枝し、茶業研究センターのビニールハウス内で処理開始時まで生育させた。最上位節の新芽が概ね萌芽した3月27日、苗を肥料溶液（ダブルクイック [N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O = 16:6:10, チッソ旭肥料] を200 mgN L<sup>-1</sup>になるよう水道水で希釈）を深さ8 cmまで満たしたプラスチックコンテナ（23 cm×15 cm）に入れ、人工気象器内（MLR-351, 三洋電機製, 室温25 °C）内へ設置し、光照射処理を開始した。LED照射強度は、PPFDで0, 10, 100, 500, 1,000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>の5段階とし、1区当たり苗4本の3反復とした。光照射時間は午前5時から午後7時までの14時間日長とした。光源には図2-5に示した波長特性をもつ白色LED（高効率LEDユニット, スタンレー製）を用いた。植物体の最上位葉の位置で所定の光強度となるよう光源と植物体の距離を調整した。光強度の測定には光量子センサー（HD2012.2, Delta OHM製）を用いた。500および1,000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>区はLEDを直射し、10および100 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>区は、LED直下に黒色寒冷紗を敷設して光強度を調整し、0 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>区は暗黒とした。肥料溶液はコンテナ内が深さ8 cmに保たれるように随時追加した。

#### (2) 成葉の光合成速度の測定

処理開始から16日後、各区から平均的な大きさの苗1本を選定し、植物体の上位節の成葉の光合成および蒸散速度を、光合成蒸散測定装置（LCpro+, ADC製）を用いて計測した。本測定装置の光源は、赤色LED（中心波長655 nm, 半値幅23 nm）と青色LED（中心波長466 nm, 半値幅23 nm）が10:1の比率で構成されており、測定条件はチャンバー内温度25 °C, 葉面光合成有効放射量1,000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>とした。測定時の葉面光合成有効放射量については、事前に自然光下で栽培した土耕ポット茶樹の成葉の光合成速度を計測し、得られた光飽和点（概ね800~900 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>）に基づき設定した。

#### (3) 新芽の生育量および形態的特徴の測定

成葉の光合成速度を計測後、各苗から全ての新芽を収穫し、全新芽重, 最上位節の新芽長, 新葉数, 第3葉位の新葉の厚さおよび葉色を測定した。葉厚は、葉の末端から基部端の中央部分の厚さをでマイクロメーター（ID-C112BS, Mitutoyo製）により計測した。葉色は、分光測色計（CM-3600d, コニカミノルタ製）を用いて、向軸側の明度（L\*）, 彩度（c\*）および色相角度（Δh）（CIE 1986）を、葉厚と同様の位置で測定した。その後、送

带式少量製茶蒸機（ED-2000，寺田製作所製）を用いて新芽を蒸熱し（100 °C，45 秒），放冷後，液体窒素で凍結し，成分分析時まで-80 °Cで保存した．

#### (4) 各部位の炭水化物含量の測定

新芽の収穫後，植物体を成葉，枝，根に解体し，通風乾燥機（MOV-212P，SANYO 製）により 60 °Cで 24 時間乾燥させた．その後，粉砕機（TI-200，CMT 製）により微粉砕した後，可溶性糖とデンプンの定量に供した．

可溶性糖の抽出・定量は，大崎（1990）および阿南ら（1981）の方法を一部改変して行った．約 100 mg の粉砕試料を精秤後，80%エタノールを 5 mL 加え，湯浴（80 °C）中に 15 分間静置し，30 分間振とうし，3,000 rpm で 20 分間遠心分離し，上清を得た．続いて残渣に 80%エタノールを 2.5 mL 加え，同様に再抽出して得られた上清を先の上清と併せて可溶性糖分析用の抽出液とした．次に抽出液をドライサーモバス（MG-2300，EYELA 製）中で 60 °Cから 95 °Cまで徐々に加温し，エタノールを蒸発させた．さらに，0.3 N Ba(OH)<sub>2</sub> および 5% ZnSO<sub>4</sub> を各 1 mL 加え 20 mL に定容した後，ろ紙（No.6，ADVANTEC 製）でろ過し，ろ液を HPLC（SIL-20AC，SHIMADZU 製，分析カラム Wakosil 5NH<sub>4</sub>）に供試した．スタンダードとしてフルクトース，グルコース，スクロースを用い，これら 3 種類の測定値の合計値を可溶性糖含量とした．デンプンは，2.2.1（2）項のヨウ素法と同様の方法により定量した．

#### (5) 新芽の成分の測定

冷凍保管しておいた新芽を凍結乾燥（PDU-1100，EYELA 製）後，サイクロンサンプルミル（Sycrone sample mill 3010-018，Udy 製）で粉砕し，粉末試料をクロロフィルおよび遊離アミノ酸の定量に供した．

クロロフィルの定量は，Porra ら（1989）の方法により行なった．粉砕試料 10 mg にジメチルスルホアミド（DMF）5 ml を加え，24 時間冷蔵庫（5 °C）内で静置した．次に，3,000 rpm で 20 分間遠心分離を行い，上清を得て，分光光度計により波長 663.8 および 646.8 nm の吸光度を測定した．

遊離アミノ酸の抽出は以下のように行った．粉末試料約 10 mg に同量のポリビニルピロリドン（PVPP）を加えた後，超純水（Simpli Lab，MILLIPORE 製）を加え，60 分間振とうし，4 °C，3,000 rpm で 30 分間遠心分離し，上清を得た．得られた上清を 0.45 μm のメンブランフィルター（DISMIC-25es，ADVANTEC 製）でろ過し，ろ液を遊離アミノ酸分析用の試料とした．遊離アミノ酸の定量は，後藤ら（1993）の方法に従い，緑茶の主要



なアミノ酸であるテアニン，アラニン，アルギニン，アスパラギン酸，アスパラギン，グルタミン酸，グルタミン，セリンの 8 種類について行なった．試料溶液 80  $\mu\text{l}$  に内部標準物質としてホモセリン（WAKO 製）20  $\mu\text{l}$  を加えて攪拌後，この内の 10  $\mu\text{l}$  にオルトフタルアルデヒド（OPA）試薬 100  $\mu\text{l}$  と 2-メルカプトエタノール（2-ME）試薬 100  $\mu\text{l}$  を加えた．この混合液 30  $\mu\text{l}$  を HPLC（SCL-10Avp, SHIMADZU 製）により測定した．検出は蛍光検出器（RF-535 Fluorescence HPLC Monitor, SHIMADZU 製）を用いて，励起波長を 340 nm に，蛍光波長を 450 nm に設定して行った．分析カラムには Develosil Packed Colum ODS-HG-5 4.6/150（NW）（NOMURA 製）を用いた．定量した 8 種類のアミノ酸の合計値を全遊離アミノ酸（TFAA）含量とした．

### 2.3.1.2 結果および考察

#### (1) 新芽の生育量および形態

光強度が新芽の生育および形態に及ぼす影響を，それぞれ表 2-3，写真 2-1 に示した．全新芽重は 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以下で顕著に減少した．0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区的全新芽重は 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の約 50%，100・500・1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の約 40%と少なかった．新芽長と新葉数も，10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以下で有意に小さくなり，10・100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の葉厚は，500・1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区よりも薄くなった．0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区では，正常な葉の拡大が行われず処理後期にも新葉が極めて小さかったため，葉厚および葉色の計測を行うことができなかった．以上のことから，10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以下の低光強度は葉の分化や拡大の抑制を通して新芽の生育の低下をもたらすことが示唆された．

次に，葉色についてみると，10～1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の範囲では，光強度の低下に伴って明度と彩度を示す L\*値および C\*値は小さく，緑色度を反映する  $\Delta h$  値は大きくなった（表 2-3）．また，0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区では葉色が黄白色になり，同時にクロロフィル含量も 10，100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区と比較して顕著に少なかった（写真 2-1，表 2-4）．葉の白化は低光量に対する植物の典型的な反応であり，暗黒またはそれに近い暗期条件下で，トウガラシ，ソラマメ，コムギなどの実生苗に白化が起こることが報告されている（Fitter and Hay 2001）．キャベツの結球内部では，光が限定されることにより，葉の黄白色化やクロロフィル生合成の抑制が起こることが報告されている（Kruk 2005）．チャにおいては新芽生育期に遮光率 85～98%で 2 週間遮光すると濃緑化することが知られている．小林ら（2011）は，2 年生苗に対して概ね 2 葉期から 14 時間日長の異なる光強度（PPFD 0～1,300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）で 2 週間の照射処理を行った．その結果，新芽の  $\Delta h$  値が 1,300  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  下では 122 であつ

たが、 $70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  下では 133 と上昇し、 $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  下では 124 となり、 $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  下では 115 と低下したことを報告している。しかし今回の試験では、 $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区と  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区との間には  $\Delta h$  値およびクロロフィル含量に有意な差はみられなかった。これらのことから、チャの新葉は  $10 \sim 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  程度の低光量下では濃緑化するが、 $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  を下回るような極めて低い光強度下では白化が促進されると考えられた。

## (2) 成葉の光合成速度および部位別炭水化物含量

光照射処理後の成葉の光合成および蒸散速度を図 2-6 に示した。光合成速度は、 $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} > 500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \simeq 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} > 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} > 0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  となった。蒸散速度も、同様に  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \simeq 500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} > 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} > 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} > 0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の順で高く、全新芽重、新芽長と同様の傾向であった。このことから、チャの生育は成葉の光合成能に大きく制御されていることが示された。

光照射処理前後の成葉、枝、根の可溶性糖含量を図 2-7 に、デンプン含量を図 2-8 に示した。全ての区において各部位の可溶性糖およびデンプン含量は、処理前と比較して半分以下に減少した。これは、新芽生育と呼吸による炭水化物の消費量が光合成による生産量を上回ったことを示しており、幼茶樹（2 年生）の場合、葉、枝、根の貯蔵炭水化物が新芽生長に利用される重要な炭素源となっていることが示された。酒井（1987）は、チャの定植当初の生育には樹体内の炭水化物の消費が大きく関与することを指摘しており、葉量の少ない幼茶樹では新芽生育に対する貯蔵炭水化物の貢献度が一層高まるものと推察される。 $0 \cdot 10 \cdot 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区における各部位の可溶性糖含量は  $500 \cdot 1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区に対し 3~8 割程度に、デンプン含量は概ね 1~5 割程度であった。 $500 \cdot 1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区における光強度は光飽和点を超えていたのに対し、 $0 \cdot 10 \cdot 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区では光飽和点の数分の 1 以下であったことから、光合成産物の生成・蓄積量が大きく減少したと考えられた。

## (3) 新芽の遊離アミノ酸含量

光強度が新芽中の遊離アミノ酸含量に及ぼす影響を表 2-5 に示した、8 種のアミノ酸含量は、光強度の低下に伴って増加し、 $0 \cdot 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の TFAA 含量は、 $500 \cdot 1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区よりも有意に高くなり、特に  $0 \cdot 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区のアスパラギン、アスパラギン酸、アルギニンおよびテアニン含量は、 $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区の 3 倍以上となった。

小西・高橋（1969）は、暗所下でテアニンの代謝が抑制されることを明らかにし、その結果、遮光下ではチャ新芽中のテアニン含量が高まることを報告している。前出の小林ら

(2011) の試験では、光強度の減少に伴い新芽中の TFAA が増加し、特にアスパラギン、アルギニン、セリンの割合が高まった。遮光下や暗所下では茶葉中のタンパク質が減少する (青木 1980) ことから、本試験における遊離アミノ酸含量の増加はタンパク質の分解促進も一要因となっていることが示唆される。また、暗所下で栽培されたエンバクの葉ではアルギニン脱炭酸酵素活性が減少する (Kaur-Sawhney ら 1982) が、これは葉中のアルギニンの蓄積の一要因であると考えられる。さらに、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) (Lea ら 2006) やエンドウ (Joy ら 1983) から葉を分離し暗所下に置くと、葉中のアスパラギン含量が増加したことが報告されている。これらのことから、本試験でみられた TFAA の増加は、遮光下のテアニンの分解抑制を含め、光強度低下に伴う窒素代謝の変化が関与しているものと推察された。

### 2.3.2 光質の影響

チャにおける光質と光合成との関係を明らかにするため、酒井 (1987)、中山ら (1979) が着色アクリル板や蛍光ランプを用いた試験を行なった。しかし、その結果をみると、 $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以下の低光量下での光合成速度は赤色光照射で優れる場合や赤色光と青色光で差がみられなかった場合があり、光質と光合成速度との関係は明確になっていない。当時の蛍光ランプの照射光は、複数の波長ピークがあり、波長域も広がった。また、着色アクリル板では特定波長の除去を目的としたため、照射光の波長域はさらに幅広がった (半値幅 200 nm 以上)。このことが、光質と光合成速度との関係を明確にできなかった主な理由であると考えられる。また、光質と生育および形態変化との関係についても、カラーフィルムおよび着色蛍光ランプを用いて検討された (中山 1979)。低光量照射下 (カラーフィルム: PPF 約  $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 着色蛍光ランプ: PPF 約  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) では、新芽生育は青色域除去下で優れ、葉の形態は赤色光下で光沢に富む一方、背軸側への湾曲 (エピナスティー) が生じ、支脈が明瞭化したことが報告されている。しかし、これらの試験でも、照射光の半値幅は、着色蛍光ランプで最大 (青色) 100 nm, カラーフィルムで 150 nm 以上と広く、光質とチャの生育や葉の形態変化との関係についても曖昧なままである。

そこで、水耕栽培下の幼茶樹に波長域の異なる赤、青、白色の LED 光を照射し、光質が生育、形態、光合成能、炭水化物の分配および窒素同化能に及ぼす影響を調査した。

#### 2.3.2.1 材料および方法

##### (1) 供試材料および処理方法

2009年3月1日に1年生「やぶきた」挿し木苗（2008年6月挿し）を洗浄後、水耕培養液10Lの入ったポット（1/2000 a ワグネルポット）に移植し、地上約20cmでせん枝し、静岡大学内のガラス室（静岡県静岡市）で栽培を開始した。苗はポット当たり3個体とした。培養液はKonishi and Miyamoto（1985）のチャ標準水耕培養液とし、水耕培養液は1週間毎に交換し、常時通気を行った。

5月28日（水耕栽培88日経過後）に、新葉が3葉程度展開した水耕茶樹各3ポットを赤色、青色および白色LED照射装置を設置した人工気象器（LPH350S、日本医科器械製作所製、室温25℃、湿度80%）内に移設し、24時間連続照射下で処理を開始した。LED照射強度は、植物体の最上位葉の位置でPPFD  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  となるよう光量子センサー（LI-190SA、LI-COR製）を用いて調整した。LED照明の波長特性を分光放射測定器（USB4000、OCEAN PHOTONICS製）を用いて測定したところ、赤色LED（L660-03V、EPITEX製）の中心波長は659nm（半値幅20nm）、青色LED（L450-03V、EPITEX製）の中心波長は474nm（半値幅32nm）、白色LED（ISL-305×302-www、シーシーエス製）の最大ピークの中心波長は453nmであった（図2-9）。対照として、暗所区を設け、LED照射区と同様の条件で処理した。なお、処理期間中の水耕培養液のN成分には $^{15}\text{N}$ 標識した硫酸アンモニウム（5 atom % excess）を用い、水耕培養液は処理5日目と10日目に交換した。

処理開始時、5日、10日および15日目に、各処理区からそれぞれ3個体収穫し、植物体全体を水道水、続いて蒸留水で十分に洗浄した後、水分をペーパータオルで拭きとった。次に、新葉、成葉、幹、根（細根と木化根に分けた）を部位別に解体した。部位別の新鮮重を測定後、液体窒素を用いて急速冷凍した。グルタミン合成酵素活性測定用には細根を用い、分析時まで $-80^\circ\text{C}$ で保存した。その他の試料は、凍結乾燥（FDU-20000、EYELA製）後、微粉碎し全窒素含量と $^{15}\text{N}$ 含量の測定に用いた。炭水化物（可溶性糖およびデンプン）の分析には、新葉、成葉および根（細根と木化根）を供試した。

## **(2) 光合成・蒸散速度、気孔コンダクタンスおよび吸水量の測定**

各個体の新芽3本を光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンスの測定に用いた。各新芽の上から第3葉を対象として、処理開始時、5日目、10日目および15日目に、2.3.1.1 (2)項と同様の方法で測定した。また、5日目、10日目、15日目の水耕培養液の交換時に培養液の減少量（重量）を測定し、各区1ポット（3個体）当たりの吸水量とした。

## **(3) 炭水化物含量の測定**

可溶性糖の抽出・定量は、2.3.1.1 (4) 項の方法を一部改変して行った。凍結粉末試料約 100 mg に 80%エタノールを 5 ml 加え、湯浴 (90 °C) 中で 15 分間インキュベート後、氷上で 30 分間振とうした。その後、冷却遠心機を用いて、4 °C、3,000 rpm で 20 分間遠心し、上清を得た。続いて残渣に 80%エタノールを 2.5 ml 加え、同様に再抽出し、上清を得た。得られた上清を湯浴中でエタノールを蒸発させ、凍結乾燥した。次に、超純水を 2 ml 加えて溶解後、4 °C、3,000 rpm で 30 分間遠心分離し、上清を 0.45 µm セルロースアセテートメンブレンフィルター (DISMIC-25cs, ADVANTEC 製) でろ過し、ろ液を HPLC (2.3.1.1 (4) 項と同機種) に供試した。

デンプンは可溶性糖抽出後の残渣から過塩素酸により抽出し、フェノール硫酸法により定量した (2.2.1 (2) 項の対照法と同様の方法)。

#### (4) 窒素吸収量の測定

部位別の窒素吸収量は、質量分析計による  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  の測定 (米山 1990) を行い算出した。各部位の凍結乾燥粉末約 2 mg をスズカプセル (高さ 8 mm, 直径 5 mm) に包み込み、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  同位体比と全窒素含量を ANCA-SL 質量分析計 (EUROPA SCIENTIFIC 製) を用いて測定した。植物体の  $^{15}\text{N}$  atom % excess は、収穫日の atom % から処理開始前 (0 日目) の atom % を差し引いて求めた。施用した硫酸アンモニウムに由来する部位別の窒素吸収量は、それぞれの  $^{15}\text{N}$  atom % excess と全窒素含量との積を施用窒素の  $^{15}\text{N}$  atom % excess で除して求めた。

#### (5) グルタミン合成酵素 (GS) 活性とタンパク質量の測定

GS 活性は、山谷 (1990) の方法に準じて測定した。凍結試料約 0.5 g に重量比 1 の PVPP および緩衝液 [50 mM トリス HCl (pH 7.6), 20 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1 % アスコルビン酸ナトリウム, 0.1 % 2-ME] 5 mL を加えて磨砕し、10,000×g で 10 分間遠心分離した。上清を Sephadex G25 でゲルろ過し、粗酵素液を得た。この粗酵素液 390 µL を反応液 610 µL [0.25 M イミダゾール HCl 緩衝液 (pH 7.6) 100 µL, 0.2 M  $\text{MgSO}_4$  100 µL, 80 mM ATP (pH 7.6) 100 µL, 60 mM  $\text{NH}_2\text{OH}$  (pH 7.6) 100 µL, 0.2 M L-グルタミン酸ナトリウム 200 µL, 0.8 M 3-ME 10 µL] を加え 30 °C で 15 分間反応させた後、酸性鉄試薬 (0.37 M  $\text{FeCl}_3$ , 0.67 N HCl, 0.2 M トリクロロ酢酸) 1 mL を加えて反応を停止させ、20 分間室温放置した後、10,000×g で 10 分間遠心分離した。得られた上清の  $\gamma$ -グルタミルヒドロキサム酸 ( $\gamma$ -GHA) を 540 nm の吸光度で比色定量した。

タンパク質の定量は Bradford 法 (1976) により行った。前述の粗酵素液 20 µL に 0.15 M

NaCl 180  $\mu\text{L}$  を加えて 10 倍希釈し、Bradford 試薬 2 mL を加え 20 分間静置した後、595 nm の吸光度を測定した。検量線には、標準タンパク質としてウシ血清アルブミン (BSA) を用いた。

### 2.3.2.2 結果および考察

#### (1) 新芽重と新葉の形態

各処理区における新芽重の変化を図 2-10 に示した。暗所区の新芽重は、処理 10 日目には新葉の褐変・落葉のため、他の処理区より有意に低くなり、処理 15 日目にはほぼ全ての新芽が枯死したため、さらに低下した。この落葉等により、以下に示す暗所区 10 日目および 15 日目の光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンス、暗所区 15 日目の可溶性糖含量およびデンプン含量の値は得られなかった。LED 照射区の新芽重は、処理 15 日目にいずれも処理開始時と比べ 4 割程増加したが、処理区間に有意な差はみられなかった。

一方、処理 15 日目の LED 照射区の新葉をみると、自然光下で栽培した場合と比較して光沢に富み、背軸側への湾曲 (エピナスティー) がみられた (写真 2-2)。さらに、赤色 LED 区では支脈間が盛り上がることで支脈がしわのようにより明瞭となっていた。一般に青色光を欠く赤色光単独照射のみで正常な生育が得られにくく、青色光に起因する葉の厚みや茎伸長などの形態形成が不十分となり発達が抑制されることが知られている (後藤 2007, 飯野 2001)。トルコギキョウ苗では、赤色 LED 照射 (PPFD 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 下で葉が内側に巻き込む軽度の奇形が発生すること (田中・志田 2005) が報告されている。葉菜類では、赤色 LED のみで栽培した場合、エピナスティーが発生することが報告されている (佐瀬ら 2003)。また、チャにおいても、中山ら (1979) は赤、黄、青および白の着色蛍光ランプ (明期 16h, 光強度 0.01  $\text{cal cm}^{-2} \text{min}^{-1}$ , PPFD 換算: 約 30  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) の下で幼茶樹を 2 ヶ月程度栽培し生育させると、赤色および黄色光照射区では葉面積が増加し葉厚が薄くなり、しわ、光沢、エピナスティーが顕著になることを報告している。これらのことから、チャにおいても青色光欠如が葉の形態形成に関与していることが推察された。しかし、本研究では、青色 LED 区と白色 LED 区でも軽度であるが、葉の光沢とエピナスティーが観察された。このことは、中山らの報告と異なるが、照射量や照射時間、処理期間など栽培環境の相違による影響によるものと推察された。

#### (2) 光合成、蒸散速度および気孔コンダクタンス

新葉の光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンスを図 2-11 に示した。光合成速度は、全ての処理区において処理 5 日後に低下したが、青色 LED 区と白色 LED 区ではその

後増加し、 $4\sim 6\ \mu\text{mol CO}_2\ \text{m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ で推移した。一方、赤色 LED 区では、処理 5 日目に 0 近くまで低下し、その後も低い値のままであった。処理 15 日目の値は、青色 LED > 白色 LED > 赤色 LED の順となった。蒸散速度と気孔コンダクタンスはいずれの処理区とも非常に類似した推移を示した。LED 照射区は処理 5 日目まであまり変化せず、その後青色 LED 区は上昇、白色 LED 区はほぼ一定、赤色 LED 区は徐々に低下し、処理 15 日目の値は、青色 LED > 白色 LED > 赤色 LED の順となった。また、各処理区の 5、10 および 15 日目の吸水量をポットごとに測定した結果、いずれの測定日とも LED 照射区では青色 LED > 白色 LED > 赤色 LED の順となり、光合成速度や蒸散速度（図 2-11）、吸水量（図 2-12）とほぼ同様の傾向を示した。

ソラマメでは青色波長域で気孔開度が高まり弱光下で顕著になる（Hsiao and Allaway 1973, 島崎・木下 2001）。インゲンマメ（木村・鈴木 2002）やエンドウ（卜蔵 1965）では、青色 LED 光処理により気孔開口の促進に伴い蒸散および光合成が促進されている。また、イネ（葭田・園田 2006）とオドンチオダ（Kubot ら 2005）では、それぞれ泥土付着や高温ストレス下で気孔コンダクタンスの低下に伴い光合成速度も低下することが報告されている。このように、気孔コンダクタンスの上昇は光合成および蒸散速度と連動し、青色光によって促進されると考えられる。チャにおいても青色光照射による新葉の気孔コンダクタンスの増大に伴い、光合成および蒸散速度が上昇したと推察された。ただし、同じ青色でもレーザー光の場合は、サラダナ（森・高辻 1999）では生育、光合成速度および気孔コンダクタンスに対して、イネ（梅崎ら 2004）では葉身内の生理活性に対して、それぞれ阻害的に働くことが観察されており、同系色の照射光でも超単色性の光と LED のように狭いながらも波長幅のある光とでは、植物生育に対する影響が異なると考えられる。

### (3) 炭水化物含量

各部位の可溶性糖含量を図 2-13 に示した。全ての LED 照射区において、新葉の可溶性糖含量は処理 5 日目に処理開始時の最大 6 割程度にまで低下したが、その後増加する傾向を示した。15 日目の値は青色 LED = 白色 LED > 赤色 LED の順であり、光合成速度の傾向と類似していた（図 2-11）。糖は光合成の一次産物であり、その葉中含量は光合成速度と密接に関連している。赤色 LED 区では、青色・白色 LED 区と比較して光合成速度が 5 日目以降低く推移したため、15 日目の新葉の糖含量が少なくなったと考えられた。これに対し、暗所区における可溶性糖含量は、処理 5 日目に  $2.5\ \text{mg g}^{-1}\ \text{DW}$  と大きく低下し、10 日目も大きな増加はみられなかった。また、成葉の可溶性糖含量は、各区とも処理 5 日目に

処理開始時の 3~4 割に低下後、LED 照射区ではその後一定の値で推移し、暗所区では 15 日目にほぼ 0 となった。一方、細根および木化根の可溶性糖含量は、いずれの処理区とも新葉と成葉に比較して極めて少なく、処理日数の経過とともに増加する傾向がみられたもののその程度は小さく、処理区間に有意な差は認められなかった。

次に、各部位のデンプン含量を図 2-14 に示した。新葉と成葉のデンプン含量は、各区とも処理 5 日目に処理開始時の 6~7 割程度に低下した後、いずれの処理区ともほぼ一定の値で推移し、処理区間に有意な差は認められなかった。一方、細根および木化根のデンプン含量は、暗所区で他の処理区に比べやや高い値で推移する傾向がみられた。デンプンは糖の貯蔵形態であるが葉中での含量は比較的少なく、また蓄積に比較的長期間を要することから、処理間で明確な差が現れなかったと考えられた。また、根の貯蔵デンプンは主に新芽生育時の呼吸基質として使われる（岡野 2008）。このことから、新芽が処理後早い段階で枯死し始めた暗所区では新芽生育に利用されずに残存したため、根のデンプン含量が比較的多く推移したと考えられた。

生育量（新芽重）の増加をみると、LED 照射区では処理 15 日間で 4 割程度増加したものの、顕著な光質間差異はみられず（図 2-10）、光合成速度および糖含量の変化とは異なっていた。新葉のデンプン含量への影響が処理後 15 日目に現れ始めたことから、本研究において、光質間の差異が生育に反映されるまでには、より長期間の処理が必要であると考えられた。このことは、青色光照射で乾物重の増加がみられたナス、リーフレタスの処理期間は 25 日、ヒマワリは 42 日であった（平井ら 2006）ことから支持される。加えて、チャは同化器官である新芽や成葉に対して、根、枝等の非同化器官の割合が高く、光合成生産に対して樹体維持のため呼吸消費量も大きい（酒井 1987）。つまり、根などの他器官への光合成産物の転流が多いことに加え、低光量（LED 照射光強度  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）に伴い新芽への分配量がさらに低下したため、生育量に明瞭な光質間差異が表れなかった可能性が考えられる。

#### (4) 窒素吸収量と GS 活性

施用した硫酸アンモニウムに由来する窒素吸収量を部位別に図 2-15 A に示した。植物体全体の窒素吸収量は、処理 5 日目までは各処理区とも同程度であったが、暗所区ではそれ以降大きな増加はみられなかった。一方、LED 照射区において、窒素吸収量は処理期間を通して増加し、15 日目の値は青色 LED > 白色 LED > 赤色 LED の順であった。

処理 15 日目の各処理区の植物体全体の窒素吸収量を 100 とした場合の各部位への分布割



合を図 2-15 B に示した。青色 LED 区と白色 LED 区とでは、類似した分布割合を示し、新芽が 3~4 割、成葉が約 1 割、幹が約 2 割、根が 3~4 割であった。これに対し、暗所区では新芽の割合が 1 割以下と少なく、根の割合が約 6 割と高かった。赤色 LED 区では、青色・白色 LED 区と暗所区の間隔的な分布割合を示し、新芽が 1~2 割、根が約 5 割であった。

細根の GS 活性は、いずれの処理区とも処理開始以降に低下する傾向を示した (図 2-16) が、処理区間に明確な差異はみられなかった。しかし、GS 活性が 0 となった日を比べると、暗所区と赤色 LED 区では処理 10 日目、青色 LED 区と白色 LED 区では処理 15 日目であった。

根から吸収された無機態窒素は、アミノ酸に同化され、タンパク質や核酸など重要な構成成分となる。チャは窒素の吸収量が多く、地上部で利用されない余剰分がアミノ酸やアミドとして新芽中に蓄積され、その含有量が多いほど品質 (呈味) がよいとされる (竹尾 1981)。光質と窒素吸収同化の関係をみると、窒素吸収量は青色 LED > 白色 LED > 赤色 LED > 暗所の順で多く (図 2-15 A)、光合成速度や蒸散速度 (図 2-11)、吸水量 (図 2-12) と一致していた。滝本ら (2006) は、チャの砂耕栽培において窒素を溶液で与えた場合、遮光処理によって吸水量が低下し、これに同調して窒素吸収量も低下することを報告している。また、環境要因やそれに伴う茎葉の形態変化も蒸散速度を介して窒素吸収速度を抑制することが知られており (平沢 1998)、蒸散と窒素吸収の間には密接な関係が成り立っていると考えられている。また、根の GS 活性も窒素吸収量および光合成速度と同様に、青色・白色 LED > 赤色 LED > 暗所の順であった (図 2-16)。GS は光合成由来の ATP と NADPH を用いてアンモニアとグルタミン酸からグルタミンを合成するアンモニア同化の鍵酵素である (山岸 1994)。したがって、光合成速度の増加は吸収された窒素の同化を促進すると考えられる。これらのことから、本研究では、青色光照射により気孔開口が促進され、蒸散量の増加と光合成速度の上昇に伴い窒素の吸収同化が促進されたと考えられた。さらに、赤色 LED 区の吸収窒素の分布割合は、青色・白色 LED 区に比べて新芽で低かったことから (図 2-15 B)、根で吸収された窒素の地上部への転流は、光合成や蒸散速度と同様に、青色光の照射下で促進され、赤色光のみの照射下では抑制されることが考えられた。

### 2.3.3 明期の影響

多くの作物で明期 (日長) が植物の生育に及ぼす影響についての研究が行われている。明期は花芽形成を通じて子実収量に関与する一方で、作物体中の成分含量や炭水化物含量

にも影響を及ぼすことが示されている。シバ (Xu ら 2004), ブルーベリー (Darnell 1991) およびソラマメ (Chatterton and Silvius 1979) では, 明期が生育量, 葉中クロロフィル含量, 炭水化物の分配などに及ぼす影響が明らかにされている。また, ゴマのセサミン含量 (Hata ら 2012) やミントの精油成分 (Farooqi ら 1999, Malayeri ら 2010) が, 明暗期の違いによって変動することも報告されている。チャでは, 暗黒下で生育させると葉中のカテキン類含量が通常の日長下に比べ大きく減少することが示されている (Forrest 1969)。しかしながら, 異なる明暗期条件下でチャを生育させた場合の新芽の生育, 光合成能や機能性成分の変動等については, ほとんど明らかにされていない。これらの基礎的な知見を得ることは被覆栽培下での品質向上や適正な栽培管理技術の確立に寄与すると考えられる。

そこで, チャの1年生苗を用いて新芽の萌芽期から異なる明暗期条件下で生育させ, 明期がチャの生育, 葉の形態, 光合成能, 炭水化物の分配および新芽成分に及ぼす影響を調査した。

### 2.3.3.1 材料および方法

#### (1) 供試材料および処理方法

2012年3月15日, 1年生「やぶきた」挿し木苗(2011年6月挿し)を地上約20cmでせん枝し, 茶業研究センターのビニールハウス内で数日間育成した。4月10日に最上位節の新芽が概ね萌芽した各苗を, 肥料溶液(2.3.1.1(1)項と同様)を深さ8cmまで満たしたプラスチックコンテナに入れ, 人工気象器内(2.3.1.1(1)項と同機種)内へ16日間設置し光照射処理を行なった。光照射時間は, 0-h/24-h(暗所), 2-h/22-h, 4-h/20-h, 8-h/16-h および12-h/12-hの明暗期サイクルの5区とし, 1区当たり苗5本の3反復とした。光源には白色LED(2.3.1.1(1)項と同機種)を用いて, LED照射強度は植物体の最上位葉の位置でPPFD  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ となるよう光量子センサー(2.3.1.1(1)項と同機種)を用いて調整した。肥料溶液はコンテナ内が常に深さ8cmに保たれるよう随時追加した。

#### (2) 成葉の光合成速度の測定

処理開始から16日後, 各区から任意の苗1本を選定し, 植物体の上位節の成葉を対象として, 光合成蒸散測定装置(2.3.1.1(2)項と同機種)を用いて光合成速度を計測した。測定条件はチャンバー内温度を25℃, 葉面光合成有効放射量を100, 400, 700および1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の4段階とした。

#### (3) 新芽の生育量および形態的特徴の測定

成葉の光合成速度を計測した後、各苗から全ての新芽を収穫し、全新芽重、最上位節の新芽長、新葉数、第3葉位の新葉の厚さおよび葉色を2.3.1.1(3)項と同様の方法で測定した。その後、新芽を少量製茶蒸機により蒸熟し、成分分析時まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。

#### (4) 各部位の炭水化物含量および新芽の成分含量の測定

新芽の収穫後、2.3.1.1(4)項と同様の方法で、部位別に微粉碎した試料を用いて可溶性糖とデンプンを分析した。さらに、冷凍保管しておいた新芽を、2.3.1.1(5)項と同様の方法で、凍結乾燥後粉碎し、クロロフィルおよび遊離アミノ酸の定量に供した。

### 2.3.3.2 結果および考察

#### (1) 新芽の生育量および形態

明暗期（明期／暗期）の違いが新芽の生育および形態に及ぼす影響を表2-6および写真2-3に示した。全新芽重は明期が短くなるのに伴い顕著に減少した。0-h/24-h区的全新芽重は、2-h/22-h・4-h/20-h区の約50%、8-h/16-h・12-h/12-h区の約30%と少なかった。0-h/24-h・2-h/22-h・4-h/20-h区の新芽長および新葉数は、8-h/16-h・12-h/12-h区よりも小さく、明期が短いほど葉の大きさや厚みは小さくなった。これらのことから、短明期（または長暗期）下ではチャ葉の分化や拡大の抑制を通して新芽生育が低下することが示唆された。なお、0-h/24-h区では2.3.1項の $0\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ 区と同様に正常な葉の拡大が行われなかったため、葉厚および葉色を計測することができなかった。

次に、葉色についてみると、明期が短くなるほど $L^*$ 値および $C^*$ 値は大きく、 $\Delta h$ 値は小さくなり、写真2-3に示すように、葉色が緑色から黄白色に変化した。また、クロロフィル含量も明期が短いほど減少した（表2-7）。2.3.1.2(1)項で示したとおり、葉の白化は低光量下で起こることが示されている（Fitter and Hay 2001, Kruk 2005）。また、ケール（Lefsrudら 2006）やトマト（Shahbaziら 2007）では、1日当たりの明期を6hとして生育させた場合、明期12~24hの場合と比較してクロロフィル含量が減少した。これらのことから、明期の減少（暗期の増加）に伴い、クロロフィルの生成が抑制され白化が生じたと推察された。

#### (2) 成葉の光合成速度および部位別炭水化物含量

処理16日後の成葉の光合成速度を図2-17に示した。100~1,000  $\mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ の測定光強度下での光合成速度は、8-h/16-h $\geq$ 12-h/12-h $>$ 4-h/20-h $\geq$ 2-h/22-h $>$ 0-h/24-hの順で高く、全新芽重、新芽長と概ね同様の傾向であった。これらの結果から、2.3.1項と同様に、チャの生育は成葉の光合成速度と密接に関係していることが示された。チャの光飽和点は、陽葉

と比較して陰葉で低いことが示されている（酒井 1987）。しかしながら、今回の試験における各区の光飽和点は概ね  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  付近であり（図 2-17）、大きな区間差はみられなかった。このことから、チャの光飽和点は短期間（16 日間）の明期の影響を受けないと推察された。

処理開始時と終了時の各部位の可溶性糖含量を図 2-18 に、デンプン含量を図 2-19 に示した。全ての区において、各部位の可溶性糖およびデンプン含量は、処理前と比較して概ね半分以下に減少した。したがって、2.3.1 項の光強度試験と同様に、新芽生育と呼吸による炭水化物の消費量が光合成による生産量を上回ったと考えられ、新芽生長に対する貯蔵炭水化物の重要性が示された。

成葉の可溶性糖含量は、0-h/24-h 区を除くと明期が短いほど少なくなった。その一方で、0-h/24-h 区の可溶性糖含量は 4-h/20-h・2-h/22-h 区よりも有意に高くなった。根のデンプン含量も同様に、0-h/24-h 区でやや多くなる傾向がみられた。植物の呼吸には、維持呼吸と生長呼吸がある（Amthor 1989）。新芽生育量が極端に低かったことから、0-h/24-h 区における呼吸による炭水化物消費は、主に維持呼吸によるものと推察される。したがって、0-h/24-h 区では、光合成速度が顕著に低かったにもかかわらず、一部の部位では生長呼吸により消費された炭水化物が非常に少なく、2-h/22-h 区よりも炭水化物含量が多くなったと考えられる。ブルーベリー（Darnell ら 1991）では、自然日長から 2~3 時間減少した場合に葉中のデンプン濃度が半分以下に低下したことが報告されている。トウガラシでは、明期の減少に伴って新芽や根の乾物重が少なくなることが報告されている（Yamamoto ら 2008）。以上のことから、明期の減少（または暗期の増加）はチャの光合成産物の蓄積を低下させるが、新芽生育が強く抑制される暗所（0-h/24-h）下では、光照射した場合より生長呼吸による消費量が小さく、炭水化物含量が高くなったと考えられた。

### (3) 新芽の遊離アミノ酸含量

明暗期の違いが新芽中の遊離アミノ酸含量に及ぼす影響を表 2-8 に示した。8 種のアミノ酸含量は、明期が短いほど高くなった。0-h/24-h 区のアスパラギン、アスパラギン酸、アルギニン含量は 12-h/12-h 区のそれぞれ 2, 15, 4 倍となり、0-h/24-h・2-h/22-h 区のアミノ酸含量は、8-h/16-h・12-h/12-h 区の約 2 倍に高まった。これらの結果として、0-h/24-h 区の TFAA 含量は、8-h/16-h・12-h/12-h 区の 2 倍以上になった。このような低光量下で TFAA や各アミノ酸含量が増加する傾向は、2.3.1 項で示した光強度の低下に伴うアミノ酸含量の増加とほぼ一致した。したがって、本試験でみられたアミノ酸含量の増加についても、前

出の遮光下でのテアニン分解抑制（小西・高橋 1969）や暗所下でのアルギニン、アスパラギン酸の増加（Kaur-Sawhney ら 1982, Lea ら 2006, Joy ら 1983）と同様に、低光量下におけるアミノ酸代謝の変化によるものと考えられた。

## 2.4 総合考察

本章では、チャの樹体内デンプンの簡易分析法を確立するとともに、光環境条件がチャの光合成能や炭水化物の分配に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。チャの光合成産物の動態の詳細を解明するためには、炭水化物の転流形態である可溶性糖と貯蔵形態であるデンプンを分別定量することができ、多数の試料を効率よく分析できる簡便性、能率、コスト等の点で優れた分析法が必要である。これまで行われたチャの光合成や物質生産に関する研究においては、幾つかの炭水化物の定量法が用いられてきた（讃井ら 1966, 酒井 1968, 青木 1985a, 東島ら 2001）。しかしながら、これらの方法には、分別定量の可否、操作の簡便性・能率、コストなどの点で長短があり、樹体内炭水化物の分配メカニズムや蓄積量を詳細に解明するための最適な分析法は確立されていなかった。そこで、チャの樹体内デンプンの簡易定量法としてヨウ素法の抽出条件と有効性を検討した。その結果、測定波長をチャの中根デンプンの最大吸光波長である 600 nm とし、熱水抽出時間を 10 分以上とするのが適当であると考えられた。デンプン含量の異なる中根、太枝、成葉の試料を用いて定量を行った結果、ヨウ素法の測定値と対照法（過塩素酸抽出・フェノール硫酸法）の測定値との間には、高い相関関係（ $r = 0.98$ ）が認められ、ヨウ素法の有効性が明らかになった。ただし、デンプン含量が低濃度（概ね  $30 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  以下）の試料に適用する場合には、ヨウ素法の測定値は対照法よりも低くなることから留意が必要である。一方、ヨウ素法は対照法と比較して、分析時間が約 1/3 に短縮され、コストは 1/90 に削減されるとともに、濃硫酸等の劇物試薬を使用しないことから、廃液処理の煩雑さも大幅に減少した。これらのことから、ヨウ素法は、迅速かつ安価であり、安全性が高く操作性に優れた分析方法であることが明らかになった。

次に、チャの光環境応答についての基礎的な知見を得るため、LED を用いた実験により、光強度、光質および明期がチャに及ぼす影響を明らかにした。最初に、光強度がチャの生育、光合成能および炭水化物の分配に及ぼす影響を調査した。光強度を PPFD で 0, 10, 100, 500,  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  の 5 段階として 1 年生苗に対し 16 日間照射した結果、光強度の低下に伴い、全新芽重、新芽長、新葉数および葉厚は減少し、成葉の光合成および蒸散

速度は低下した。このことから、光強度は、チャの光合成能を制御し、葉の分化や拡大の抑制を通して新芽の生育に影響を及ぼすことが示唆された。葉色についてみると、 $10\sim 1,000\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ の範囲では光強度の低下に伴って濃緑程度が増加したが、 $0\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ 区(暗所区)では葉色が黄白色になり、クロロフィル含量は顕著に低下した。小林ら(2011)は、光強度の低下に伴いチャの葉色は濃緑化が進むが、暗所下では黄白色化したことを報告している。このような暗所下における葉の白化現象は幾つかの作物でも確認されている(Fitter and Hay 2001, Kruk 2005)。これらのことから、チャの新葉は光量の減少に伴って濃緑化するが、 $10\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ を下回るような極めて低い光強度下では白化が促進されると考えられた。また、光照射処理期間中に各部位の可溶性糖とデンプン含量の大きな減少が認められた。この減少は新芽生育と呼吸による炭素の消費量が光合成による炭素生産量を上回ったことを意味しており、葉、枝、根の貯蔵炭水化物が茶樹の新芽生長に利用される重要な炭素源となっていることが示され、特に本試験で供試したような幼茶樹ではその貢献度が高まることが推察された。新芽の遊離アミノ酸含量は、光強度の低下に伴って多くなり、特にアスパラギン、アスパラギン酸、アルギニン、テアニン含量が顕著に増加した。暗所下でアルギニン蓄積やアスパラギン含量が増加することが、エンバク(Kaur-Sawhneyら 1982)、シロイズナズナ(Leaら 2006)、エンドウ(Joyら 1983)でも示されている。以上のことから、光強度は、光合成能の変化を介してチャの新芽生育、炭水化物分配に加え、アミノ酸代謝にも深く関与することが明らかになった。

次に、光質がチャの生育、光合成能、炭水化物の分配および窒素吸収に及ぼす影響を調査した。赤色、青色および白色のLED光を、水耕2年生茶樹に対して15日間照射した結果、新芽重には、赤、青、白色LED照射区間で有意な差はみられなかったが、自然光下で栽培した場合と比較して新葉の形態変化がみられた。特に、赤色LED区では、しわ、光沢および背軸側への湾曲が顕著であった。新葉の光合成速度、蒸散速度、気孔コンダクタンスおよび吸水量は、概ね青色LED>白色LED>赤色LEDの順で高かった。青色光を欠く赤色光単独照射のみで正常な生育が得られにくく、青色光に起因する葉や茎の形態形成が不十分となり発達が抑制されることが知られている(後藤 2007, 飯野 2001)。また、気孔の開口は青色光に応答し、気孔コンダクタンスが上昇し蒸散及び光合成が促進されることが、ソラマメ(Hsiao and Allaway 1973, 島崎・木下 2001)、インゲンマメ(木村・鈴木 2002)、エンドウ(ト蔵 1965)で観察されている。これらのことから、チャにおいても青色光を含む光によって光合成能が上昇する一方で、赤色光の単独照射下では光合成能の低下とともに

に新葉の正常な形態形成が阻害されると推察された。また、各部位の炭水化物含量を測定した結果、新葉の可溶性糖含量は赤色 LED 区で低く、光合成速度と類似した変化がみられた。糖は光合成の一次産物であり、赤色 LED 区での糖含量低下は光合成速度の低下に伴うものと推察された。一方、デンプン含量は、処理 5 日目までに新葉および成葉で 3~4 割程度の低下がみられたが、LED 照射区間では明確な差がみられなかった。デンプンは糖の貯蔵形態であるが、葉中での含量は比較的少なく、また蓄積に比較的長期間を要する。このことが処理間で明確な差が現れなかった一要因と考えられた。また、根の貯蔵デンプンは主に新芽生育時の呼吸基質として使われる（岡野 2008）。このことから、新芽が処理後早い段階で枯死し始めた暗所区では新芽生育に利用されずに残存したため、根のデンプン含量が比較的多く推移したと考えられた。

新芽の生育量には、LED 照射区間で顕著な差はみられず、光合成速度および糖含量の変化とは異なった。新葉のデンプン含量への影響が処理後 15 日目に現れ始めたことから、光質間の差異が生育に反映されるまでには、より長期間の処理が必要であると考えられた。加えて、チャは同化器官に対して非同化器官の割合が高く、光合成生産に対して樹体維持のため呼吸消費量も大きい（酒井 1987）。つまり、根などの他器官への光合成産物の転流が多いことに加え、低光量（PPFD  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）に伴い新芽への分配量がさらに低下したため、生育量に明瞭な光質間差異が表れなかった可能性が考えられる。

処理期間中の植物体全体の窒素吸収量や細根の GS 活性は、青色 LED > 白色 LED > 赤色 LED の順となり、光合成速度や蒸散速度と一致していた。また、赤色 LED 区では、新芽への窒素の分配割合が低く、根への分配割合が高かった。蒸散と窒素吸収の間には密接な関係が成り立っていると考えられている（滝本ら 2006, 平沢 1998）。GS は光合成由来の ATP と NADPH を用いてアンモニア同化を行う（山岸 1994）ことから、光合成速度の増加は吸収された窒素の同化を促進すると考えられる。これらのことから、本研究では、青色光照射により気孔開口が促進され、蒸散量の増加と光合成速度の上昇に伴い窒素の吸収同化が促進されたと考えられた。

以上のことから、チャにおいては、光質は気孔コンダクタンスの変化と、それに伴う蒸散および光合成活性の変動を介して、窒素の吸収同化にまで影響を及ぼすことが明らかになるとともに、光合成および窒素吸収能の向上には青色光を含む光が有効であることが示唆された。

次に、明期がチャの生育、光合成能および炭水化物の分配に及ぼす影響を調査した。明

暗期（明期／暗期）を 0-h/24-h, 2-h/22-h, 4-h/20-h, 8-h/16-h, 12-h/12-h の 5 段階として、1 年生苗に対し 16 日間の照射処理を行った。その結果、全新芽重、新芽長、新葉数および葉厚は明期が短くなるほど減少し、成葉の光合成速度は概ね 12-h/12-h・8-h/16-h, 4-h/20-h・2-h/22-h, 0-h/24-h の順で高い傾向がみられたことから、明期はチャの光合成能の変化や葉の分化、拡大の抑制を通して新芽の生育に影響を及ぼすことが示唆された。葉色についてみると、明期の減少に伴って、葉色が緑色から黄白色に変化した。また、クロロフィル含量も短明期下で減少した。多くの作物で、暗黒またはそれに近い明暗期条件下でクロロフィル含量の低下や白色化が起こることが確認されている (Fitter and Hay 2001, Kruk 2005, Lefsrud ら 2006, Shahbazi ら 2007)。このことから、チャにおいても、明期の減少（暗期の増加）に伴いクロロフィル合成が抑制され、光強度試験（2.3.1 項）における  $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区と同様に、0-h/24-h（暗所）区では顕著な白化が起こったと考えられる。

各部位の可溶性糖とデンプン含量は、光強度試験（2.3.1 項）と同様に処理後に大きく減少したことから、新芽生育に対する貯蔵炭水化物の重要性が再確認された。枝および根の糖含量には大きな区間差はみられず、成葉の糖含量は 12-h/12-h から 2-h/22-h までは明期が短くなるほど低くなったものの、0-h/24-h 区では高くなった。また、0-h/24-h 区の枝と根のデンプン含量は他の区よりやや高くなる傾向がみられた。新芽生育量が極端に低かった 0-h/24-h 区における呼吸による炭素消費は主に維持呼吸によるものと推察され、0-h/24-h 区では、光合成速度が顕著に低かったにもかかわらず、生長呼吸により消費されるべき炭素が非常に少なかったため、2-h/22-h 区と比較して可溶性糖およびデンプン含量が高くなったと考えられた。また、新芽の遊離アミノ酸含量は明期の減少に伴って増加し、光強度試験（2.3.1 項）と同様に、アスパラギン、アスパラギン酸、アルギニン、テアニンの増加が顕著であった。

以上のことから、明期は、光強度と同様にクロロフィル代謝および光合成能の変化を通して新芽生育、形態および炭水化物の分配に影響を及ぼすとともに、アミノ酸代謝にも関与することが明らかになった。

本研究の予備試験として 1 年生苗を、長明期 (12-h/12-h)・強光 (PPFD  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )、短明期 (2-h/22-h)・強光 (PPFD  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) および長明期 (12-h/12-h)・弱光 (PPFD  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) の 3 条件下で生育させたところ、長明期・強光区に対して、短明期・強光区と長明期・弱光区ではアミノ酸含量が 3 倍に増加し、長明期・弱光区ではカテキン含量が 7 割程度に減少した (Suzuki ら 2010)。また、ミントでは異なる明期と光強度の組合せ



で光照射を行った場合、1日当たりの照射光量（明期×光強度）が同じでも、葉中の精油成分含量が異なっていたことが報告されている（Malayeri ら 2010）。これらのことから、同一の照射光量であっても光強度と明期の組合せにより葉中の成分の代謝が異なることが示唆される。今回の試験では、光強度、光質、明期についてそれぞれ単一条件下で試験を行ったが、今後、光強度と明期の組合せについても研究の余地がある。また、他の作物でも成果が得られているとおり、複数色光の組合せとその比率、パルス照射などが新芽生育や成分変動に及ぼす影響についても解明を進めることにより、LED のチャ栽培への活用が期待できると考えられる。

以上のことから、第2章においてチャの簡易デンプン分析法を確立するとともに、光強度、光質および明期の光環境条件がチャの生育、光合成能、炭水化物の分配および窒素代謝に及ぼす影響について基礎的な知見を得ることができた。

## 2.5 要約

### 2.5.1 樹体内デンプンの簡易分析法の確立

チャの樹体内デンプンの簡易定量法として熱水抽出・ヨウ素法を開発した。本ヨウ素法では、熱水抽出時間を10分以上として、ヨウ素呈色による測定波長を600 nmにするのが適当であった。ヨウ素法の測定値と対照法（過塩素酸抽出・フェノール硫酸法）の測定値との間に高い相関関係が認められた。ただし、成葉など低濃度の試料を対象とした場合は、ヨウ素法の測定値が対照法よりやや低くなるため留意が必要である。また、ヨウ素法は対照法と比較して、分析時間が1/3に短縮、コストは1/90に削減できるとともに、劇物試薬を使用しないことから、迅速、安価で、安全性と操作性に優れた分析方法である。

### 2.5.2 光環境条件がチャの光合成能および炭水化物の分配に及ぼす影響

#### 2.5.2.1 光強度の影響

光強度がPPFD  $0\sim 1,000\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$  の範囲で、1年生茶樹に対し白色LEDを用いて16日間照射した。光強度の低下に伴い、全新芽重、新芽長、新葉数および葉厚は減少した。10～1,000  $\mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$  の範囲では、光強度の低下に伴って新葉の濃緑程度が増加したが、0  $\mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$  (暗所) 区ではクロロフィル含量が顕著に低下し新芽の葉色は黄白色となった。各部位の炭水化物含量は光照射処理期間中に大きく減少し、低光量下での成葉および枝の可溶性糖、デンプン含量が減少する一方で、0  $\mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$  区では新芽生育の抑制に伴い一部の炭水化物の消費が抑制された。また、新芽の遊離アミノ酸含量は光強度の低下に伴っ

て増加した.

### 2.5.2.2 光質の影響

赤色, 青色および白色 LED (照射強度はいずれも PPF $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) を用いて, 水耕幼茶樹に対して 15 日間照射した. その結果, 新芽生育量には光質間に有意な差はなかった. しかし, LED 照射区では葉の形態に変化がみられ, 特に, 赤色 LED 区では, しわ, 光沢, 背軸側への湾曲 (エピナスティー) が顕著であった. また, 新葉の光合成速度, 蒸散速度, 気孔コンダクタンスおよび可溶性糖含量は, 青色 LED および白色 LED 照射下で高く, 赤色 LED 照射下で低かった. さらに, 赤色 LED 照射下では, 根の GS 活性が早期に低下し, 植物体の窒素吸収量に加え新芽への窒素転流量も少なかった.

### 2.5.2.3 明期の影響

明暗期サイクル (明期/暗期) を 0-h/24-h, 2-h/22-h, 4-h/20-h, 8-h/16-h, 12-h/12-h とし, 1 年生茶樹に対し 16 日間の照射処理を行った. 明期の減少に伴い, 全新芽重, 新芽長, 新葉数および葉厚は減少した. また, 明期の減少に伴って, クロロフィル含量は減少し新芽の葉色が緑色から黄白色となり, 0-h/24-h (暗所) 区では顕著な白化が起こった.

各部位の炭水化物含量は光照射処理期間中に大きく減少し, 明期が短くなるほど少なくなる一方で, 0-h/24-h (暗所) 区では新芽生育の抑制に伴い一部の炭水化物の消費が抑制された. また, 新芽の遊離アミノ酸含量は短明期下で多くなった.

表 2-1 ヨウ素法における抽出方法の違いがチャ成葉のデンプン測定値に及ぼす影響

		(mg g <sup>-1</sup> DW)							
定量・抽出方法		サンプル番号							
		1	2	3	4	5	6	7	8
ヨウ素法	熱水抽出	0.9	1.2	1.3	1.6	1.3	1.8	17.5	26.0
	過塩素酸抽出	2.0	2.2	2.5	2.1	3.1	3.1	30.3	39.5
対照法	過塩素酸抽出	26.5	25.9	29.2	31.0	32.0	35.1	50.0	65.8

表 2-2 ヨウ素法と対照法の分析時間およびコストの比較

定量方法	分析時間 (時間)	コスト (円)
ヨウ素法	2.0	13
対照法	5.6	1,168

試料 24 点当たり.

表 2-3 光強度が新芽の生育および形態に及ぼす影響

光強度 ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	全新芽重 (mg FW plant <sup>-1</sup> )	最上位節の新芽					
		新芽長 (mm)	新葉数 (枚)	葉厚 ( $\mu\text{m}$ )	葉色 L* c* $\Delta\text{h}$		
1000	1422.0 <sup>a</sup>	117.7 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>	229 <sup>a</sup>	40 <sup>a</sup>	25 <sup>a</sup>	122 <sup>b</sup>
500	1377.3 <sup>a</sup>	113.8 <sup>a</sup>	3.9 <sup>abc</sup>	224 <sup>a</sup>	37 <sup>b</sup>	21 <sup>b</sup>	124 <sup>b</sup>
100	1378.0 <sup>a</sup>	112.8 <sup>a</sup>	4.1 <sup>ab</sup>	192 <sup>b</sup>	33 <sup>c</sup>	15 <sup>c</sup>	130 <sup>a</sup>
10	978.7 <sup>b</sup>	82.7 <sup>b</sup>	3.7 <sup>bc</sup>	192 <sup>b</sup>	33 <sup>c</sup>	15 <sup>c</sup>	132 <sup>a</sup>
0	512.0 <sup>c</sup>	72.1 <sup>b</sup>	3.6 <sup>c</sup>	—	—	—	—

同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

葉厚および葉色は第 3 葉位の葉を対象として測定した.

表 2-4 光強度が新芽のクロロフィル含量に及ぼす影響

光強度 ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	クロロフィル含量 ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1} \text{DW}$ )		
	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chls <i>a+b</i>
100	501.5 ± 67.0 <sup>a</sup>	186.2 ± 24.6 <sup>a</sup>	687.8 ± 91.7 <sup>a</sup>
10	491.7 ± 26.3 <sup>a</sup>	190.9 ± 5.8 <sup>a</sup>	682.6 ± 32.1 <sup>a</sup>
0	44.6 ± 6.5 <sup>b</sup>	11.2 ± 1.5 <sup>b</sup>	55.8 ± 8.0 <sup>b</sup>

Chl *a*: クロロフィル *a*, Chl *b*: クロロフィル *b*,

Chl *a+b*: クロロフィル *a* と *b* の合計値.

表中の値は平均値 ± 標準偏差 (n=3). 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  および 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区は欠測.

表 2-5 光強度が新芽の遊離アミノ酸含量に及ぼす影響

光強度 ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	遊離アミノ酸含量 ( $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ )								
	アラニン	アルギニン	アスパラギン	アスパラギン 酸	グルタミン	グルタミン 酸	セリン	テアニン	TFAA *
1000	0.2±0.1	4.3±2.0	0.1±0.0	1.4±0.2	2.8±0.9	1.5±0.1	0.8±0.5	6.4±1.8	18.0±5.0 <sup>c</sup>
500	0.3±0.0	7.3±1.4	0.1±0.0	1.3±0.2	4.6±1.0	1.6±0.1	0.4±0.0	10.3±0.8	26.7±2.9 <sup>c</sup>
100	0.3±0.0	7.3±1.0	0.4±0.0	1.5±0.0	5.1±0.1	1.6±0.2	0.6±0.1	12.5±1.7	29.9±2.8 <sup>bc</sup>
10	0.6±0.3	12.6±3.6	1.2±0.4	4.2±0.9	6.9±1.6	2.7±0.2	1.5±1.2	16.9±4.6	48.6±11.8 <sup>b</sup>
0	1.0±0.1	22.4±5.2	3.8±0.4	5.0±0.1	8.4±0.8	2.8±0.2	2.1±0.2	22.8±3.5	69.6±9.2 <sup>a</sup>

表中の値は平均値 ± 標準偏差 (n=3). 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

\*) TFAA は 8 種類のアミノ酸の合計値.

表 2-6 明暗期の違いが新芽の生育および形態に及ぼす影響

明暗期 (明期/暗期)	全新芽重 ( $\text{mg FW plant}^{-1}$ )	最上位節の新芽					
		新芽長 (mm)	新葉数 (枚)	葉厚 ( $\mu\text{m}$ )	葉色		
					L*	c*	$\Delta\text{h}$
12-h/12-h	1837.3 <sup>a</sup>	133.5 <sup>a</sup>	4.1 <sup>ab</sup>	228 <sup>a</sup>	33 <sup>d</sup>	16 <sup>c</sup>	126 <sup>a</sup>
8-h/16-h	1663.3 <sup>ab</sup>	117.3 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>	215 <sup>ab</sup>	39 <sup>c</sup>	26 <sup>b</sup>	123 <sup>a</sup>
4-h/20-h	1158.0 <sup>abc</sup>	68.4 <sup>b</sup>	3.9 <sup>abc</sup>	209 <sup>b</sup>	48 <sup>b</sup>	36 <sup>a</sup>	114 <sup>b</sup>
2-h/22-h	942.0 <sup>bc</sup>	44.8 <sup>c</sup>	3.7 <sup>bc</sup>	200 <sup>b</sup>	52 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	110 <sup>b</sup>
0-h/24-h	546.7 <sup>c</sup>	87.9 <sup>b</sup>	3.3 <sup>c</sup>	—	—	—	—

表中の値は平均値 ± 標準偏差 (n=3). 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

葉厚および葉色は第 3 葉位の葉を対象として測定した.

表 2-7 明暗期の違いが新芽のクロロフィル含量に及ぼす影響

明暗期 (明期/暗期)	クロロフィル含量(mg 100g <sup>-1</sup> DW)		
	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chls <i>a+b</i>
12-h/12-h	387.8 ± 21.7 <sup>a</sup>	148.0 ± 6.7 <sup>a</sup>	535.8 ± 28.0 <sup>a</sup>
8-h/16-h	302.2 ± 22.3 <sup>b</sup>	109.7 ± 8.7 <sup>b</sup>	411.8 ± 30.8 <sup>b</sup>
4-h/20-h	165.9 ± 22.0 <sup>c</sup>	45.3 ± 6.6 <sup>c</sup>	211.2 ± 28.4 <sup>c</sup>
2-h/22-h	88.1 ± 8.0 <sup>d</sup>	20.2 ± 1.8 <sup>d</sup>	108.3 ± 9.8 <sup>d</sup>
0-h/24-h	24.3 ± 4.3 <sup>e</sup>	7.1 ± 1.0 <sup>e</sup>	31.5 ± 5.3 <sup>e</sup>

Chl *a*: クロロフィル *a*, Chl *b*: クロロフィル *b*,

Chl *a+b*: クロロフィル *a* と *b* の合計値.

表中の値は平均値 ± 標準偏差 (n=3). 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

表 2-8 明暗期の違いが新芽の遊離アミノ酸含量に及ぼす影響

明暗期 (明期/暗期)	遊離アミノ酸含量 (mg g <sup>-1</sup> DW)								TFAA *
	アラニン	アルギニン	アスパラギン	アスパラギン 酸	グルタミン	グルタミン 酸	セリン	テアニン	
12-h/12-h	0.5±0.3	2.7±1.1	0.1±0.0	0.9±0.1	3.7±0.7	2.1±0.4	0.7±0.5	7.1±1.4	17.7±4.3 <sup>c</sup>
8-h/16-h	0.2±0.0	2.1±0.3	0.1±0.0	1.4±0.3	2.1±1.0	2.0±0.3	0.6±0.2	5.0±1.6	13.4±3.1 <sup>c</sup>
4-h/20-h	0.3±0.1	4.5±1.7	0.2±0.1	2.4±0.4	3.0±0.9	3.1±0.3	0.7±0.3	9.5±3.1	23.8±6.4 <sup>bc</sup>
2-h/22-h	0.4±0.2	6.0±1.0	1.0±0.3	3.0±0.4	3.2±0.1	3.1±0.2	1.1±0.8	12.1±0.4	30.0±2.6 <sup>ab</sup>
0-h/24-h	0.8±0.1	6.2±1.1	1.5±0.4	3.6±0.4	9.1±0.6	2.9±0.2	0.9±0.2	11.2±0.4	36.3±2.5 <sup>a</sup>

表中の値は平均値 ± 標準偏差 (n=3). 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

\*) TFAA は 8 種類のアミノ酸の合計値.

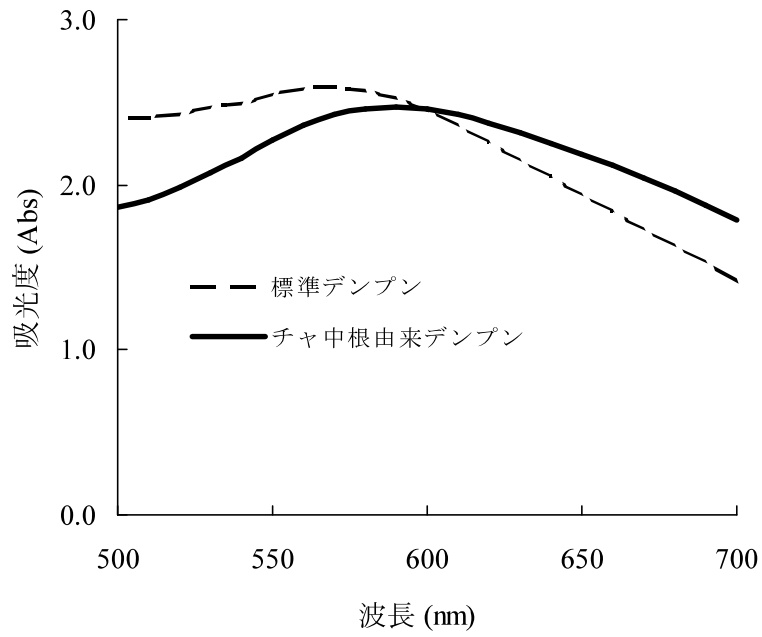


図 2-1 ヨウ素呈色した標準デンプンおよびチャ中根由来デンプンの吸収スペクトル

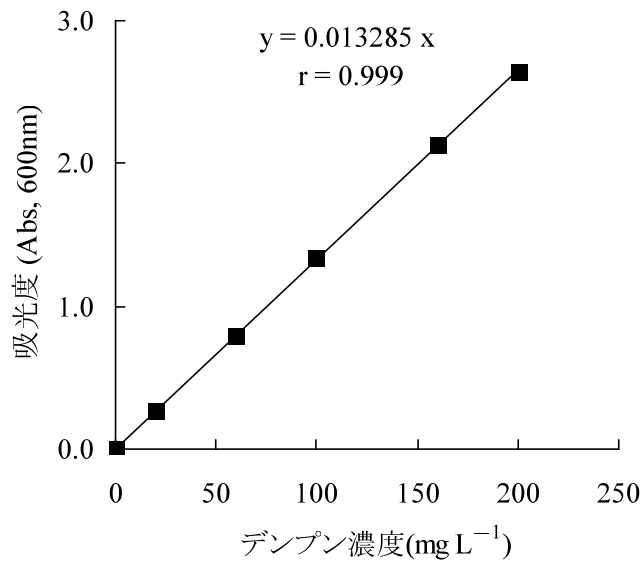


図 2-2 ヨウ素法における標準デンプン濃度と吸光度 (600 nm) との関係

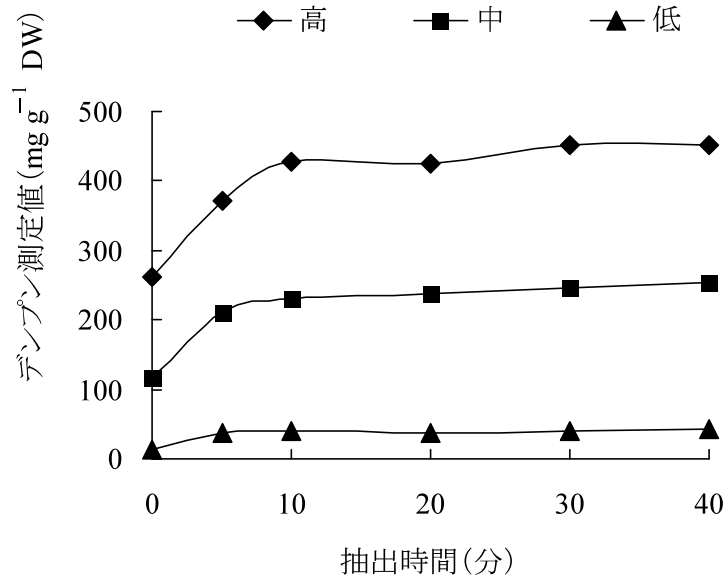


図 2-3 ヨウ素法における熱水抽出時間の違いがチャ中根のデンプン測定値に及ぼす影響  
 デンプン濃度の異なる 3 種類 (高, 中, 低) の試料を用いた.

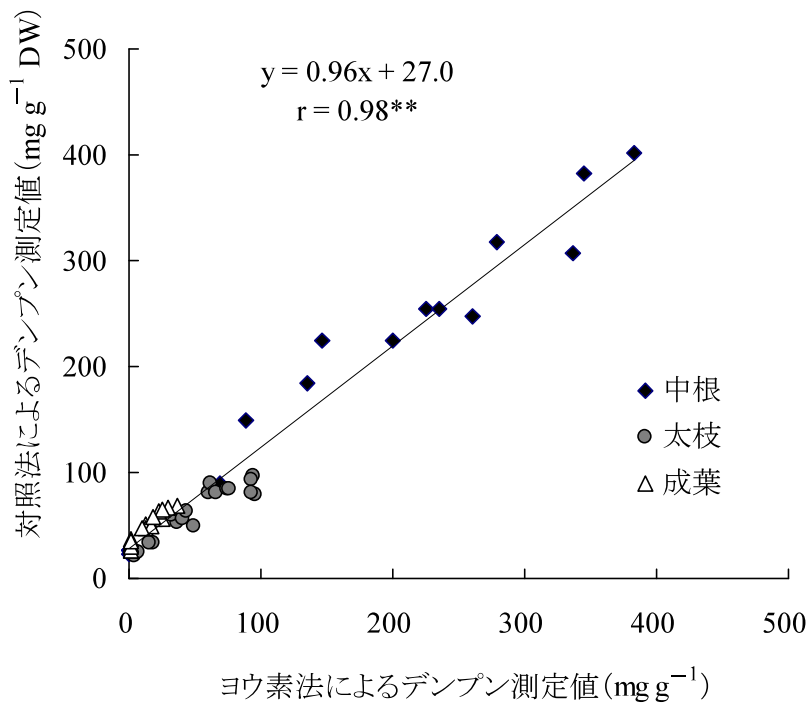


図 2-4 ヨウ素法と対照法によるチャ各部位のデンプン測定値間の関係  
 中根 n=16, 太枝 n=18, 成葉 n=20, \*\* ; 1%水準で有意.

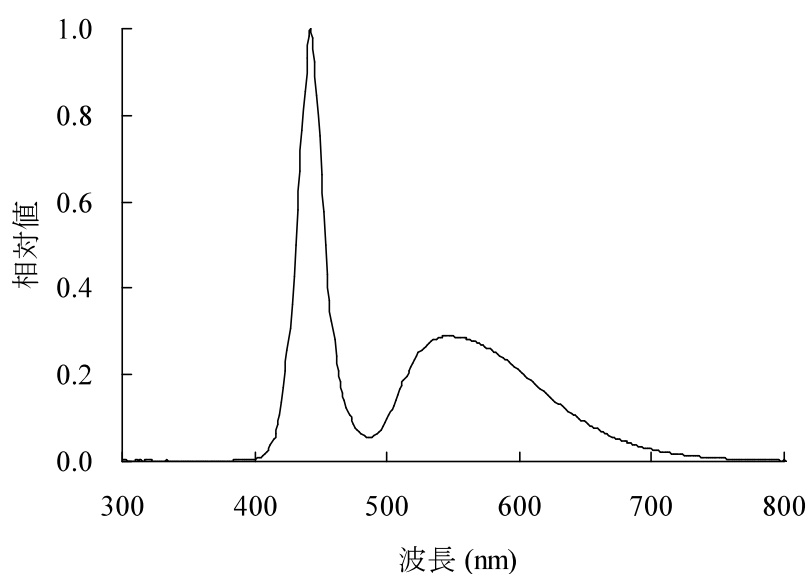


図 2-5 照射に用いた白色 LED の波長特性

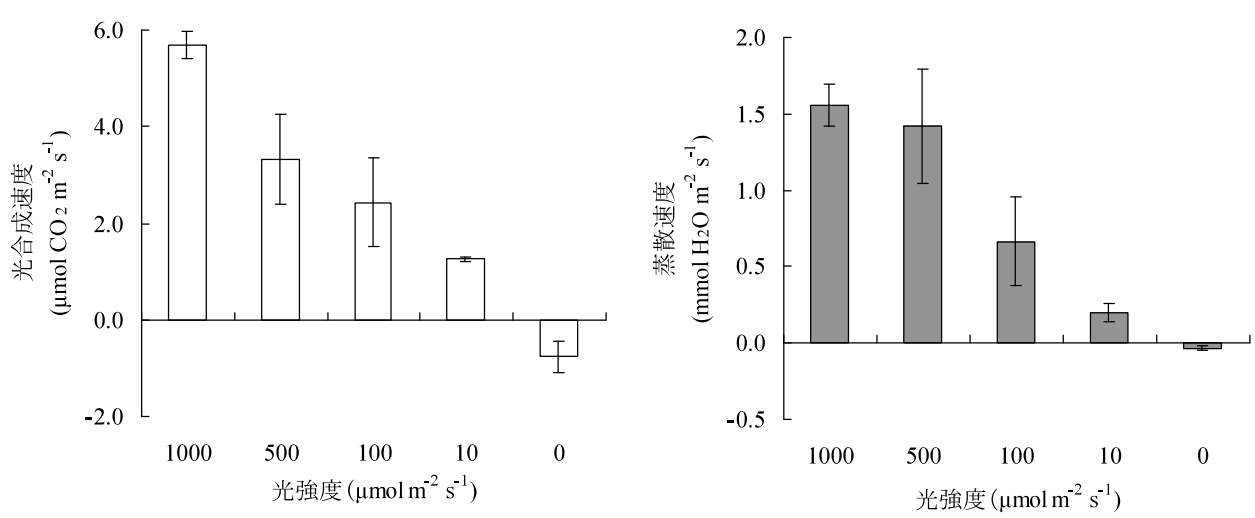


図 2-6 光強度が照射処理後の成葉の光合成（左）および蒸散（右）速度に及ぼす影響  
縦棒は標準偏差（n=3）.



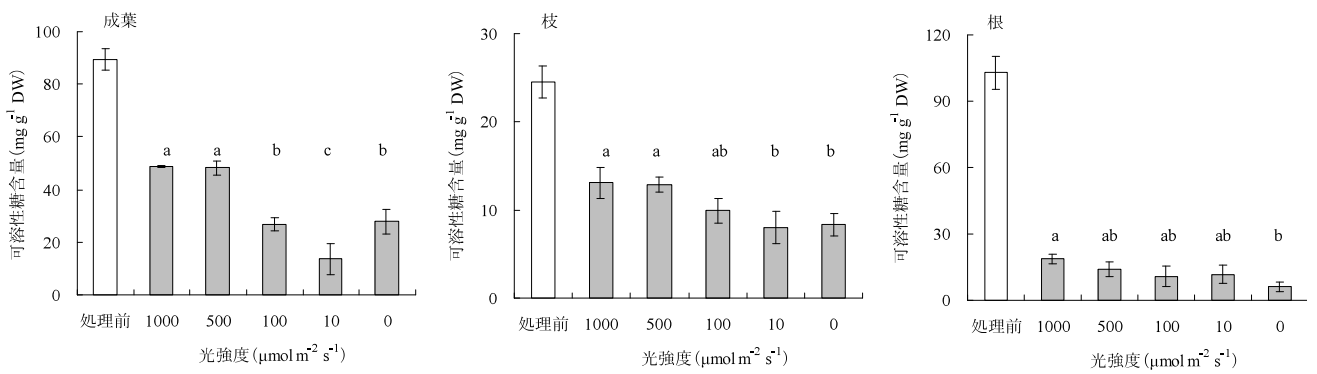


図 2-7 光強度が各部位の可溶性糖含量に及ぼす影響。

縦棒は標準偏差 (n=3)。

処理前を除く同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%)。

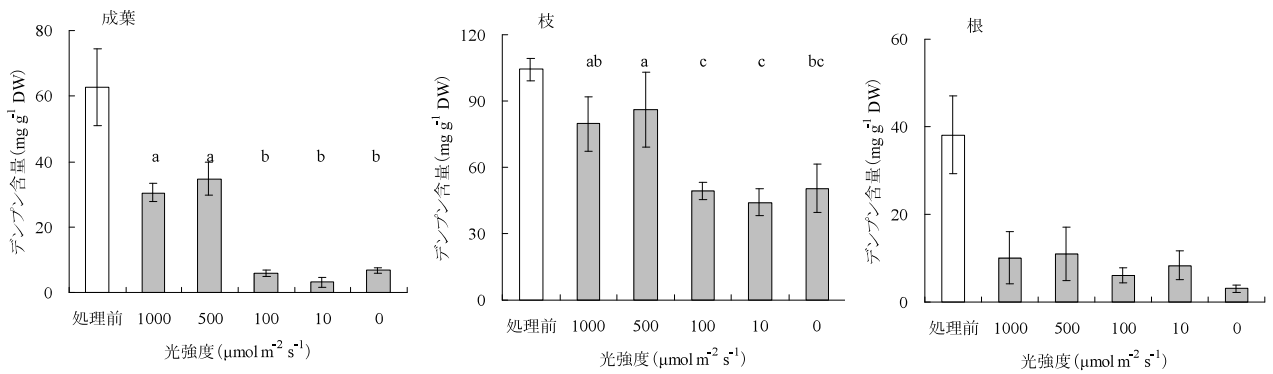


図 2-8 光強度が各部位のデンプン含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3)。

処理前を除く同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%)。

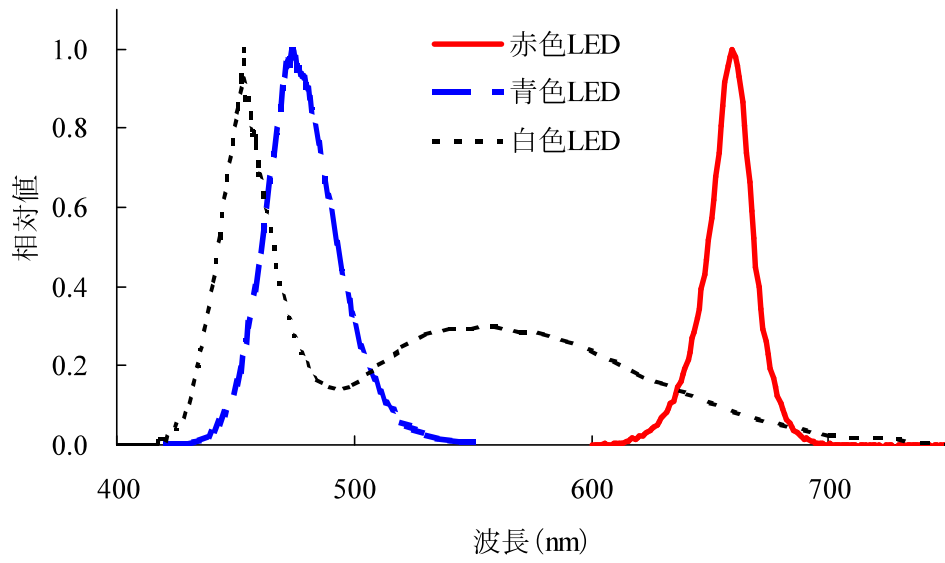


図 2-9 照射試験に用いた各 LED の波長

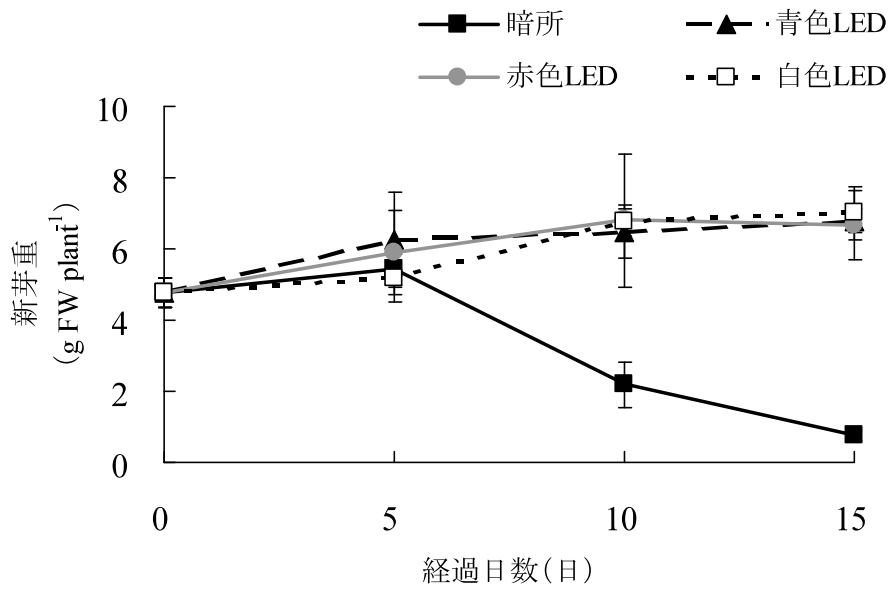


図 2-10 光質が新芽重に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

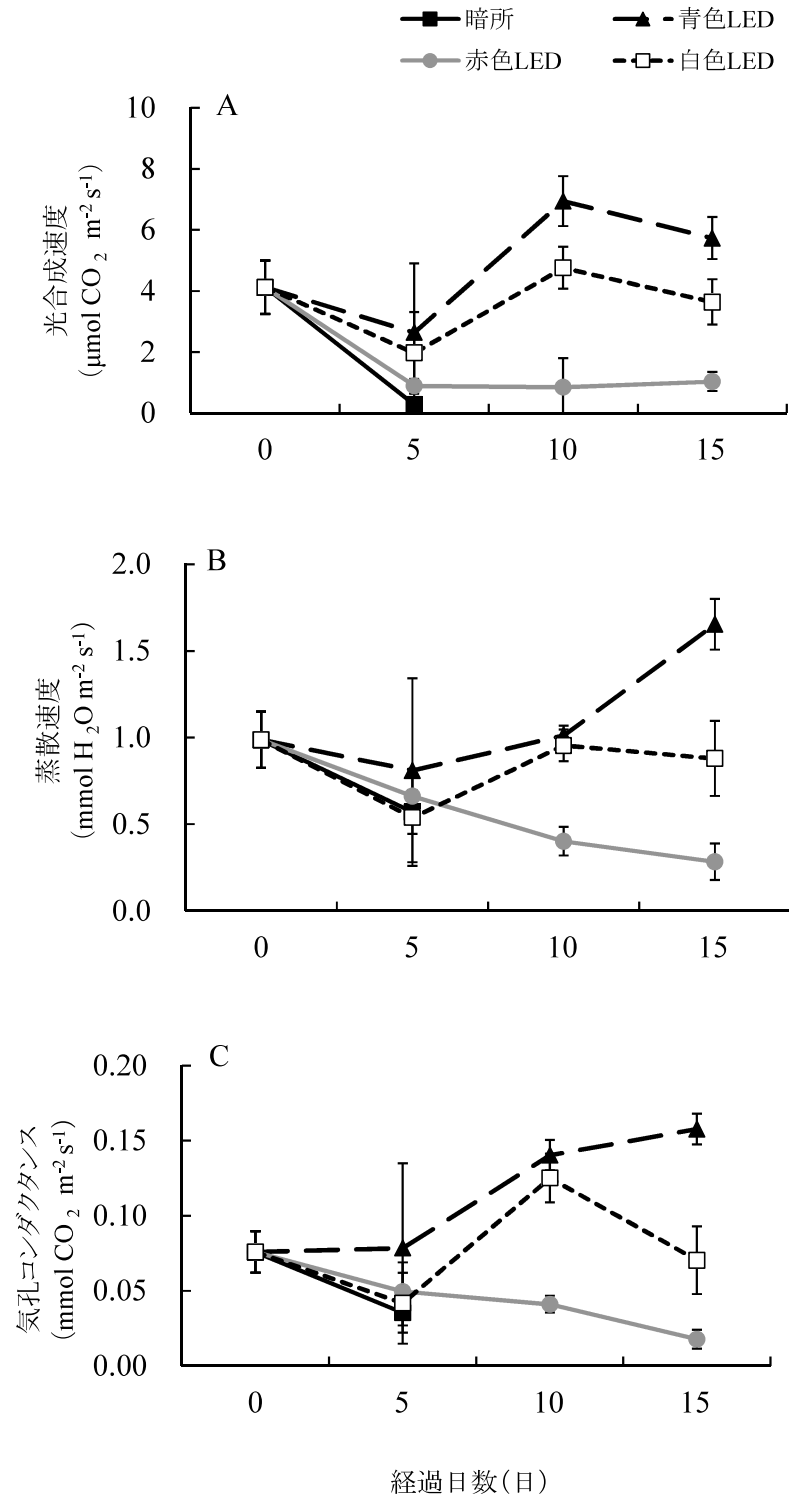


図 2-11 光質が新葉の光合成速度 (A), 蒸散速度 (B), 気孔コンダクタンス (C) に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3). 暗所区では新葉が枯死したため 10 日目と 15 日目のデータ無し.

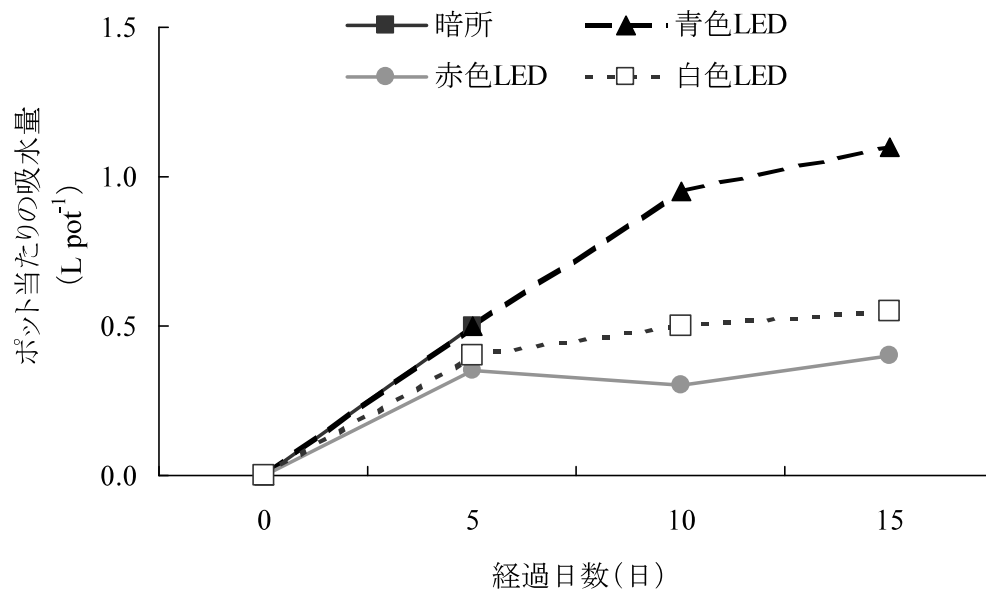


図 2-12 光質がポット当たりの吸水量に及ぼす影響

1ポット当たり3個体.

暗所区では新葉が枯死したため10日目と15日目のデータ無し.

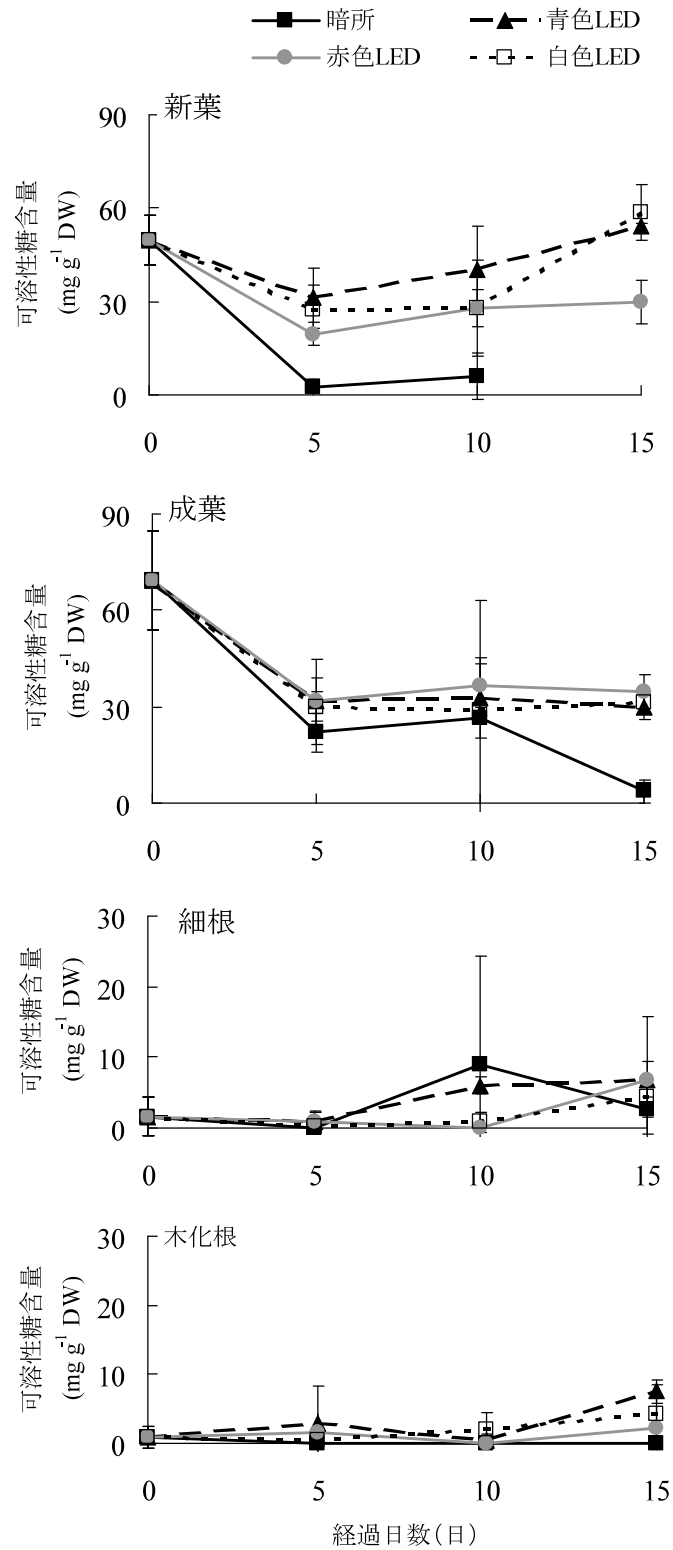


図 2-13 光質が各部位の可溶性糖含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

暗所区では新葉が枯死したため 15 日目のデータ無し.

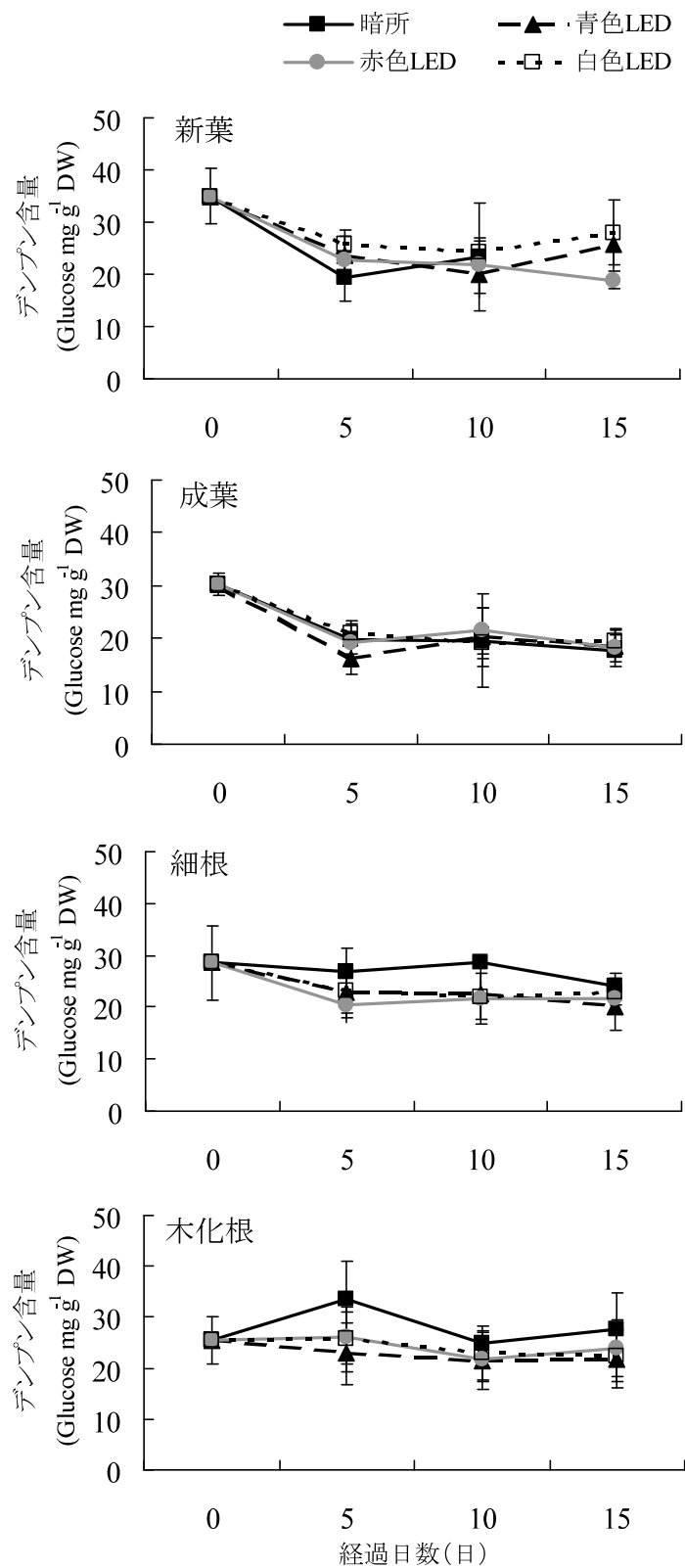


図 2-14 光質が各部位のデンプン含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n = 3).

暗所区では新葉が枯死したため 15 日目のデータ無し.

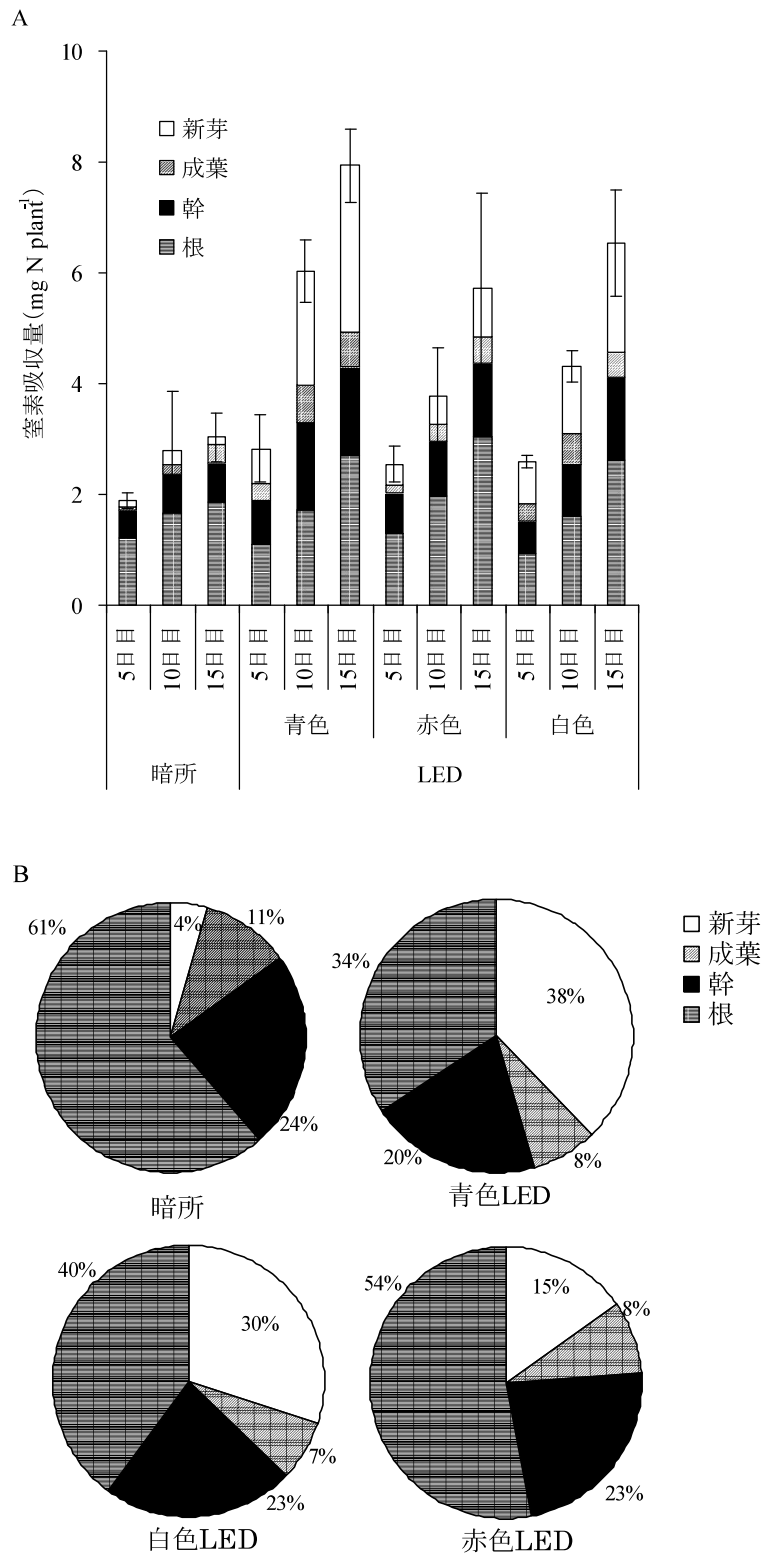


図 2-15 光質が窒素吸収量 (A) および各部位への分配 (B) に及ぼす影響

A : 縦棒は各部位の合計値に対する標準偏差 (n=3).

B : 処理 15 日目の植物体全体の窒素吸収量を 100%とした各部位への分布割合を示した.

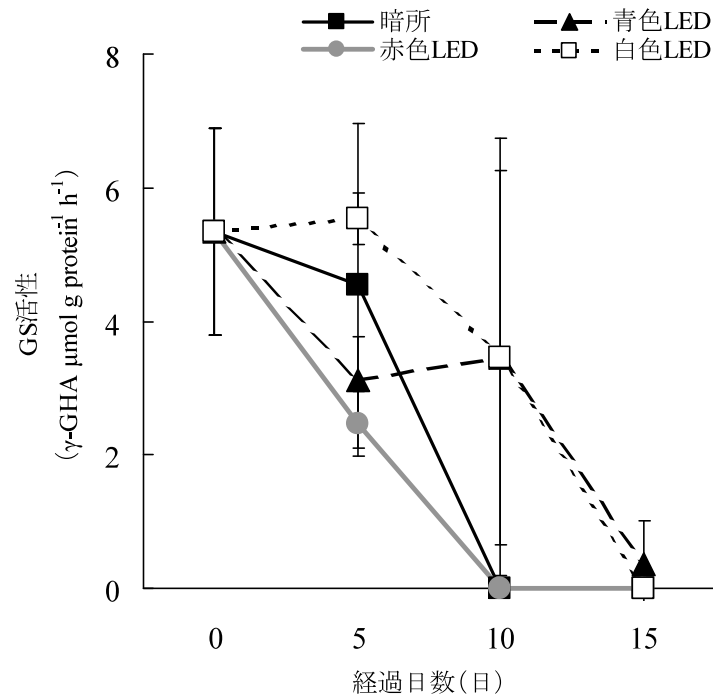


図 2-16 光質が細根のGS活性に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

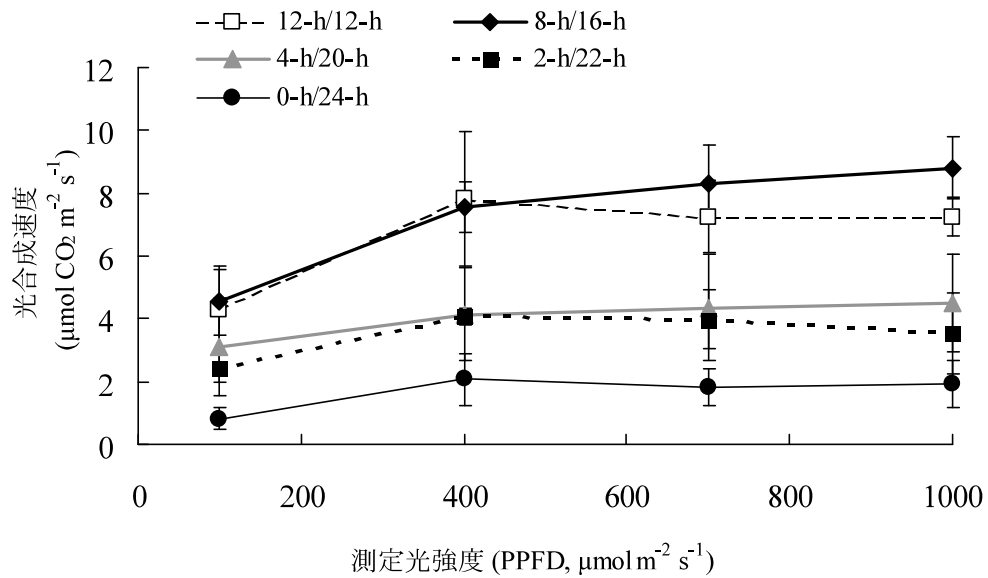


図 2-17 明暗期の違いが照射処理後の成葉の光合成速度に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).



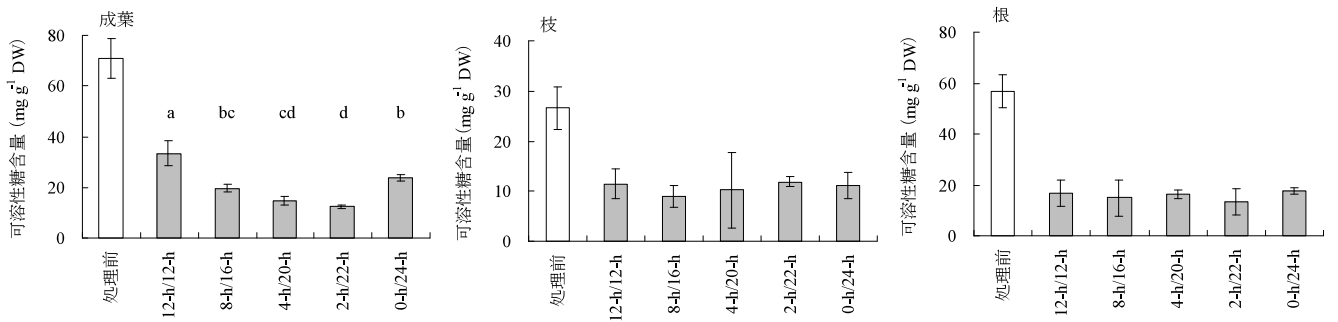


図 2-18 明暗期の違いが各部位の可溶性糖含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

処理前を除く同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%)

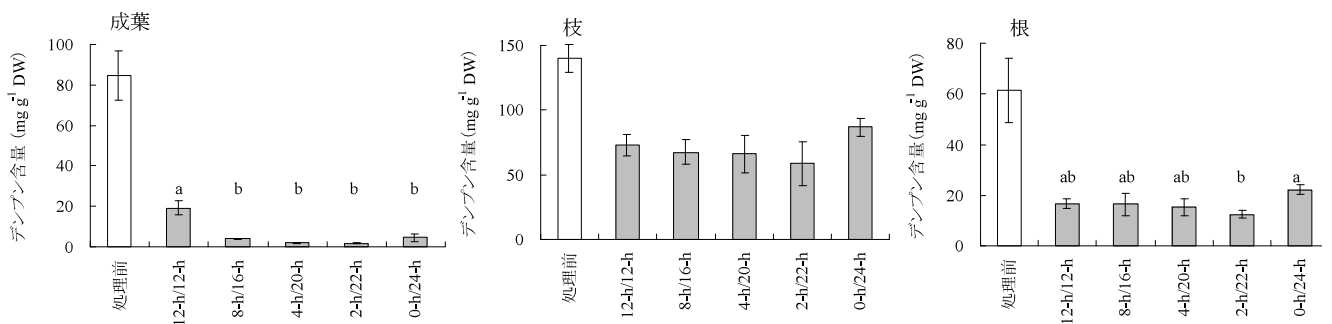


図 2-19 明暗期の違いが各部位のプロリン含量に及ぼす影響.

縦棒は標準偏差 (n=3).

処理前を除く同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%)

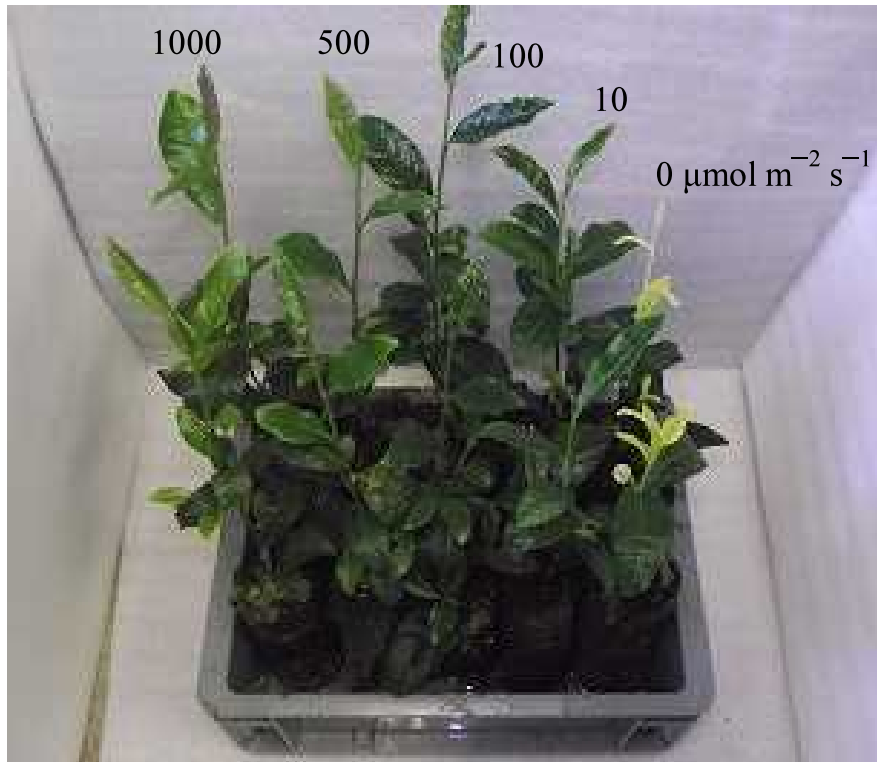


写真 2-1 光強度が新芽の生育および形態に及ぼす影響

左から 1000, 500, 100, 10, 0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  区.

<白色 LED>

<青色 LED>

<赤色 LED>

<自然光下>



写真 2-2 光質が新葉の形態に及ぼす影響



写真 2-3 明期が新芽の生育および形態に及ぼす影響

A：苗（収穫前），B：新芽

左から 12-h/12-h，8-h/16-h，4-h/20-h，2-h/22-h，0-h/24-h 区.

### 第3章 環境ストレスが樹体内炭水化物含量とチャの生育に及ぼす影響

#### 3.1 緒言

酒井（1987）は合理的なチャの栽培法および多収性育種早期検定法についての基礎資料を得るために、茶樹の生長量や収量成立過程等について物質生産的側面から解析した。この一連の研究の中で、チャの純生産力（個体群成長速度）の季節変動を調査し、一、二番茶の収量や樹勢は前年秋冬期の光合成産物の蓄積の影響を大きく受けると推定した。さらに、前年秋から春期に遮光や摘葉処理を行って光合成を抑制し、全可利用炭水化物（TAC, total available carbohydrate）の部位別変化と新芽生育量を調査し、冬期および新芽生育期に同化された炭水化物の一番茶新芽生育への寄与程度が高いことを明らかにした。一方、袴田らは、幼茶樹を用いて<sup>14</sup>Cによるトレーサー試験を行い、同化時期の違いによって炭水化物の樹体内分配が異なり、新芽へ分配されるのは春期に同化された光合成産物が主であることを示した（袴田・酒井 1980a, 1980b, 1981, 袴田 1981）。これらの研究から、秋冬期に樹体内に蓄積された貯蔵炭水化物は一番茶新芽の生育時の呼吸基質として使われ、春期から新芽生育期に越冬葉で生産された光合成産物は新芽自身を構成する炭水化物として利用されると推定されている（岡野 2008）。したがって、冬から春にかけての樹体内炭水化物の詳細な分配・蓄積メカニズムを明らかにすることにより、成木園レベルでのチャの生産力（収量および品質）の判定が可能となり、一番茶の生産性向上のための栽培管理に寄与できると考えられる。

一方、チャが受ける気象災害には凍霜害、寒害、干害等があり、低温、高温、乾燥などの環境ストレスにより新芽の生育抑制や樹勢の衰退が生じる（築瀬ら 1994）。新芽生育期の強度の乾燥ストレスは生育の遅延を招くこと（大石 2008）や、干ばつ被害園では翌年一番茶が減収することが報告されている（山下ら 1996）。近年チャの生産現場では、品質向上を目的とした遮光栽培が増加し、強度の遮光が樹体へ及ぼす影響についての解明が求められている。また、茶園管理の中で株面を揃える整枝作業は年間に数回行われるが、整枝時期によっては整枝後の株面成葉に日焼け症状が発生する場合があります。日焼けによる光合成能の低下が懸念される。このように、茶樹が各種の環境ストレスを受けた場合、ソース能の低下に伴い生育抑制が起こると考えられる。しかしながら、各種のストレスがチャの光合成能や炭水化物の貯蔵能を低下させるメカニズムについての詳細は明らかになっていない。また、光合成能の低下が次茶期以降の新芽生育に及ぼす影響も明らかになっていない。

そこで、本章では、まず成木園における樹体内炭水化物の分配・蓄積メカニズムと変動要因を解明するとともに、炭水化物含量の多少が一番茶の生産性に及ぼす影響を明らかにした。次に、各種の環境ストレスがチャの光合成能、炭水化物の分配および新芽の生育に及ぼす影響を明らかにした。

### 3.2 冬から春期の樹体内炭水化物含量が一番茶新芽の生産性に及ぼす影響

酒井（1987）は、秋から春の期間に遮光や摘葉を行った場合に、貯蔵炭水化物含量が減少し、新芽生育量も低下したことを報告している。関谷・山下（1988）は、整せん枝の高さの異なる茶園で部位別の炭水化物含量を周年的に調査し、太根の TAC は秋に最低値となり萌芽期に最大となること、一定期間着葉が無い中切り更新園でも再生芽の繁茂後は炭水化物の蓄積が進み、翌年萌芽期には TAC は通常の成木園と同程度まで上昇することを示した。しかしながら、TAC は炭水化物を一括定量したものであり、光合成の一次生成物であり転流形態としての糖（主にショ糖）と貯蔵形態のデンプンとでは樹体内での動態が異なると考えられるが、それぞれを分別した調査は行われていない。

そこで、成木園において冬期に異なる期間で遮光（直接被覆）処理を行い、部位別に可溶性糖およびデンプン含量の経時的変動を調査した。また、炭水化物含量と一番茶の収量構成および品質指標としての全窒素含有率との関係を解析することにより、樹体内炭水化物含量の多少が一番茶の生産性に及ぼす影響を明らかにした。ただし、成木園では樹体量が極めて大きいため、炭水化物分析用の試料は樹体のごく一部を対象として採取せざるを得ず、各部位の樹体量に対して採取量が少ない場合は、実際の炭水化物含量が反映されない可能性もある。このため、土耕ポット茶樹においても同様の遮光試験を行い、各部位の全量を対象として炭水化物含量を測定し、新芽生育量との関係を解析することにより、成木園での試験を補足することとした。さらに、樹体内炭水化物含量を、成木園レベルでの生産力の判定や樹体診断の指標とすることを目的として、各部位の炭水化物含量の変動程度を要因別に解析した。

#### 3.2.1 成木園における遮光試験

##### 3.2.1.1 材料および方法

###### (1) 供試材料および処理方法

2011年1月、茶業研究センター内の「やぶきた」（28年生、A4ほ場）成木園において、

表 3-1 に示した遮光期間の異なる無処理，前半被覆，後半被覆および全期被覆の処理区（1区 27m<sup>2</sup>，1.8m×15m，3 反復）を設定した．用いた被覆資材は，遮光率 85%の黒色寒冷紗（ダイオラッセル，ダイオ化成製）で，樹冠面に直接資材で覆う直接被覆を行った．

## (2) 樹体内炭水化物含量の測定

炭水化物分析用の試料として，各区から任意の 1 株を選び，部位別に採取した．地上部は，地際から 5 cm 程度の高さの幹部分で切断し，成葉，細枝，太枝，幹に分別した．地下部は，太根および中根を，それぞれ 1 区につき 20～30 cm 程度堀採り，同時に中根から伸長している細根を採取した．次に，細枝は径 2～5 mm，太枝は同 8～12 mm，幹は同 20～25 mm，太根は同 10～15 mm，中根は同 4～6 mm，細根は同 2mm 以下の部分を選別した．以降の試料の調整および可溶性糖の抽出・定量は 2.3.1.1 (4) 項，デンプンの抽出・定量は 2.2.1 (2) 項のヨウ素法と同様の方法で行った．採取時期は，2011 年 1 月 5 日（遮光処理前，以下 1 月上旬と表記），2 月 21 日（後半被覆区の処理開始時，同 2 月下旬），4 月 4 日（萌芽期，同 4 月上旬），5 月 10 日（摘採期，同 5 月上旬）の 4 回とした．

## (3) 新芽の生育，収量および全窒素含有率の測定

各区の茶株面付近から平均的な生育をした新芽（10 芽）を選定し，概ね 1 葉期から 5 月上旬までの開葉数を経時的に調査した．一番茶の摘採は，各区の平均開葉数が概ね 4.2 枚となった日に，レール走行式摘採機（カワサキ機工製）により行った．実収量から 10 a 当たり収量を換算するとともに，柶摘み（20×20 cm，1 区 4 柶）により収量構成要素を調査した．また，収穫前後の 4 月 27 日から 5 月 14 日まで 2～3 日おきに経時的に新芽の柶摘み（20×20 cm，1 区 2 柶）を行った．柶摘みした摘芽は電子レンジで殺青し，通風乾燥（70 °C，24 時間）した後，乾燥重を測定し，さらに粉碎後，全窒素含有率を NC アナライザー（SUMIGRAPH NC-22，住化製）で測定した．

また，(2) 項で萌芽期に採取した部位別試料についても同様に全窒素含有率を測定した．

### 3.2.1.2 結果および考察

#### (1) 遮光が樹体内炭水化物含量に及ぼす影響

無処理区および全期被覆区における部位別の可溶性糖含量の推移を図 3-1 に示した．成葉の可溶性糖含量は，1 月上旬には 140 mg g<sup>-1</sup> DW 程度であり，5 月上旬には 40～50 mg g<sup>-1</sup> DW まで概ね直線的に減少した．枝部（細枝，太枝，幹，以下同様）の可溶性糖含量は，1 月上旬には 40～60 mg g<sup>-1</sup> DW であったが，2 月下旬には無処理区ではほとんど変化しなかったのに対し，全期被覆区では低下した．その後，4 月上旬には両区とも 10～20 mg g<sup>-1</sup> DW

にまで大きく減少した。根部（細根，中根，太根，以下同様）の可溶性糖含量は，両区とも1月上旬には15~30 mg g<sup>-1</sup> DWであったが，無処理区では2月下旬に30~40 mg g<sup>-1</sup> DWまで一旦上昇し4月上旬以降減少したのに対し，全期被覆区では上昇がみられず5月上旬まで直線的に減少した。

無処理区および全期被覆区における部位別のデンプン含量の推移を図3-2に示した。成葉のデンプン含量は，1月上旬から2月下旬にかけては，両区ともごく微量であったが，無処理区では4月上旬以降15~25 mg g<sup>-1</sup> DW程度まで上昇し，全期被覆区では5月上旬に同程度まで上昇した。枝部（細枝，太枝，幹）のデンプン含量は，いずれの区も2月下旬までは1月上旬と同等または僅かに上昇したが，無処理区では4月上旬に急激に増加し，5月上旬においても上昇傾向を示した。これに対し，全期被覆区では4月上旬以降の増加程度が小さかった。根部のうち，中根と太根の2月下旬以降のデンプン含量は反復間の差が大きく，両処理区間に有意な差は認められなかったが，太根のデンプン含量は，無処理区では2月下旬に急激に増加し，その後変化がなかったのに対し，全期被覆区では4月上旬に大きく増加する傾向を示した。中根と細根のデンプン含量は，無処理区では太根と同様の变化を示したが，全期被覆区では増加程度が小さい傾向を示した。

これらのことから，冬期光合成産物は，2月下旬までは各部位に可溶性糖の形態で存在するとともに，光合成初期産物である糖の供給が十分に行われた場合には，まず2月下旬に太根に貯蔵デンプンとして蓄積され，次いで中根での蓄積が進み，根部での含量が一定値に達すると，萌芽期（4月上旬）には枝部でもデンプン含量が高まると推察された。これに対して，被覆により光合成を抑制すると，葉からの糖の供給が不足し，太根へのデンプン蓄積が遅れ，それによって順次分配先である中根と枝部においてもその増加が緩慢になると推察された。

## (2) 遮光時期の違いが萌芽期の部位別炭水化物含量と一番茶の生産性に及ぼす影響

萌芽期（4月上旬）における各処理区の部位別可溶性糖およびデンプン含量を図3-3，図3-4にそれぞれ示した。成葉と根部の可溶性糖含量は，無処理≧前半被覆>全期被覆=後半被覆となる傾向を示した。枝部の可溶性糖含量には処理間差はみられなかった。成葉と枝部のデンプン含量は，可溶性糖含量と同様に，無処理≧前半被覆>全期被覆=後半被覆であり，無処理・前半被覆区の値は，後半被覆・全期被覆区より高くなる傾向がみられた。一方，根部のデンプン測定値は反復間の変動が大きく，処理間差は明確でなかったが，中根のデンプン含量は，成葉や枝部と同様に，無処理・前半被覆区の値が後半被覆・全期被

覆区より高くなる傾向を示した。遮光時期の違いについてみると、後半（2月下旬～4月上旬）被覆区の萌芽期における可溶性糖およびデンプン含量は、前半（1月上旬～2月下旬）被覆区よりも概ね全ての部位で少なくなった。後半被覆区は全期被覆区と、前半被覆区は無処理区と、それぞれ類似した傾向を示した。

各処理区における一番茶新芽の開葉数の推移を図 3-5 に示した。各区の 1 葉開葉期を推定すると、無処理区が 4 月 19 日、前半被覆区が 4 月 20 日、後半被覆区が 4 月 21 日、全期被覆区が 4 月 22 日となり、全期被覆区は無処理区より 3 日遅くなった。また、摘採日は無処理・前半被覆区が 5 月 8 日であったのに対し、後半被覆・全期被覆区が 5 月 10 日で 2 日遅くなった（表 3-2）。10 a 当たり収量は全ての区で 600 kg 前後となり、有意差は認められなかった。採摘調査から得られた収量構成の各項目について 1 元配置の分散分析を行った結果、摘芽長に 5%水準で有意な差が認められ、後半被覆・全期被覆区では、無処理・前半被覆区より摘芽長が長かった（表 3-2）。また、その他の要素には有意な差はみられなかったものの、後半被覆・全期被覆区では、無処理・前半被覆区より摘芽数が少なく百芽重が大きく、芽重型の傾向がみられた（図 3-6）。加えて、10 cm 以上の大型の摘芽の割合が 9%と高くなるなど、摘芽が不均一な状態、すなわち芽揃いが劣ることが示された。このように、新芽生育、収量構成についても、萌芽期のデンプン含量と同様に、前半被覆区は無処理区と、後半被覆区は全期被覆区とそれぞれ極めて類似した傾向を示した。

冬期の遮光が乾物生産に及ぼす影響について、青木（1985b）は、11 月から 3 月まで遮光率 0, 8, 16, 32, 60, 90%で遮光処理を行い一番茶の収量を調査した結果、遮光率 60%以下では増収し、90%では減収した。倉貫ら（1989）の試験では、12 月上旬から 3 月上旬まで遮光率 30～60%で遮光した場合、寒害が軽減され増収し、90%遮光の場合は無処理区に対して増収した年次と減収した年次があった。青木や倉貫の試験では、秋冬期の遮光期間が細分されていないため、遮光時期の影響について詳細な違いを確認できないが、両者の結果から総合的に類推すると、厳冬期と比較して萌芽期前後の強度の遮光は光合成抑制を通じて減収を招く可能性があることが示唆される。本研究の遮光率 85%の被覆は、前半被覆区では、厳冬期（1月上旬～2月下旬）の遮光に伴い 2 月下旬時点の炭水化物含量が減少したものの、遮光していなかった 2 月下旬以降には光合成に伴う炭水化物の蓄積が促進され、4 月上旬時点では炭水化物含量が無処理区と同等のレベルまで回復したと推察された。一方、後半被覆区では、厳冬期（1月上旬～2月下旬）には遮光が無いため炭水化物の一定の蓄積はあったものの、萌芽期前には遮光のため光合成が抑制されて炭水化物含量が



増加せず、萌芽期（4月上旬）時点では全期被覆区と同レベルになったものと考えられた。

各処理区の柶摘み摘芽重の推移をみると、いずれも経時的に増加し、概ね 3.0 g DW から 8.0 g DW までの増加に 11 日程度を要した（図 3-7）。摘芽重の増加直線の傾きには大きな区間差はみられなかったが、前半被覆区は無処理区と、後半被覆区は全期被覆区と、それぞれ極めて類似した値で推移し、摘芽重が同一になる時点で比較すると、全期被覆・後半被覆区は無処理・前半被覆区に対して 2~3 日遅れた。チャの新芽は日々生長するため、収量の指標である摘芽重は、品質の指標である摘芽の全窒素含有率とともに、摘採時期によって大きく変化する。したがって、摘採時期の異なる処理区間において品質特性を加味した収量性を正確に比較するためには、同じ品質レベルに揃えて比較する工夫が必要である。そこで本研究では、過去の知見（中村・小川 1987、成島・青山 2006、大石 2011）を参考として、摘採期前後の柶摘み摘芽重と全窒素含有率を経時的に調査し、両者の関係を表す 1 次回帰式から、全窒素含有率が同一の数値になる時点の推定収量を求めた。図 3-8 に示したように摘芽重と全窒素含有率との間には強い負の相関がみられ、摘芽重の増加に伴い全窒素含有率が低下した。4 処理区の回帰式について平行性検定を行った結果、全期被覆区の回帰直線の傾きは、無処理・前半被覆区に対して有意に小さかった（holm, 5%）。無処理区の摘採日（5月8日）における摘芽重は、図 3-7 の増加直線から 5.9 g DW と推定され、これに対応する無処理区的全窒素含有率 5.5%を基準とした場合、この時点での各区の推定摘芽重は、図 3-8 の回帰式より、前半被覆区では 5.8 g DW、後半被覆区では 5.6 g DW、全期被覆区では 5.3 g DW となり、無処理 > 前半被覆 > 後半被覆 > 全期被覆の順であった。

無被覆区および全期被覆区における処理時から摘採期までの各部位の全窒素含有率は、成葉で 3%前後、枝部で 0.5~1.5%、根部で 1~2%であった（図 3-9）。成葉および細枝では摘採期にやや減少する傾向がみられたが、各部位とも処理期間中の全窒素含有率の変動は小さかった。また、処理期間を通じて明確な区間差もみられなかった。光合成の糖は、エネルギー源、還元力、炭素骨格として利用され、硝酸還元力に影響を与えることが示唆されている（米山・林 1991）。また、小西・葛西（1968）は、チャ幼苗を用いて  $^{14}\text{CO}_2$  吸収由来の同化産物の一部が根でアミノ酸に取り込まれることを明らかにしている。このことから、冬期遮光による光合成の抑制とそれに伴う炭水化物量の減少はチャの窒素同化に影響を及ぼす可能性も考えられるが、本研究では、貯蔵炭水化物含量の違いが新芽以外の各部位における全窒素含有率に反映されなかったことから、新芽の全窒素含有率の処理間差が光合成の抑制に伴う窒素同化能の変化によって生じたものかどうかは判然としなかった。

### 3.2.2 土耕ポット茶樹における遮光試験

#### 3.2.2.1 材料および方法

2011年12月22日に3年生苗を7号鉢に移植した後、地上30cmでせん枝し、茶業研究センターのビニールハウス内に移設した。試験区として被覆区と無処理区を設け、1区3連で行った。被覆区は2012年1月5日から遮光処理（遮光率85%、3.2.1.1（1）項と同様の資材）を開始し、概ね萌芽期となった3月23日に遮光を終了した。被覆区の平均的な受光量（強度）は、晴天時PPFDで約 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であり、無処理区（約 $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）の1/10程度であった。移設から収穫までの間、毎日定時に約10mmのかん水を行った。

無処理区の最上位節の新芽の開葉数が概ね4葉に達した4月24日に、両区の新芽を基部から収穫し、全新芽重、新芽数、新葉数および出開度を計測した。また、樹体内炭水化物含量の経時変化を調査するため、1月5日（処理前、以下1月上旬と表記）、3月23日（萌芽期、同3月下旬）、4月24日（新芽収穫時、同4月下旬）に、各区3個体を成葉、枝、幹、根に解体し、水道水で洗浄した後、適宜裁断した。以降の試料の調整および可溶性糖の抽出・定量は2.3.1.1（4）項、デンプンの抽出・定量は2.2.1（2）項のヨウ素法と同様の方法で行った。

#### 3.2.2.2 結果および考察

樹体内の可溶性糖含量（ $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ）の推移を図3-10に、デンプン含量（ $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ）の推移を図3-11に部位別に示した。各部位の可溶性糖含量は、1月上旬（処理前）から3月下旬（萌芽期）にかけて大きく減少し、その後4月下旬（収穫期）にかけてほとんど変化がないかやや減少した。3月下旬における各部位の可溶性糖含量をみると、無処理区に比べて被覆区で低くなる傾向がみられ、幹と細根では被覆区で有意に少なかった。

各部位のデンプン含量は、処理間に明らかな違いがみられ、3月下旬における成葉、枝、幹、中根のデンプン含量は被覆区で有意に少なくなった。無処理区では1月上旬から3月下旬にかけて2~4倍に高まり、4月下旬にはさらに上昇する傾向を示した。一方、被覆区では3月下旬における各部位のデンプン含量に顕著な上昇はみられず、4月下旬においても、すべての部位で処理前と同程度であった。

収穫期における各区の新芽生育状況を写真3-1に、新芽の収量構成を表3-3に示した。被覆区的全新芽重は $12.5 \text{ g DW plant}^{-1}$ で、無処理区（ $20.9 \text{ g DW plant}^{-1}$ ）の6割程度と有意に少なくなった。また、被覆区の新葉数も有意に少なかった。新芽数および百芽重には有意差はみられなかったものの、被覆区の新芽数には微小な新芽が20%程度含まれており（無

処理区では 5%)、実質的な収量に寄与する新芽数は被覆区のほうが明らかに少なかった。また、被覆区の出開度は有意に低かったことから、生育の遅延が明らかであった。これらことから、被覆区の新芽生育量(全新芽重)は、有効新芽数の減少と生育の遅延により、無処理区に比べて劣ることが明らかになった。

次に、各部位の全量を対象として炭水化物含量と新芽生育量との関係を解析した。茶樹 1 本あたりの炭水化物含量(3 月下旬)を図 3-12 に、全新芽重を図 3-13 (表 3-3 のデータから再掲)に示した。被覆区の可溶性糖含量は 886 g DW plant<sup>-1</sup>で無処理区(1,446 g DW plant<sup>-1</sup>)の 6 割となり、デンプン含量も同様に被覆区では 2,304 g DW plant<sup>-1</sup>で、無処理区(3,923 g DW plant<sup>-1</sup>)に対し約 6 割に減少した。一方、前述のとおり被覆区の全新芽重は無処理区の約 6 割であったことから、遮光に伴う 3 月下旬(萌芽期)における樹体内炭水化物の減少割合と新芽生育量の減少割合は一致した。

以上のことから、土耕ポット茶樹においても遮光に伴う樹体内炭水化物の減少は新芽数の減少や生育の遅延を通じて新芽生育量を低下させることが明らかになり、成木園での試験結果を再確認することができた。

### 3.2.3 成木園における樹体内炭水化物の時期別、個体内変動

3.2.1 および 3.2.2 項において、樹体内炭水化物含量が新芽の生育や一番茶の生産性に大きな影響を及ぼし、両者が密接に関係していることを明らかにした。このことから、炭水化物含量を指標として成木園レベルでの茶園の生産力の判定(樹体診断)ができる可能性が示唆された。しかし、炭水化物含量による樹体診断を行うためには、適切な採取部位を検討するとともに季節的変動や個体間差等を明らかにしておく必要がある。このうち採取部位については、炭水化物含量が多く栄養状態や茶樹の生産力の差が明確に表れること、試料採取が容易であること、採取後の樹体への影響が少ないことなどの条件を満たしていることが必要であると考えられる。3.2.1 項において、成木園から成葉、細枝、太枝、幹、太根、中根および細根に分類して採取したところ、被覆処理の影響が炭水化物含量に大きく表れたのは、成葉の可溶性糖、幹、太枝、太根および中根のデンプンであった。このうち幹や太根のデンプン含量は多かったが、採取に要する手間や樹体への影響を考慮すると採取部位として適当ではない。

そこで本節では、樹体診断を目的とした効率的、効果的な試料採取方法を確立するため、成葉、太枝および中根を対象として、採取時期、太さ等の炭水化物含量の変動要因を調査

した。

### 3.2.3.1 材料および方法

#### (1) 成葉の可溶性糖の時期による変動

静岡県牧之原市内の生産者の成木園から，2011年10月19日，12月21日，2012年1月30日，2月28日，3月30日，5月11日の計6回にわたり，株面表層の成葉30枚ずつを採取した。採取後，水道水で洗浄，通風乾燥機により60℃で24時間乾燥させた後，粉碎機（MF10basic，IKA製）により微粉碎し，可溶性糖分析用の試料とした。可溶性糖の抽出・定量は2.3.1.1(4)項と同様の方法で行った。

#### (2) 太枝・中根のデンプンの時期による変動

茶業研究センター内の「やぶきた」（28年生，A4ほ場）および「さやまかおり」（28年生，A5ほ場）の成木園から任意に3株を選び，太枝（径10mm前後）および中根（径5mm前後）を採取した。以降の試料の調整は2.3.1.1(4)項，デンプンの抽出・定量は2.2.1(2)項のヨウ素法と同様の方法（以降，分析の簡略化のためエタノールによる可溶性糖の除去は省略した）で行った。採取時期は，2012年4月5日（一番茶萌芽期，以下4月上旬と表記），7月10日（二番茶摘採後，同7月上旬），10月22日（秋整枝後，同10月下旬），2013年4月5日（翌年の一番茶萌芽期，同翌4月上旬）の4回とした。

#### (3) 中根デンプンの太さ、個体による変動

茶業研究センター内の「やぶきた」（8年生，B2ほ場）成木園から任意の3株を選び，2011年3月23日に，長さ40～50cm程度，径2mm～10mmの中根を1株につき4本採取した。採取した各試料を水道水で洗浄した後，径4mmおよび7mmの位置で切り分け，太さ別（L：径7～10mm，M：径4～7mm，S：径2～4mm）に分類した。以降の試料の調整およびデンプンの抽出・定量は(2)項と同様の方法で行った。

### 3.2.3.2 結果および考察

#### (1) 成葉の可溶性糖の時期による変動

10月19日から5月11日までの成葉中の可溶性糖含量の推移を図3-14に示した。成葉中の可溶性糖含量は，10月以降上昇し1月下旬に最大値（190 mg g<sup>-1</sup> DW）となり，一番茶萌芽期の3月下旬には半減（80 mg g<sup>-1</sup> DW）し，摘採期の5月上旬には50 mg g<sup>-1</sup> DW程度まで減少した。チャの樹体内の糖含量は耐凍性と密接に関係することが明らかになっている（Sugiyama and Simura 1968, 1969）。また，耐凍性の品種間差異を調査した報告（大前・根角 1998）では，早生では1月下旬，中生の「やぶきた」では2月上旬に成葉の糖含

量が最大となり、その後、耐凍性と同調して増減した。これらのことから、成葉の可溶性糖含量は厳冬期に最大となり、その後気温の上昇に伴って摘採期にかけて低下すると考えられた。

## (2) 太枝・中根のデンプンの時期による変動

「やぶきた」および「さやまかおり」成木園における太枝および中根のデンプン含量の推移を図 3-15 に示した。中根のデンプン含量は、両品種とも 4 月上旬（萌芽期）に高く、7 月上旬（二番茶後）を経て 10 月下旬（秋整枝後）まで大きく減少し、翌 4 月上旬（翌年萌芽期）に再び上昇した。太枝のデンプン含量も秋整枝後に最小となったが、最大で  $80 \sim 100 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ （4 月上旬）、最小で  $20 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  程度（10 月下旬）とその変動域は中根に比べて小さかった。酒井の報告（1987）では、成木園の太根の TAC 含量は 4 月上旬から 6 月中旬にかけて大きく減少し秋季に最低値となり、翌年 4 月に再度上昇したことが示されている。また、関谷・山下（1988）の報告では、一番茶摘採の深さや更新処理方法が異なる成木園において、枝・幹、中根の TAC 含量は、いずれの摘採・更新処理においても一番茶萌芽期までに顕著に上昇し二番茶萌芽期にはやや減少し始めることが示されている。さらに、3.2.1 項における中根のデンプン含量についても、4 月上旬（萌芽期）に上昇する傾向がみられた。これらのことから、成木園における枝や木化根のデンプン含量は一番茶の萌芽期頃に最大値となり、その後、各茶期の新芽の生育を経て秋芽生育終了後に最低値となり、冬期を経て翌年の一番茶萌芽期にかけて再び上昇するという周年変動が行われると考えられた。

品種間で比較すると、萌芽期中根のデンプン含量は「やぶきた」では  $150 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  程度であったのに対し、「さやまかおり」では  $300 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  を超えていた。次の（3）項で示すとおり、同じ「やぶきた」でも別のほ場（8 年生）から採取した萌芽期中根のデンプン含量は  $300 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  程度であったことから、樹齢や栄養状態によってもデンプン含量が異なることが示唆された。このような品種間の差異を明らかにするには、樹齢や栽培管理を等しくした同一ほ場で比較する必要があることから、4.3 項で再検討した。一方、太枝のデンプン含量の品種間差は中根に比べて小さかった。

## (3) 中根デンプンの太さ、個体による変動

3 月下旬に採取した成木茶樹の中根の太さ別のデンプン含量を図 3-16 に示した。L（径  $7 \sim 10 \text{ mm}$ ）では  $380 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ 、M（同  $4 \sim 7 \text{ mm}$ ）では  $320 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ 、S（同  $2 \sim 4 \text{ mm}$ ）では  $180 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  となり、太いほどデンプン含量が多くなる傾向がみられた。ただし、L

と M の間には有意差はみられなかった。酒井（1987）は、4月に成木茶樹の地下部を掘取り母茎部からの距離を 10 cm 間隔で切断し、TAC 含量を測定した。その結果、TAC 含量は母茎から離れるに従って低くなり、先端の径 2~5mm の部分では母茎近傍の半分程度となったことを報告している。岡野・大前（1996）は、一番茶萌芽期に採取した幼茶樹の中根および細根の TAC 含量を測定したところ、径 5 mm 以上の中根では 50 mg g<sup>-1</sup> DW、2~5mm では 45 mg g<sup>-1</sup> DW、2 mm 以下で 30 mg g<sup>-1</sup> DW であったことを報告している。このように、中根のデンプン含量は太いほど多くなる傾向がみられるが、径 5~10 mm の範囲での太さによる変動は比較的小さいと考えられた。

上記の中根試料のうち M のものを対象として算出した個体内変動を図 3-17 に示した。中根 4 本の平均値をとった場合、3 株（A, B, C）の個体内の変動係数（CV）はそれぞれ 6%、12%、24%となり、株によって変動程度が異なった。このように、同一の株から同じ太さの中根を 4 本採取しても、C 株のように変動係数が 24%と大きくなる場合があることが明らかになった。

以上のことから、中根のデンプン含量は太さにより変動することに加え、個体内でも大きく変動する場合があることが明らかになった。このため、採取時の太さを統一することや 1 区当たりの採取数に留意することが重要であると考えられた。

### 3.3 土壌の乾燥、完全遮光および整枝がチャの生育および炭水化物生産に及ぼす影響

#### 3.3.1 土壌の乾燥の影響

中山・酒井（1972）は、幼茶樹の生育に及ぼす冬季土壌水分の影響を調査し、乾燥処理区では対照区に比べて、成葉の蒸散能の低下、太根の炭水化物含量の減少、一番茶の発芽の遅延などがみられたことを報告している。また、春季の干ばつは、一番茶新芽の生育量を減少させることが明らかになっている（大石 2008）。山下ら（1996）は、夏季に干ばつ被害を受けた茶園において翌年一番茶収量の減少、生育の不揃い、出開きの早まりが起ることを確認し、その要因として、秋期の株面を構成する成葉（三番茶葉）が生育・成熟する時期に乾燥ストレスを受け生育が抑制されたこと、それに伴って翌年一番茶芽となる越冬芽の発達が遅れたこと、根の活力が低下したことなどをあげている。このように、乾燥ストレスを受けている期間には新芽生育量が減少することが明らかになっているが、光合成能や炭水化物の分配の点からは十分に解明されてはいない。そこで本節では、土耕ポット茶樹を用いて、乾燥ストレスが新芽生育と光合成能の変化に伴う炭水化物の分配・蓄

積に及ぼす影響を調査した。

### 3.3.1.1 材料および方法

#### (1) 供試材料および処理方法

2012年3月に2年生苗をポット(1 a/10000 ワグネルポット)に移植した後、地上20 cm でせん枝し、静岡大学のガラス室内に移設し生育させた。新芽が概ね4葉開葉期に生育した4月11日に、各ポットを水道水中に1分間浸漬した。次に、72時間経過時点(4月14日)の土壤水分量を最大ほ場容水量と仮定して、この時の各ポットの全体重を水補給の基準重( $W_0$ )とした。4日経過後の4月18日、再び各ポットの全体重( $W_n$ )を測定し、対照(かん水)区では、基準重( $W_0$ )との差分( $W_0 - W_n$ )を水補給量とした。弱乾燥区では基準重との差分に0.25を乗じた量( $[W_0 - W_n] \times 0.25$ )を水補給量とした。以後2日ごとに4月30日まで同様の水補給を繰り返した。強乾燥区では、全体重のみを計測し水補給は行わなかった。また、処理後の各ポットの土壤を通風乾燥し(100℃, 24時間)、前後の重量差から土壤中の水分含有率(以下、土壤含水率)を算出した。

#### (2) 新芽生育量、光合成能、炭水化物および遊離アミノ酸含量の測定

5月2日に、各ポットの茶樹の最上位節に着生している成葉とその基部から発芽し生育した新芽の上から3葉位目の新葉を対象として、光合成蒸散測定装置(LI-6400XT, LI-COR製)を用いて光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンスを計測した。測定条件はチャンバー内温度25℃、葉面光合成有効放射量 $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とした。

光合成速度を計測後、各ポットの茶樹から全ての新芽を収穫し、全新芽重を測定した。次に、植物体を成葉、枝、幹、木化根および細根に解体し、水道水で洗浄し、新芽とともに通風乾燥機(WFO-500, EYELA製)を用いて60℃で24時間乾燥させた後、微粉碎した粉末試料を可溶性糖、デンプンおよび遊離アミノ酸の定量に供した。可溶性糖の抽出・定量は2.3.1.1(4)項、デンプンの抽出・定量は2.2.1(2)ヨウ素法と同様の方法で行った。遊離アミノ酸の定量は2.3.1.1(5)項と同様の方法で行った。

### 3.3.1.2 結果および考察

#### (1) 土壤の乾燥が新芽生育、光合成能に及ぼす影響

乾燥処理終了時の各区の土壤含水率を図3-18に示した。土壤含水率は、対照(かん水)区の15%に対し、強乾燥区では8%、弱乾燥区では13%であった。乾燥処理が、新芽の生育量に及ぼす影響を図3-19に、新葉および成葉の光合成速度、蒸散速度、気孔コンダクタンスに及ぼす影響を図3-20に示した。全新芽重は、乾燥程度が強くなるほど少なくなり、

対照区に対して、弱乾燥区では7割程度に、強乾燥区では半分以下に減少した。新葉および成葉の光合成速度、蒸散速度、気孔コンダクタンスは、乾燥程度が強くなるほど低下し、弱乾燥区および強乾燥区における各測定値は、対照区に対して有意に低くなった。また、対照区における新葉の光合成速度、蒸散速度、気孔コンダクタンスは、成葉に比べて有意に高かったが、弱乾燥区および強乾燥区では新葉と成葉の差はみられなかった。

小林・大石（2009）は、土耕ポット茶樹を用いて、異なる土壤乾燥条件下での成葉の光合成速度を測定したところ、光合成速度は土壤 pF 2.0～2.3 程度で最も高くなり、湿潤または乾燥程度が大きくなるほど低下した。また、中山ら（1972）は、冬期に土耕ポット茶樹に対して期間の異なる乾燥処理を行った結果、これらの乾燥処理区では対照区に対して成葉の光合成および蒸散能の低下や一番茶の発芽の遅延などがみられたことを報告している。さらに、春期の干ばつにより一番茶新芽の生育量が減少すること（大石 2008）や、夏季に干ばつ被害を受けた茶園において翌年一番茶収量の減少、生育の不揃い、出開きの早まりが起こったことが報告されている（山下ら 1996）。

以上のことから、チャの新芽生育期における乾燥ストレスは光合成能の抑制を通じて新芽の生育量を減少させることが明らかになり、次茶期以降の生育にも影響を及ぼすことが示唆された。

## （2） 土壤の乾燥が各部位の炭水化物および遊離アミノ酸含量に及ぼす影響

乾燥処理後の各部位の可溶性糖、デンプンおよび全遊離アミノ酸（TFAA）含量をそれぞれ図 3-21、図 3-22、図 3-23 に示した。成葉の可溶性糖含量は対照＞弱乾燥＞強乾燥の順で高かったのに対し、成葉以外の部位では強乾燥＞弱乾燥＞対照の順であった。対照区における成葉の可溶性糖含量は  $58 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  であったが、他の部位では  $15 \sim 25 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  と少なかった。これに対し、強乾燥区では成葉の可溶性糖含量が  $30 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  であったのに対して他の部位は  $55 \sim 82 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  と多くなった。各部位の TFAA 含量は、新葉および成葉では、強乾燥＞弱乾燥＞対照の順で、枝幹および根部では、弱乾燥＞強乾燥＞対照の順で多く、乾燥処理により増加する傾向がみられた。乾燥ストレス下では根圏の水ポテンシャルが低下し、植物体内の水ポテンシャルとの差が減少し（平沢 1994）、浸透圧の調節のための適合溶質として糖類やアミノ酸が増加することが示されている（Yakushiji ら 1996, Ogawa and Yamauchi 2006）。これらのことから、本試験における強・弱乾燥区では、光合成能の大幅な低下により成葉の可溶性糖含量は低いレベルにとどまった一方で、乾燥ストレスへの応答として成葉以外の部位では可溶性糖および遊離アミノ酸含量が増加したと推



察された。

デンプン含量は、処理にかかわらず木化根、幹で多く、成葉、枝、細根では少なかった。処理間を比較すると、いずれの部位でも新芽重や光合成能と同様に、対照>弱乾燥>強乾燥の順で高かった。中山ら（1972）の試験においては、期間中全く水を供給しなかった強乾燥区（12月～5月乾燥処理）では、新芽生育が極端に抑制され、多くの芽が開葉まで至らなかった一方で、地下部のデンプン含量は対照区と同等であった。つまり、強度の乾燥ストレス下で新芽生育が極度に抑制されるような場合は、貯蔵器官のデンプンの消費量も減少し、デンプン含量が維持されると考えられる。一方、同試験において約3ヶ月間の乾燥処理後に2ヶ月間の水供給（ほ場要水量の55%を目安）を行なった中乾燥区（12月～3月乾燥処理）では、新芽生育が5日程度遅延し、太根のデンプン含量は対照区の7割程度に減少した。本試験における2つの乾燥処理区では、乾燥処理期間が比較的短かったことから、後者と同様に光合成能の低下に伴う新芽生育とデンプン蓄積の抑制が並行して起こったものと推察された。

以上のことから、乾燥ストレスは、葉の蒸散速度および気孔コンダクタンスを低下させ、それに伴う光合成速度の低下により成葉の可溶性糖含量は低下するが、他の部位では浸透圧調節を目的とした可溶性糖およびアミノ酸の増加が起これると考えられた。また、本試験のような短期間の乾燥ストレス下では、光合成能の低下に伴う成葉からの炭水化物の供給減により、新芽生育と各部位のデンプン蓄積が抑制されると推察された。

### 3.3.2 完全遮光の影響

一番茶新芽生育期に2～3週間遮光率70～98%の強遮光処理する玉露やてん茶等の遮光栽培では、品質は向上するが収量は減少する（澗之上ら1999）。築瀬ら（1974）は、遮光率70%以上では、無被覆区に対して収量は6～7割程度に減少することを報告している。また近年、新芽生育期に強度の遮光（遮光率98%の3重被覆）を行うことによりアミノ酸含量を高めた白葉茶の生産が開始され、白葉茶の品質や収量性を明らかにするための研究が進められている（静岡県産業振興財団2013）。小林ら（2011）は、遮光率100%すなわち光強度 $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 下で新芽を生育させると、収量は無被覆に対して半分以下に減少したことを報告している。このような完全遮光あるいは強遮光栽培では、光合成の抑制に伴う新芽生育量の減少だけでなく、樹勢低下や次茶期以降の生育への悪影響が懸念されるとともに、一番茶、二番茶の連続被覆の回避や樹勢回復のための肥培管理の必要性が指摘さ

れている（青野ら 1976, 築瀬ら 1974）。また、遮光下では、白色根の生育抑制が起こることや（山下 2008a）、遮光後に生理的落葉が増加することが観察されている（上田 2008, 宮本・堀本 2007）。しかしながら、新芽生育期の完全遮光が、光合成の抑制を通じて炭水化物生産や次茶期以降の新芽の生育にどのような影響を及ぼすかについては詳細が不明なままである。そこで、本節では、一番茶および二番茶期の完全遮光処理が、収量、樹体内炭水化物の蓄積および次茶期以降の生育に及ぼす影響を調査した。

### 3.3.2.1 材料および方法

#### (1) 供試材料および処理方法

2012年、茶業研究センター内の「さやまかおり」（30年生、A5ほ場）、および「おくひかり」（30年生、A6ほ場）成木園を対象として、一番茶および二番茶生育期に新芽の概ね2葉開葉期から、遮光率98%の黒色寒冷紗（ダイオラッセル、ダイオ化成製）を3重で直接被覆した（白葉茶を生産するため、極力遮光率を100%に近づけた）。「さやまかおり」における被覆期間は、一番茶が14日間（4月28日～5月12日）、二番茶が10日間（6月15日～6月26日）、「おくひかり」においては、一番茶が15日間（5月1日～5月16日）、二番茶が10日間（6月18日～6月28日）とした。試験区は1区27 m<sup>2</sup>の3反復として、一番茶および二番茶期の被覆は同一場所で連続して行った。

#### (2) 収量調査および炭水化物含量の測定

新芽の摘採は、それぞれの遮光処理終了日に被覆資材除去後速やかに乗用型摘採機（OM-35、落合刃物工業製）を用いて行い、各区の実収量を計測し10a当たり収量に換算した。また、当年（2012年）秋冬番茶および翌年（2013年）一番茶（新芽生育期の被覆処理無し）についても同様の方法で収量調査を行った。ただし、「おくひかり」では、部分的に凍霜害を受けたため、翌年一番茶の実収量の調査は行わず、無被害部の柶摘み収量調査のデータを参考値として引用した。

炭水化物分析用の試料として、各区から任意に1株を選び、成葉、太枝（径10 mm前後）および中根（径5 mm前後）を採取した。2.3.1.1 (4)項と同様の方法により乾燥および粉碎後、成葉の可溶性糖並びに太枝および中根のデンプン含量を分析した。可溶性糖の抽出・定量は2.3.1.1 (4)項、デンプンの抽出・定量は2.2.1 (2)項のヨウ素法と同様の方法で行った。採取時期は、2012年4月5日（一番茶遮光処理前の萌芽期、以下4月上旬と表記）、7月10日（二番茶摘採後、同7月上旬）、10月22日（秋整枝後、同10月下旬）、2013年4月5日（翌年の萌芽期、同翌4月上旬）の4回とした。

### 3.3.2.2 結果および考察

一番茶、二番茶、秋冬番茶および翌年一番茶の10a当たり収量を図3-24に示した。被覆区の一歩茶収量と無処理区に対する割合は、「さやまかおり」で227 kg 10a<sup>-1</sup> (26%), 「おくひかり」で103 kg 10a<sup>-1</sup> (21%) となり、収量は遮光処理により1/4~1/5に低下した。同様に二番茶では、「さやまかおり」で453 kg 10a<sup>-1</sup> (63%), 「おくひかり」で254 kg 10a<sup>-1</sup> (57%) となり、収量が遮光処理により6割程度に低下した。ただし、被覆区では、生育が不揃いであった一番茶の遅れ芽が多く混入し、二番茶の収量にも影響を及ぼしたと考えられる。二番茶以降の被覆区の収量については、「さやまかおり」の秋冬番茶は1,111 kg 10a<sup>-1</sup>, 翌年一番茶は554 kg 10a<sup>-1</sup>, 「おくひかり」の秋冬番茶は588 kg 10a<sup>-1</sup>, 翌年一番茶は571 kg 10a<sup>-1</sup> (採摘調査による参考データ) となり、無処理区との差はみられなかった。

成葉の可溶性糖含量の推移を図3-25に、太枝および中根のデンプン含量の推移をそれぞれ図3-26、図3-27に示した。成葉の可溶性糖含量については、7月上旬(二番茶後)および10月下旬(秋整枝後)において区間差は無かったが、翌4月上旬(翌年萌芽期)には両品種とも無処理区で高くなる傾向がみられた。太枝および中根のデンプン含量については、両品種とも7月上旬から翌4月上旬にかけて区間差は認められなかった。

関谷・山下(1988)は、中切り更新園における中根や太根の炭水化物含量を調査した。その結果、中切り後(5月下旬)から7月頃までは低い値で推移したが、秋以降は上昇に転じ、翌年萌芽期にはせん枝を行わなかった茶園と大きな差はみられなかった。このことから、強せん枝(葉層除去)により一時的に樹体内炭水化物含量は減少するが、秋以降の着葉により回復すると推察される。また、本研究の光強度(2.3.1項)および明期(2.3.3項)の影響を調査した試験において、新芽の生育が極度に抑制された場合に、根中の貯蔵デンプンが消費されずにデンプン含量が維持されることを示した。

以上のことから、一番茶から二番茶にかけての被覆(完全遮光)は、一時的にソース能を低下させると考えられるが、新芽の生育量の極端な低下に伴い貯蔵炭水化物の消費が抑制されること、一番茶の生育に対しては越冬葉の光合成能と冬期の貯蔵炭水化物の貢献度が高いことから、翌年一番茶の新芽生育に対する影響は小さいと推察された。

### 3.3.3 整枝による光ストレスの影響

夏から秋期に茶園に発生する日焼けは、強日射時の整枝により株面へ露出した陰葉が光合成の明反応における許容受光量以上の強光を受け、葉緑体が損傷し発生すると考えられ

る。一方、冬から春期に整枝を行った場合、日射量は夏期の半分以下であるにもかかわらず、普遍的に日焼けが発生し、顕著な葉焼け症状を呈し、一番茶新芽の生育遅延や収量減を招くことが明らかになっている（中野 2008）。そこで本節では、整枝時期の違いと整枝に伴う光ストレスによる日焼けが、一番茶新芽の生育および樹体内炭水化物の蓄積に及ぼす影響を調査した。

### 3.3.3.1 材料および方法

#### (1) 供試材料および処理方法

茶業研究センター内の「やぶきた」成木園（7年生，A5ほ場）を対象として、整枝を2012年10月10日に行った区（秋整枝区）と2013年2月25日に行った区（春整枝区）を設置した。試験区は、1区4.5 m<sup>2</sup>の3反復とした。また、整枝後に日焼け症状を呈した成葉（以下、日焼け葉）の光合成能を確認するため、「つゆひかり」成木園（13年生，A5ほ場）において、2012年11月12日に整枝を行った。

#### (2) 日焼け発生率の調査

春整枝区において、整枝から18日経過後の3月15日に、20×20 cm 枠内の株面の最表層の全葉数に対する日焼け発生葉数の割合を日焼け発生率として1区あたり3ヶ所の平均値を算出した。

#### (3) 新芽の生育量，収量構成要素，炭水化物含量および光合成速度の測定

各区から、平均的な生育をしている新芽（10芽）を選定し、概ね1葉期から5月上旬までの開葉数を経時的に調査した。各区の平均開葉数が概ね4.2枚程度となった日に、枠摘み（20×20 cm，1区4枠）による収量構成要素を調査した。春整枝区では、日焼けが発生した部分（日焼け部）と健全部に分けて開葉数および枠摘み調査を行った。

炭水化物分析用の試料として、各区から任意の1株を選び、成葉、太枝（径10 mm前後）および中根（径5 mm前後）を採取し、2.3.1.1（4）項と同様の方法により乾燥および粉碎後、成葉の可溶性糖並びに太枝および中根のデンプン含量を分析した。可溶性糖の抽出・定量は2.3.1.1（4）項、デンプンの抽出・定量は2.2.1（2）のヨウ素法と同様の方法で行った。採取時期は2012年10月23日（秋整枝後，以下10月下旬と表記），2013年2月26日（春整枝後，同2月下旬），3月31日（翌年の萌芽期，同3月下旬）とした。成葉については5月6日および9日（摘採期，同5月上旬）にも採取を行い、春整枝区では健全部と日焼け部から採取した。

11月12日に整枝を行なった「つゆひかり」成木園において、経時的に日焼け葉と健全

葉を各 10 枚ずつ採取し、光合成速度を 2.3.1.1 (2) 項と同様の方法により測定した。採取日は、2012 年 11 月 22 日、12 月 21 日および 2013 年 1 月 24 日とした。

### 3.3.3.2 結果および考察

#### (1) 整枝時期の違いが日焼け発生程度に及ぼす影響

春整枝区で発生した日焼け症状を写真 3-2、写真 3-3 に示した。秋整枝区では日焼けの発生がみられなかったのに対し、春整枝区では発生率は 21%であった。1 枚の成葉のうち日焼け症状を呈した部分の面積は達観で 10~80%程度であり、成葉全体が褐変し枯死するような強度の被害はなかった。また、日焼け症状は整枝直後には発生せず、整枝後 1~2 週間程度かけて徐々に褐変が拡大するのが観察された。

中野 (2008) は、通常 10 月頃に茶園で行われる整枝を 11 月から翌年 2 月の間に行うと普遍的に日焼け症状が起こること明らかにし、顕著な日焼けが発生した茶園では一番茶新芽の生育遅延や収量減を生じることを報告している。また、冬期に越冬葉 (成葉) の光合成速度が低下し、この越冬葉の光合成速度の低下が低温により生じた光化学系 (PS) II の阻害であることが明らかにされている (酒井 1987, Aoki 1984, 1986a, 1986b)。常緑樹の光合成能力は気温低下とともに著しく低下し、冬季は PS II の効率が極めて低い状態にあるために、光阻害を受けやすい (向井 2004)。通常、植物は活性酸素の消去や励起エネルギーの散逸などにより強光傷害を回避しているが、低温条件下では葉内の光エネルギーの過剰によって光合成の光阻害が生じる (石井 1992)。

以上のことから、低温期において光合成速度が低下した条件下で整枝を行った場合、整枝後の株面に位置する成葉組織内では光エネルギーが過剰な状態となり、日焼け症状が発生すると推測された。

#### (2) 整枝時期の違いおよび日焼けの有無が新芽の生育、収量および炭水化物含量に及ぼす影響

整枝時期の違いおよび日焼けの有無が一番茶新芽の生育および採摘収量構成に及ぼす影響を、それぞれ、図 3-28、表 3-4 に示した。また、春整枝区の健全部と日焼け部における新芽生育の違いを写真 3-4 に示した。春整枝区の健全部の採摘日は秋整枝区に比べて 5 日遅れ、春整枝区の日焼け部はさらに 3 日遅れた。採摘重には大きな区間差はなかったが、秋整枝区と比較して春整枝区では採摘数が少なく百芽重と採摘長が大きくなり、採摘が不揃いであった。春整枝は秋整枝に比べ株面の越冬芽の生育量が小さくなり萌芽が遅れるため、一番茶の採摘期は 3~4 日程度遅くなる (静岡県農林水産部 2000)。また、春整枝を行

った茶園では新芽が不揃いになりやすく、製茶の官能評価点が劣ることが示されている(田中ら 1991)。これらのことから、春整枝により日焼けが発生した茶園では、日焼け部と健全部の生育差により摘芽の不揃いがさらに助長され、品質低下を生じやすくなることが示唆された。

整枝時期の違いおよび日焼けの有無が成葉の可溶性糖含量に及ぼす影響を図 3-29 に示した。成葉の可溶性糖含量は、2月下旬から3月下旬に半分程度にまで大きく減少し、その後5月上旬にかけては僅かに減少した、秋整枝区と春整枝区(健全部)の間に有意な差はみられなかった。しかしながら、春整枝区の日焼け部の5月上旬の可溶性糖含量は、秋整枝区および春整枝区の健全部よりも有意に少なくなった。一方、「つゆひかり」の成木園において、通常秋整枝より遅い11月12日に整枝を行ったところ、整枝後1週間程度で日焼けが発生した。この日焼け葉の光合成速度を測定した結果、整枝から約1週間後では約  $7 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、その後、翌年1月下旬には  $2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  まで低下し、健全葉 ( $13.3 \rightarrow 4.4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) の半分程度となった(図 3-30)。このことから、「やぶきた」での試験における春整枝区では、日焼けによりソース葉の光合成能力が低下し、光合成産物の新芽への供給量が減少し、生育が抑制されたと考えられた。

春整枝区における太枝および中根のデンプン含量は、春整枝後の2月下旬および萌芽期である3月下旬の時点では、秋整枝区より多くなる傾向がみられた(図 3-31)。一方、春整枝区における一番茶新芽の生育および摘採期は秋整枝区より5日以上遅くなった。前述のとおり、この生育差は越冬芽の生長速度の違いによるところが大きく、摘採期までの新芽の生育は、貯蔵デンプンではなく整枝時期に左右されることが示唆された。

以上のことから、秋整枝と春整枝のように整枝時期が異なる茶園においては、整枝時期の違いは、樹体内炭水化物と一番茶の摘採時期および収量構成に対して影響を及ぼすが、時期の違いに伴う貯蔵デンプンの多少と一番茶生育との関連性は低いと考えられた。また、春整枝後に日焼けが発生した場合には、ソース葉の能力低下に伴う糖供給量の減少により、一番茶の摘採期の遅れや品質低下が生じることが示された。

### 3.4 総合考察

チャの生産性向上を目的として、光合成特性や光合成産物の樹体内での消費・分配に関して多くの研究が行われ（酒井 1987, 袴田ら 1980a, 1980b, 1981, 袴田 1981）、一番茶の生育には秋冬期に樹体内に蓄積された貯蔵炭水化物と春期から新芽生育期の光合成産物の貢献度が高いことが示されている（岡野 2008）。したがって、冬から春にかけての樹体内炭水化物の詳細な分配・蓄積メカニズムや環境ストレスに伴う変動を明らかにできれば、成木園レベルでの生産力の判定が可能となり、一番茶の生産性向上のための栽培管理技術の確立に寄与できると考えられる。

そこで本章では、第一に、チャの樹体内炭水化物含量と一番茶の生産性との関係を明らかにするため、成木園において冬期の異なる時期に、遮光率 85%の資材を用いて遮光（直接被覆）処理を行い、部位別の可溶性糖およびデンプン含量の経時的変化と新芽生育や収量・品質との関係を解析した。その結果、冬期に遮光を行わなかった場合には、光合成産物である糖の供給が十分に行われ、デンプンは 2 月下旬には太根、中根での蓄積が進み、その後萌芽期までに枝部へも蓄積された。これに対し、冬期に 3 ヶ月（1 月上旬～4 月上旬）遮光した場合には、光合成の抑制により葉からの糖の供給量が不足し、太根に続いて中根や枝部でもデンプンの蓄積が遅れた。遮光時期を比較すると、前半（1 月上旬～2 月下旬）被覆区と比較して、後半（2 月下旬～4 月上旬）被覆区では、萌芽期における各部位の可溶性糖およびデンプン含量が減少し、一番茶の新芽生育と摘採時期の遅れ、摘芽数の減少、摘芽の不揃いが生じた。これらのことから、枝や根の炭水化物の蓄積に対しては厳冬期（1 月上旬～2 月下旬）よりも萌芽期前（2 月下旬～4 月上旬）の光合成生産の影響が大きく、萌芽期における樹体内炭水化物の不足は一番茶の収量性の低下をもたらすことが明らかになった。

落葉性果樹のブドウでは、貯蔵炭水化物の多少により新梢の生長が大きく支配されるが（小林 1954）、常緑性のウンシュウミカンでは、新生器官の生長は貯蔵炭水化物の多少よりもその生長時期の旧葉の光合成による供給能に依存すると報告されている（清水ら 1978）。チャでは、冬期の遮光や摘葉による試験結果から、貯蔵炭水化物含量と新芽収量とは単純に結び付くものではないことが指摘されるとともに（酒井 1987）、越冬葉の光合成能が重要視されている（岡野 2008）。しかしながら、新芽の萌芽生育期に呼吸基質として利用される冬期の貯蔵炭水化物の重要性は否定されるものではなく、その貢献度については貯蔵部位や蓄積時期等を考慮した上で考察すべきである。2 月下旬から 4 月上旬に遮光

を行った場合は、4月上旬における成葉の可溶性糖含量と枝部および中根のデンプン含量が減少した。それに対して、太根のデンプン含量は4月上旬以降、5月上旬においても顕著な減少がみられず、遮光の有無による区間差がみられなかった。太根のデンプン含量は一番茶生育前後に大きく減少せず、その後、秋に至るまで徐々に減少していくことが、関谷・山下（1988）および久田（1992）の報告にも示されている。一方、樹体内炭水化物量と一番茶の収量構成や品質との関係について幾つかの知見が得られている。佐賀県茶業試験場の試験結果では、冬期遮光（12月中旬～3月上旬）により、萌芽期の太根の炭水化物含量の減少と一番茶新芽の生育の遅れ、摘芽数の減少、アミノ酸含有率の低下等がみられている（注：平成10年度茶業試験成績・計画概要集）。青木（1985b）の冬期被覆試験においても、冬期被覆の遮光率90%区では一番茶が減収するとともに新芽数の減少がみられた。これらのことから、太根のデンプンは各部位よりも早い時期に蓄積が進み一番茶から秋まで長期にわたって各茶期の茶芽の生育と樹体各部位の生長に周年的に利用されるのに対して、萌芽期前後以降に成葉で生成される光合成産物と枝部や中根の貯蔵デンプンは主として一番茶の生育に寄与するものと推察される。さらに、各部位の炭水化物含量の減少は、新芽生育の遅延や摘芽の不揃いを通じて一番茶の生産性を低下させると考えられる。ただし今回の試験では、遮光による炭水化物含量の減少程度とそれに対する収量低下程度とが必ずしも一致しなかった。部位によって樹体全体に占める重量比率や炭水化物濃度レベルが大きく異なり、個々の部位の炭水化物含量（濃度）だけでは茶園の収量性を全て説明できていないことも考えられる。そこで、土耕ポット茶樹に対しても遮光処理を行い、全量を対象として幼茶樹1本あたりの炭水化物含量（ $\text{g DW plant}^{-1}$ ）を算出し新芽生育量との関係を解析した。

土耕ポット茶樹における遮光試験では、デンプン含量（ $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ）の推移に顕著な処理間差がみられ、無処理区では1月上旬から3月下旬にかけて2～4倍に高まり、4月下旬にもやや上昇した一方、被覆区では顕著な上昇はみられなかった。3月下旬（萌芽期）における被覆区の炭水化物含量（ $\text{g DW plant}^{-1}$ ）は無処理区の約6割に減少した。また、被覆区の新芽の生育量は、有効芽数の減少と生育の遅延により、無処理区の6割程度と有意に少なくなった。これらのことから、土耕ポット茶樹においても、遮光に伴う樹体内炭水化物の減少は新芽数の減少や生育の遅延を通じて新芽生育量を低下させることが明らかになり、成木園での試験結果を再確認できた。

成木園における遮光試験（3.2.1 項）から、炭水化物含量の処理間差が表れやすいのは、



成葉の可溶性糖，太枝および中根のデンプンであることが明らかになった．また，中根や太根ではデンプン測定値の反復間差が大きく，デンプン含量の遮光処理による区間差が明瞭でなかった．そこで，チャの樹体診断を目的として効率的，効果的な試料採取方法を検討するため，成葉，太枝および中根の炭水化物含量の採取時期，太さ等の違いによる変動を明らかにした．成葉の可溶性糖含量は，秋期以降，厳冬期に最大となり一番茶萌芽期には半減し，摘採期にかけてさらに低下した．厳冬期には可溶性糖含量の値が高いものの耐凍性の影響を大きく受ける．一方，萌芽期における可溶性糖含量は，厳冬期に対して半減するが，反復間差が小さく，冬期に受けるストレスの影響が，より反映される時期であると考えられる．これらのことから，成葉の可溶性糖含量を測定するためには，萌芽期に採取するのが適当であると考えられた．太枝，中根のデンプン含量は，一番茶萌芽期から各茶期の新芽の生育を経て秋期に最低値となり，冬期を経て翌年の一番茶萌芽期にかけて上昇した．中根のデンプン含量は，径が太いほど高かった．また，同一個体から中根を4本採取した場合のデンプン含量の変動係数は6%～24%となり，株によって変動程度が異なった．一方，太枝は，太根や中根と比較して，デンプン含量は少ないが，反復間差（変動係数6～12%）は小さかった．これらのことから，太枝，中根のデンプンについても，萌芽期に採取するのが適当であると考えられた．ただし，中根のデンプン含量は太さにより変動することに加え，個体内でも変動が大きい場合があることから，採取時の太さの統一が必要であり，1区当たりの採取数についても検討する余地があると考えられた．

第二に，環境ストレスがチャに及ぼす影響を明らかにし，ストレスに対応した適切な栽培管理技術を確立することを目的として，茶樹に対して土壤の乾燥，遮光および整枝の処理を行い，新芽の生育，光合成能および炭水化物の分配等を調査した．

年間を通じた干ばつや土壤の乾燥が，チャの生育や収量性を低下させることが懸念されている．そこで，土壤の乾燥がチャの生育，光合成能および炭水化物生産に及ぼす影響を明らかにするため，土耕ポット茶樹を対象として新芽の4葉開葉期から18日間の土壤の乾燥処理を行った．その結果，強乾燥区では土壤含水率が対照区の半分程度まで低下し，新芽生育が大きく抑制されるとともに，新葉および成葉の光合成速度，蒸散速度および気孔コンダクタンスの減少がみられた．成葉の可溶性糖含量は対照>弱乾燥>強乾燥の順で高く，各部位のデンプン含量も同様に乾燥処理に伴って減少した．これに対し，成葉以外の部位では強乾燥>弱乾燥>対照の順で可溶性糖含量が高かった．また，各部位の遊離アミノ酸含量も乾燥処理に伴い多くなる傾向がみられた．乾燥ストレス下では浸透圧調節のた

めの適合溶質として糖類やアミノ酸が増加することが示されている (Yakushiji ら 1996, Ogawa and Yamauchi 2006). これらのことから, 土壌の乾燥ストレス下では, 光合成能の低下により, 成葉の可溶性糖含量は減少する一方, 他の部位では浸透圧調節を目的とした可溶性糖の増加が起こること, 光合成能の低下に伴う炭水化物の供給減により新芽生育と各部位のデンプン蓄積が抑制されることが明らかになった.

チャの品質向上を目的とした強度の遮光栽培が行われ, 光合成の抑制に伴う樹勢への影響が懸念されている. そこで, 完全遮光栽培がチャに及ぼす影響を明らかにするため, 成木園を対象として, 一, 二番茶の生育期にそれぞれ約 15 日, 10 日間の被覆 (遮光率 98% の 3 重被覆) 処理を行い, 各茶期の新芽の収量, 樹体内炭水化物含量を調査した. その結果, 被覆区の一番茶収量は無処理区に対し 1/4~1/5 程度に, 二番茶では 6 割程度に減少した. これに対し, 秋冬番茶および翌年一番茶の収量には有意な区間差は認められず, 7 月上旬 (二番茶後) から翌 4 月上旬 (翌年萌芽期) までの期間を通じた成葉の可溶性糖含量と太枝および中根のデンプン含量にも大きな区間差はみられなかった. 中切り更新園では葉層除去により一時的に樹体内炭水化物含量は減少するが秋以降の着葉により回復することが報告されている (関谷・山下 1988). 本研究の 2.3 項においても, 新芽の生育が極度に抑制された場合に, 根中の貯蔵デンプンが比較的高く維持されることが示された. これらのことから, 一番茶から二番茶にかけての完全遮光は一時的にソース能を低下させると推測されるが, 極端な収量低下に伴い貯蔵炭水化物の消費が抑制されること, 一番茶の生育に対しては越冬葉の光合成能と冬期に蓄積する貯蔵炭水化物の貢献度が高いことなどから, 遮光後から翌年までの生育・収量に及ぼす影響は小さいと推察された.

茶園管理の一つである整枝を冬期から春に行うと株面成葉に日焼けが発生することが示されており, 日焼けに伴う光合成能の低下と新芽生育への悪影響が懸念されている. そこで, 整枝時期の違いと光ストレスに伴う日焼けの有無が新芽の生育, 光合成能および炭水化物の分配に及ぼす影響を明らかにするため, 成木園を対象として, 秋 (10 月上旬) および春 (2 月下旬) に整枝を行った. 春整枝区における太枝および中根のデンプン含量は, 整枝後の 2 月下旬, 萌芽期である 3 月下旬の時点では, 秋整枝区より多くなる傾向がみられた. 一方, 春整枝区における一番茶新芽の生育および摘採期は秋整枝区より遅くなったが, この生育差は越冬芽の生長速度の違いによるところが大きく, 摘採期までの新芽の生育に対しては, 貯蔵デンプンよりも整枝時期による影響のほうが大きいと考えられた. 成葉の可溶性糖含量は, 秋整枝区と春整枝区 (健全部) の間に大きな差はみられなかった.

しかしながら、春整枝区の株面で日焼け症状を呈した部分では、一番茶新芽の生育後期における成葉の可溶性糖含量が少なくなるとともに、新芽の生育遅延と摘芽の不揃いを生じた。これらのことから、秋整枝と春整枝のような整枝時期の違いは、樹体内炭水化物と一番茶の摘採時期および収量・品質に対して影響を及ぼすが、整枝時期の違いに伴う貯蔵デンプンの多少と一番茶生育との関連性は低いこと、春整枝後に日焼けが発生した場合には、ソース葉の光合成能の低下に伴い糖供給が抑制され一番茶の摘採期の遅延と摘芽の不揃いが助長されることが明らかになった。

以上のことから、成木園における冬から春期の樹体内炭水化物の分配・蓄積メカニズムが明らかになるとともに、炭水化物含量の減少が一番茶の生産性を低下させることが示された。また、成葉の可溶性糖並びに太枝および中根のデンプン含量の環境ストレスに伴う変化や時期・太さ等による変動が明らかになり、これらの部位の炭水化物含量を測定することにより樹体診断が可能であることが示唆された。しかしながら、生産現場で簡便に樹体診断を行うためには、より再現性の高い試料採取方法を検討する必要がある。また、環境ストレスがチャに及ぼす長期的な影響については解明できていない点があり、今後も詳細な解析が必要である。

### 3.5 要約

#### 3.5.1 冬から春期の樹体内炭水化物含量が一番茶新芽の生産性に及ぼす影響

##### 3.5.1.1 成木園における遮光試験

チャの樹体内炭水化物含量と一番茶の収量・品質との関係を明らかにするため、成木園において冬期の異なる時期に、遮光率 85%の資材を用いて遮光(直接被覆)処理を行った。冬期に遮光を行わなかった場合には、光合成産物である糖の供給が十分に行われ、デンプンは2月下旬には太根、中根での蓄積が増加し、その後萌芽期までに枝部へも蓄積された。これに対し、冬期に3ヶ月(1月上旬~4月上旬)遮光した場合には、光合成の抑制により葉からの糖の供給量が不足し、太根に続いて中根や枝部でもデンプンの蓄積が遅れた。遮光時期を前半と後半の1ヶ月半に分けた場合、前半(1月上旬~2月下旬)被覆区と比較して、後半(2月下旬~4月上旬)被覆区では、萌芽期における各部位の可溶性糖およびデンプン含量が減少し、一番茶の新芽生育と摘採時期の遅れ、摘芽数の減少、摘芽の不揃い、新芽の全窒素含有率の減少などが生じた。

##### 3.5.1.2 土耕ポット茶樹における遮光試験

前節の成木園における遮光試験を補完するため、土耕ポット茶樹に対して冬期（1月～3月）に遮光処理を行った。その結果、各部位のデンプン含量（ $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ）の推移に顕著な処理間差がみられ、無処理区では1月上旬から3月下旬にかけて2～4倍に高まり、4月下旬にもやや上昇した一方、被覆区では顕著な上昇はみられなかった。3月下旬（萌芽期）における被覆区の茶樹1本当たりの炭水化物含量（ $\text{g DW plant}^{-1}$ ）は無処理区の約6割に減少した。また、被覆区の新芽の生育量は、有効芽数の減少と生育の遅延により、無処理区の6割程度と有意に少なくなり炭水化物含量の減少程度と一致した。

### 3.5.1.3 成木園における樹体内炭水化物の時期別、個体内変動

成木園における成葉の可溶性糖、太枝および中根のデンプンについて、採取時期および太さ等の違いによる変動を調査した。成葉の可溶性糖含量は、秋期以降、厳冬期に最大となり耐凍性の低下に伴って摘採期まで低下した。中根のデンプン含量は、一番茶生育期から秋整枝後にかけて大きく減少し最小値となり翌年萌芽期に再び上昇した。太枝のデンプン含量も、中根と同様の傾向を示したが時期による変動は中根よりも小さかった。中根のデンプン含量は、径が太いほど多くなり、同一個体から複数本採取した場合の変動程度（個体内変動）は、株によって異なった。

## 3.5.2 土壌の乾燥、完全遮光および整枝がチャの生育および炭水化物生産に及ぼす影響

### 3.5.2.1 土壌の乾燥の影響

土壌の乾燥が新芽の生育、光合成能および樹体内炭水化物の分配・蓄積に及ぼす影響を明らかにするため、土耕ポット幼茶樹を対象として新芽の4葉開葉期から18日間の乾燥処理を行った。その結果、乾燥処理に伴い土壌含水率は大きく低下し、乾燥区では、新芽の生育量が5～7割に減少した。また、乾燥強度の増加に伴い、新葉および成葉の光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンスが顕著に低下した。成葉以外の部位の可溶性糖含量は強乾燥>中乾燥>対照の順で多かった。これに対し、成葉の可溶性糖および各部位のデンプン含量は、対照>中乾燥>強乾燥の順で多く、新芽生育量や光合成能の傾向と一致した。

### 3.5.2.2 完全遮光の影響

完全遮光がチャの収量および樹体内炭水化物の蓄積に及ぼす影響を明らかにするため、成木園を対象として、一、二番茶の生育期に被覆（遮光率98%の3重被覆）処理を行った。その結果、被覆区の一番茶収量は無処理区に対し1/4～1/5程度に、二番茶では約6割に減少した。一方、秋冬番茶および翌年一番茶の収量、7月上旬（二番茶後）から翌4月上旬（翌年萌芽期）までの期間を通じた成葉の可溶性糖含量並びに太枝および中根のデンプン

含量には、大きな区間差はみられなかった。

### 3.5.2.3 整枝による光ストレスの影響

整枝時期の違いおよび日焼け発生の有無が新芽の生育および炭水化物の分配に及ぼす影響を明らかにするため、成木園を対象として、秋（10月上旬）または春（2月下旬）に整枝を行った。春整枝区における太枝および中根のデンプン含量は、整枝直後（2月下旬）と萌芽期（3月下旬）の時点では、秋整枝区より多くなる傾向がみられた。成葉の可溶性糖含量は、秋整枝区と春整枝区（健全部）の間に大きな差はみられなかったが、春整枝区において日焼け症状を呈した成葉では、一番茶新芽の生育後期における可溶性糖含量が少なくなり、日焼け発生部分での新芽の生育遅延と摘芽の不揃いを助長した。

表 3-1 各区における遮光処理時期と日数

処理区	遮光開始	～	遮光終了	遮光期間
無処理区	—		—	—
前半被覆区	1月5日	～	2月21日	47日
後半被覆区	2月21日	～	4月5日	43日
全期被覆区	1月5日	～	4月5日	90日

表 3-2 遮光時期の違いが一番茶摘採日および収量構成に及ぼす影響

処理区	摘採日	収量 (kg 10a <sup>-1</sup> )	枠摘み (20×20cm) 調査					出開度 (%)
			摘芽重 (g FW)	摘芽数 (本)	百芽重 (g FW)	摘芽長 (mm)	新葉数 (枚)	
無処理区	5月8日	640	27.4	48.0	56.9	44.9 <sup>ab</sup>	2.7	33
前半被覆区	5月8日	599	25.1	46.3	54.7	43.7 <sup>b</sup>	2.7	21
後半被覆区	5月10日	626	26.1	42.8	61.6	50.9 <sup>a</sup>	2.6	30
全期被覆区	5月10日	653	26.2	41.4	63.6	50.5 <sup>a</sup>	2.6	19
分散分析の有意性		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	*

\* は 5%水準で有意，同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%)。

収量 (kg 10a<sup>-1</sup>) は，実収量から換算した。

表 3-3 遮光の有無が新芽の収量構成に及ぼす影響 (土耕ポット試験)

処理区	全新芽重 (g FW plant <sup>-1</sup> )	新芽数(本 plant <sup>-1</sup> )		百芽重 (g)	新葉数 (枚)	出開度 (%)	
		うち微小芽					
無処理区	20.9	38.0	1.7	56.4	2.8	43	
被覆区	12.5	37.3	9.0	34.8	2.1	3	
分散分析の有意性		*	n.s.	n.s.	n.s.	*	*

\* は 5%水準で有意。

茶樹 1 本当たりの全ての新芽を基部から採取した。

表 3-4 整枝時期と日焼けの有無が一番茶摘採時期および新芽の収量構成に及ぼす影響

処理区	枠摘み(20×20cm)調査							
	枠摘み日	摘芽重 (g FW)	摘芽数 (本)	百芽重 (g FW)	摘芽長 (mm)	新葉数 (枚)	出開度 (%)	
秋整枝	5月1日	31.5	57.0 <sup>a</sup>	55.2 <sup>b</sup>	48.7 <sup>b</sup>	2.9	38 <sup>a</sup>	
春整枝	健全部	5月6日	32.2	41.0 <sup>b</sup>	79.9 <sup>a</sup>	63.4 <sup>a</sup>	2.7	24 <sup>ab</sup>
	日焼け部	5月9日	30.2	45.5 <sup>ab</sup>	67.1 <sup>ab</sup>	54.9 <sup>ab</sup>	2.7	20 <sup>b</sup>
分散分析の有意性		n.s.	*	**	*	n.s.	*	

同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

\*, \*\* は, それぞれ 5%, 1%水準で有意.

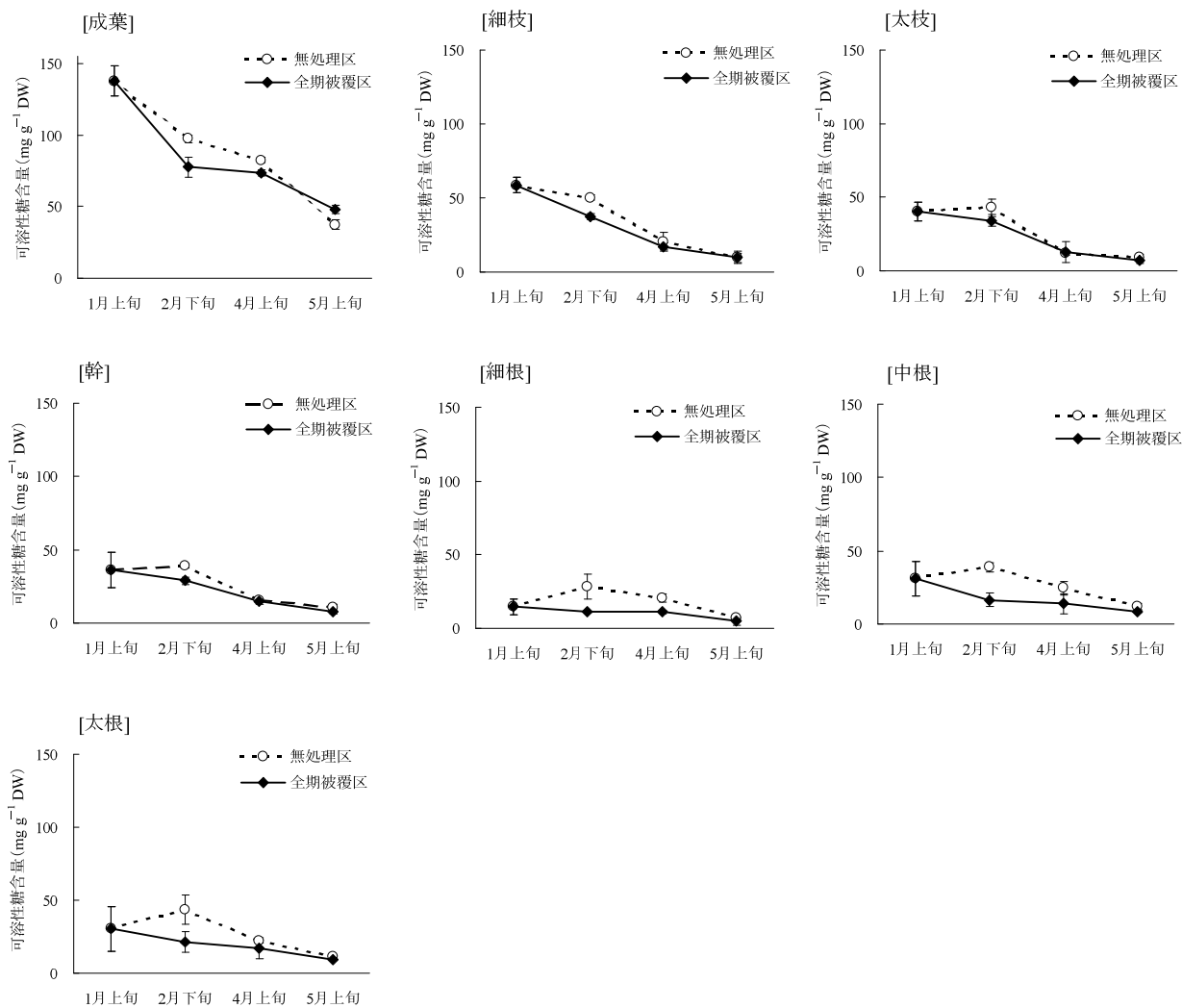


図 3-1 遮光の有無が部位別可溶性糖含量の経時変化に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3). 全期被覆区は1月5日~4月5日に遮光処理.

試料採取時期: 1月上旬は1月5日, 2月下旬は2月26日,

4月上旬は4月4日, 5月上旬は5月10日.



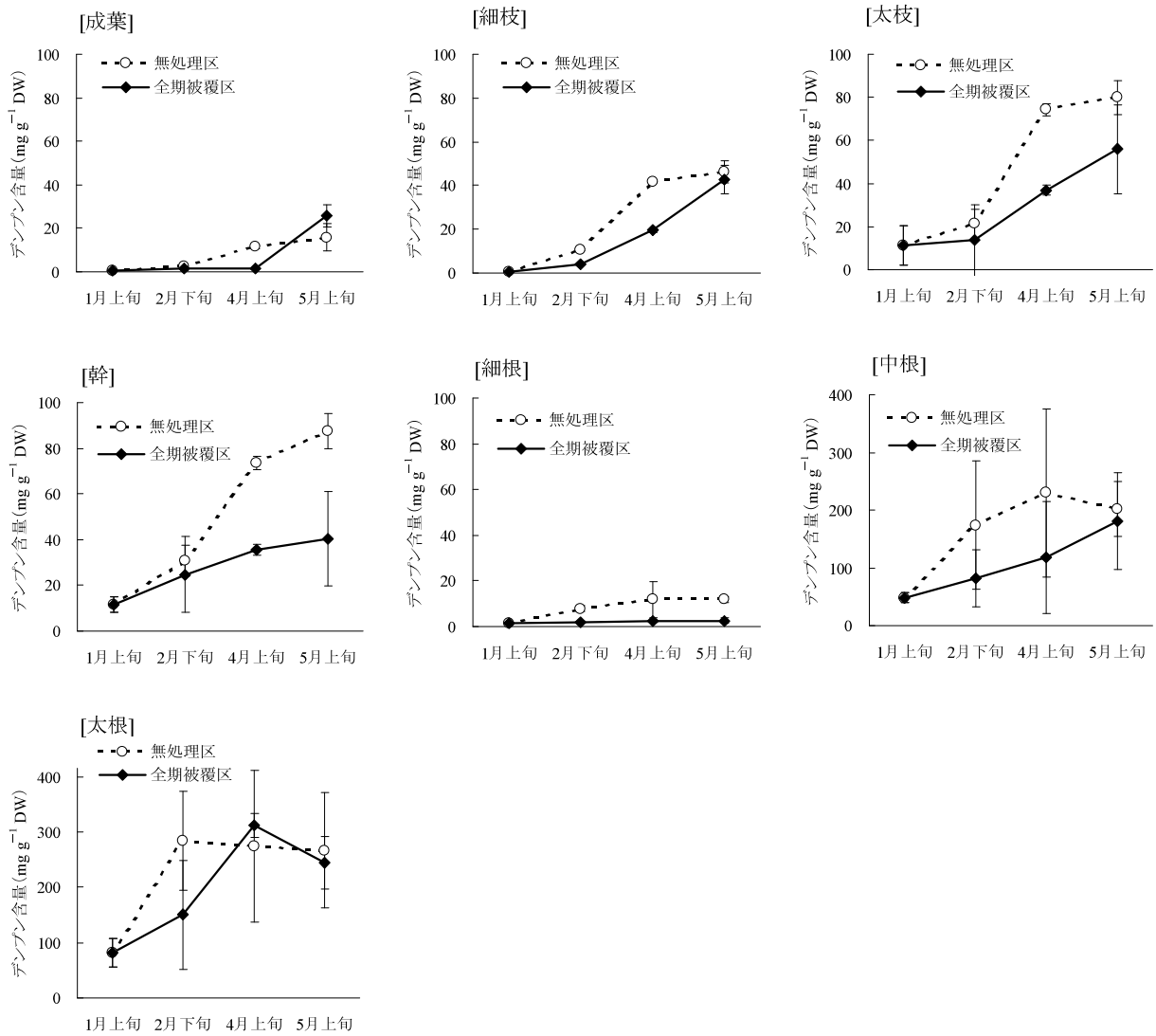


図 3-2 遮光の有無が部位別デンポン含量の経時変化に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3). 全期被覆区は1月5日~4月5日に遮光処理.

試料採取時期: 1月上旬は1月5日, 2月下旬は2月26日,

4月上旬は4月4日, 5月上旬は5月10日.

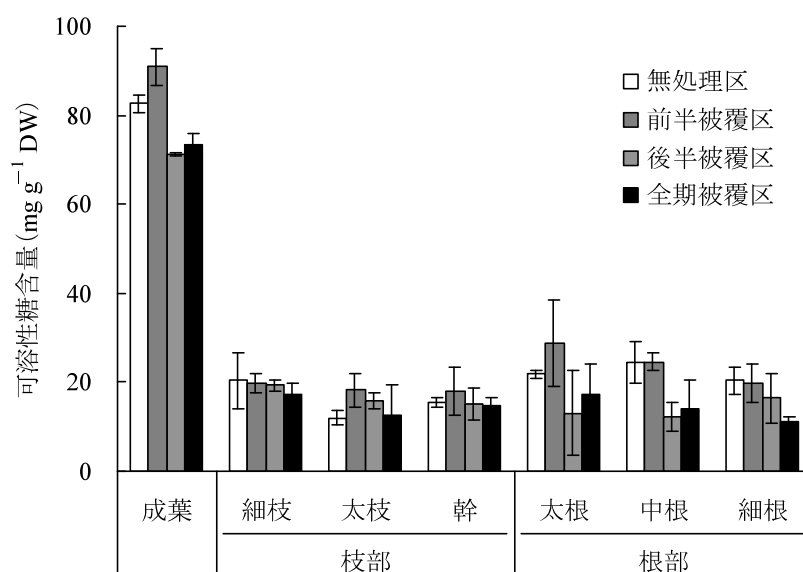


図 3-3 遮光時期の違いが 4 月上旬における部位別可溶性糖含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3). 前半被覆区は 1 月 5 日～2 月 26 日, 後半被覆区は 2 月 26 日～4 月 5 日, 全期被覆区は 1 月 5 日～4 月 5 日に遮光処理.  
4 月 4 日試料採取.

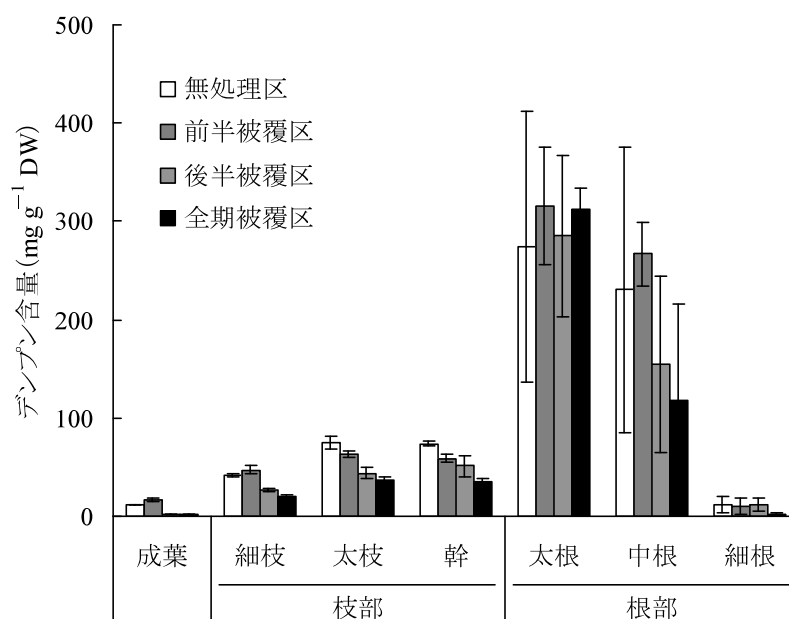


図 3-4 遮光時期の違いが 4 月上旬における部位別デンプン含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3). 前半被覆区は 1 月 5 日～2 月 26 日, 後半被覆区は 2 月 26 日～4 月 5 日, 全期被覆区は 1 月 5 日～4 月 5 日に遮光処理.  
4 月 4 日試料採取.

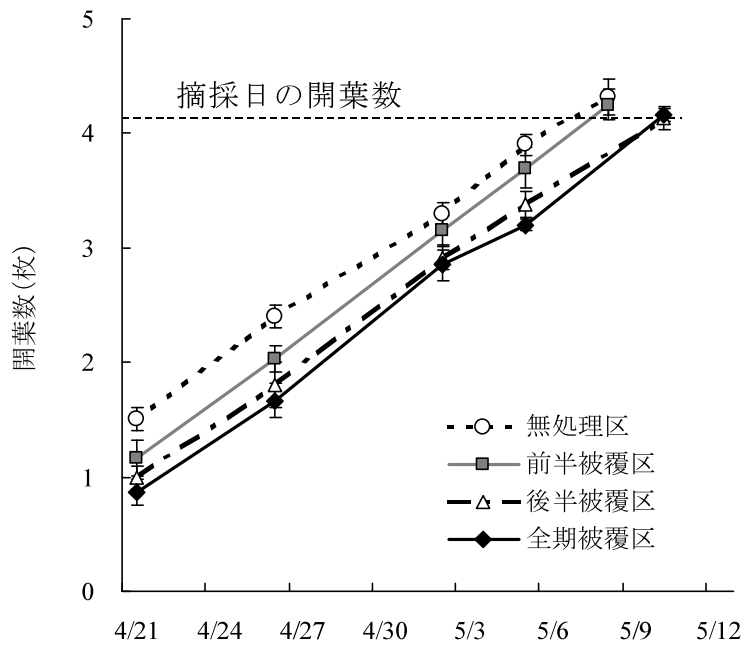


図 3-5 遮光時期の違いが一番茶新芽の開葉数に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

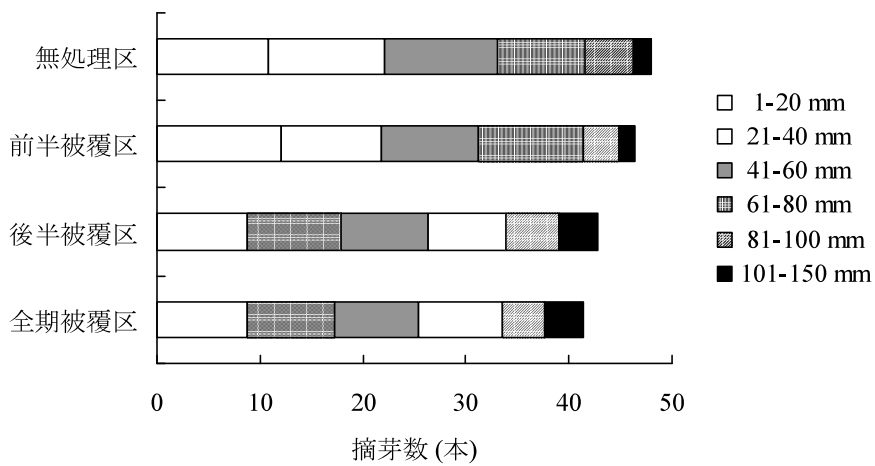


図 3-6 遮光時期の違いが採摘量構成の摘芽長の分布に及ぼす影響

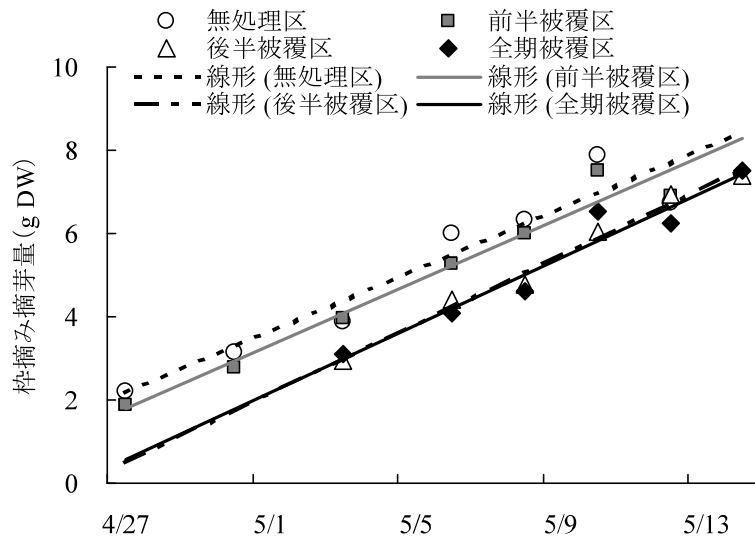


図 3-7 遮光時期の違いが一番茶新芽の採摘み摘芽重の経時変化に及ぼす影響

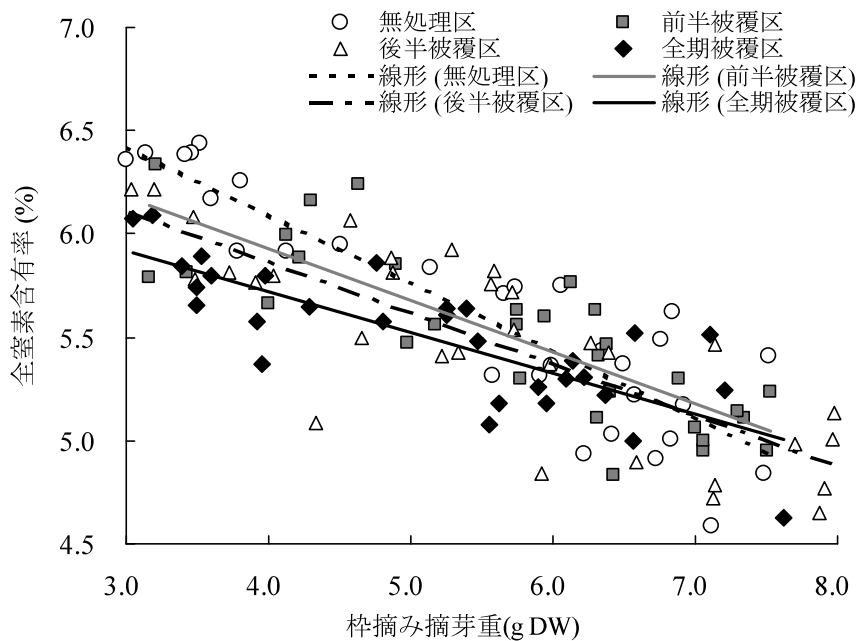


図 3-8 遮光時期の違いが採摘み摘芽重と全窒素含有率に及ぼす影響

採摘み摘芽重 3.0~8.0 g の範囲内の全データを対象として回帰式を作成した。

無処理区  $y = -0.329x + 7.4$  ( $n=30$ ,  $r=-0.90$ ) a

前半被覆区  $y = -0.250x + 6.9$  ( $n=30$ ,  $r=-0.83$ ) a

後半被覆区  $y = -0.249x + 6.9$  ( $n=32$ ,  $r=-0.81$ ) ab

全期被覆区  $y = -0.197x + 6.5$  ( $n=30$ ,  $r=-0.80$ ) b

※回帰式横の英小文字は平行性検定で有意差の認められたもの。

同一英小文字間に有意差なし (holm 5%)。

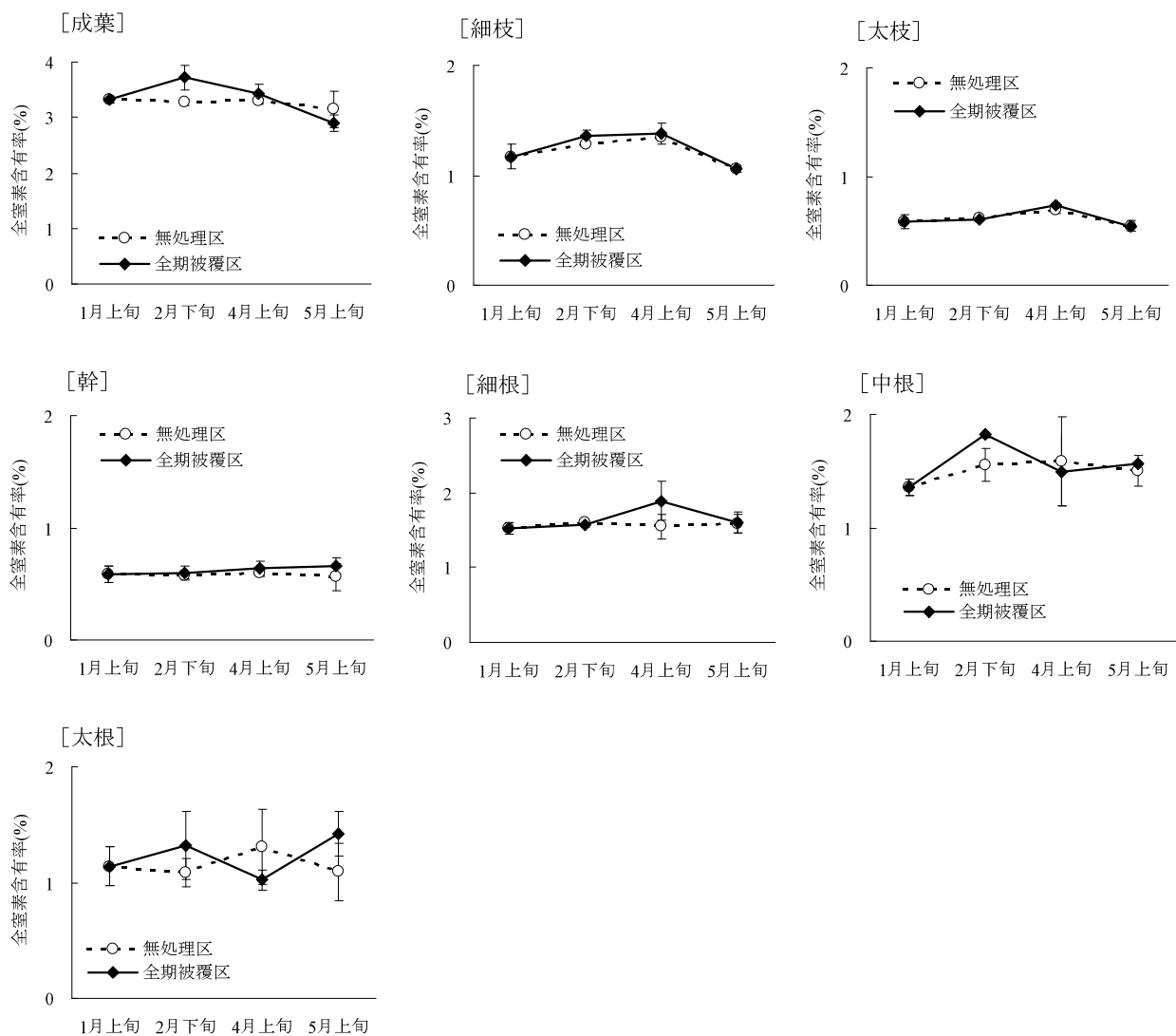


図 3-9 遮光の有無が部位別全窒素含有率の経時変化に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3). 全期被覆区は1月5日~4月5日に遮光処理.  
 試料採取時期: 1月上旬は1月5日, 2月下旬は2月26日,  
 4月上旬は4月4日, 5月上旬は5月10日.

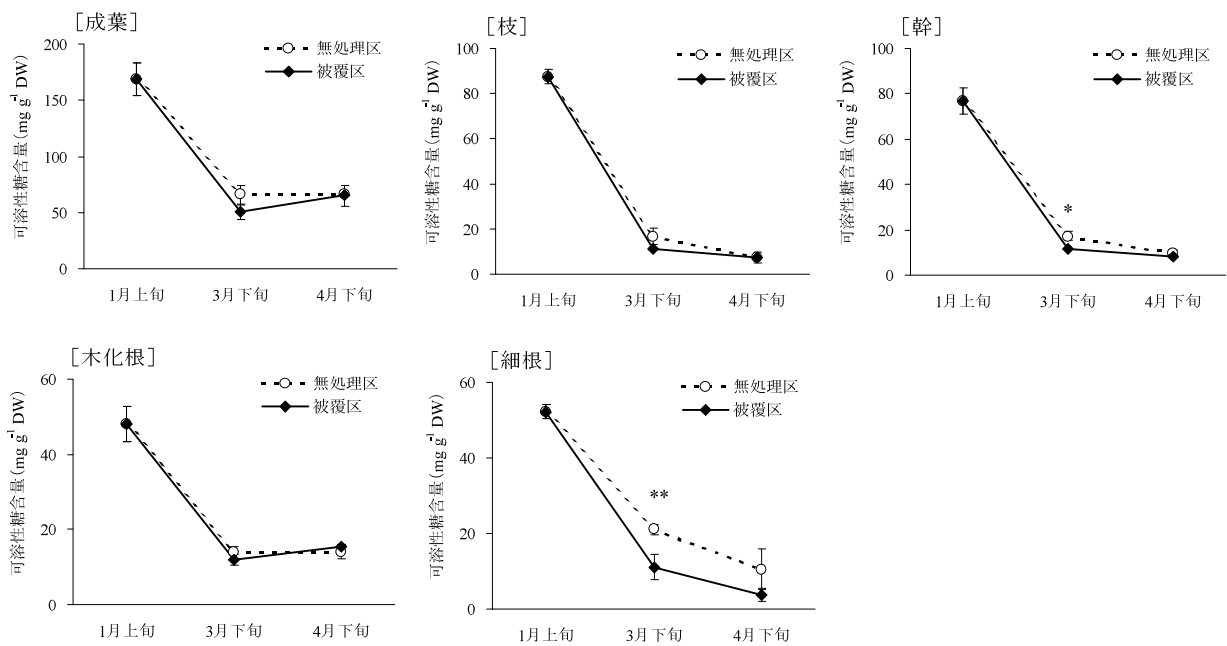


図 3-10 遮光の有無が部位別可溶性糖含量の経時変化に及ぼす影響（土耕ポット試験）

縦棒は標準偏差 (n=3). 被覆区は1月5日～3月23日に遮光処理.

試料採取日は, 1月上旬は1月5日, 3月下旬は3月23日, 4月下旬は4月24日.

\*, \*\*は, それぞれ 5%, 1%で有意.

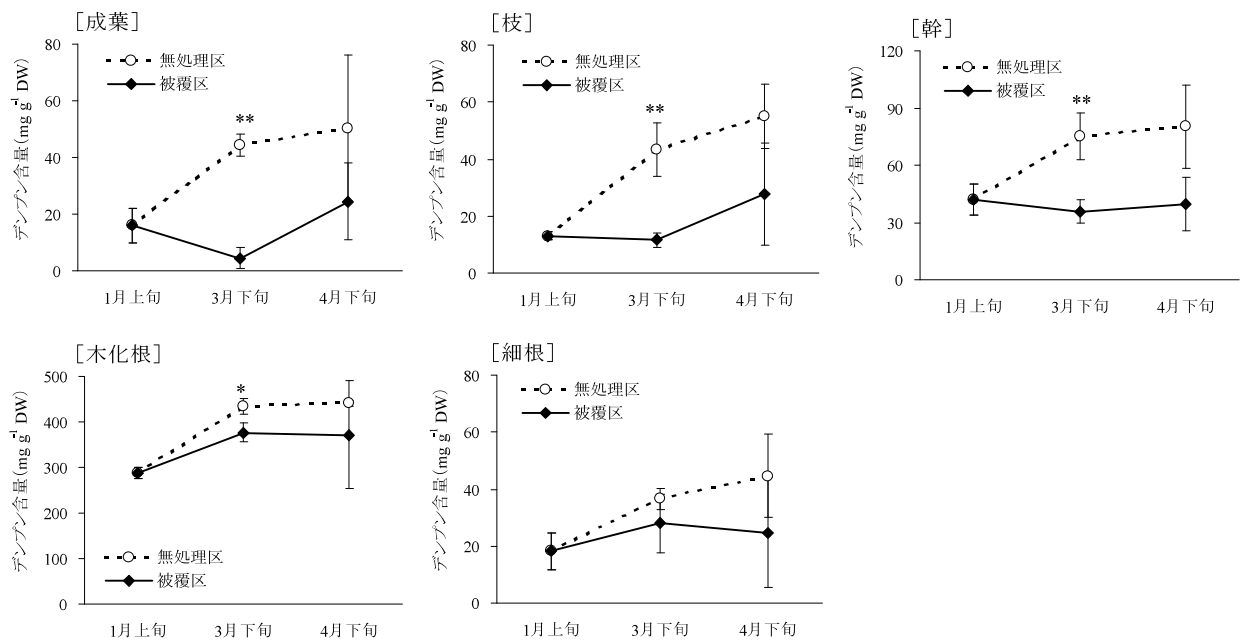


図 3-11 遮光の有無が部位別デンプン含量の経時変化に及ぼす影響（土耕ポット試験）

縦棒は標準偏差 (n=3). 遮光時期と試料採取時期は図 3-10 と同じ.

\*, \*\*は, それぞれ 5%, 1%で有意.

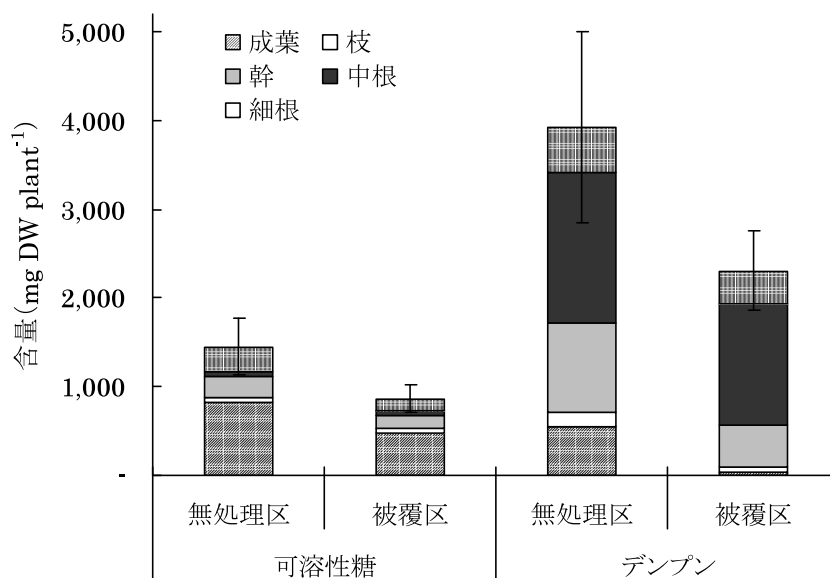


図 3-12 遮光の有無が萌芽期における幼茶樹 1 本当たりの炭水化物含量に及ぼす影響 (土耕ポット試験)

縦棒は標準偏差 (n=3). 3 月 23 日試料採取. 被覆区の遮光時期は図 3-10 と同じ.

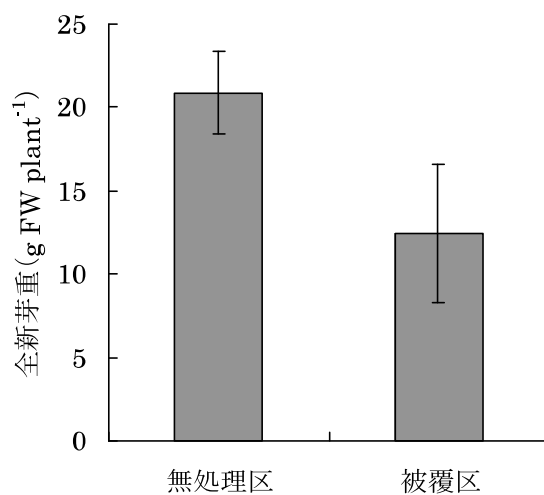


図 3-13 遮光の有無が幼茶樹 1 本当たりの全新芽重に及ぼす影響 (土耕ポット試験)

縦棒は標準偏差 (n=3). 3 月 23 日試料採取. 被覆区の遮光時期は図 3-10 と同じ.

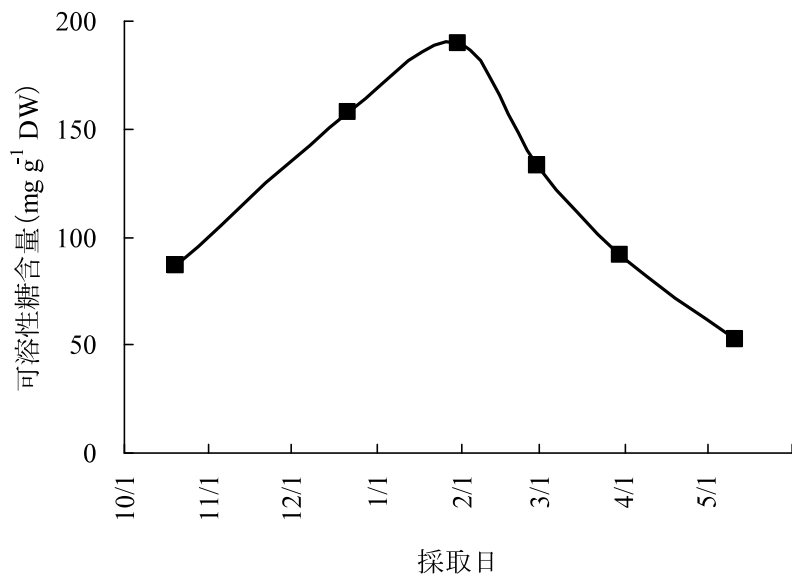


図 3-14 成木園における成葉の可溶性糖含量の推移 (10月～5月)

試料採取日は、2011年10月19日、12月21日、2012年1月30日、2月28日、3月30日、5月11日。

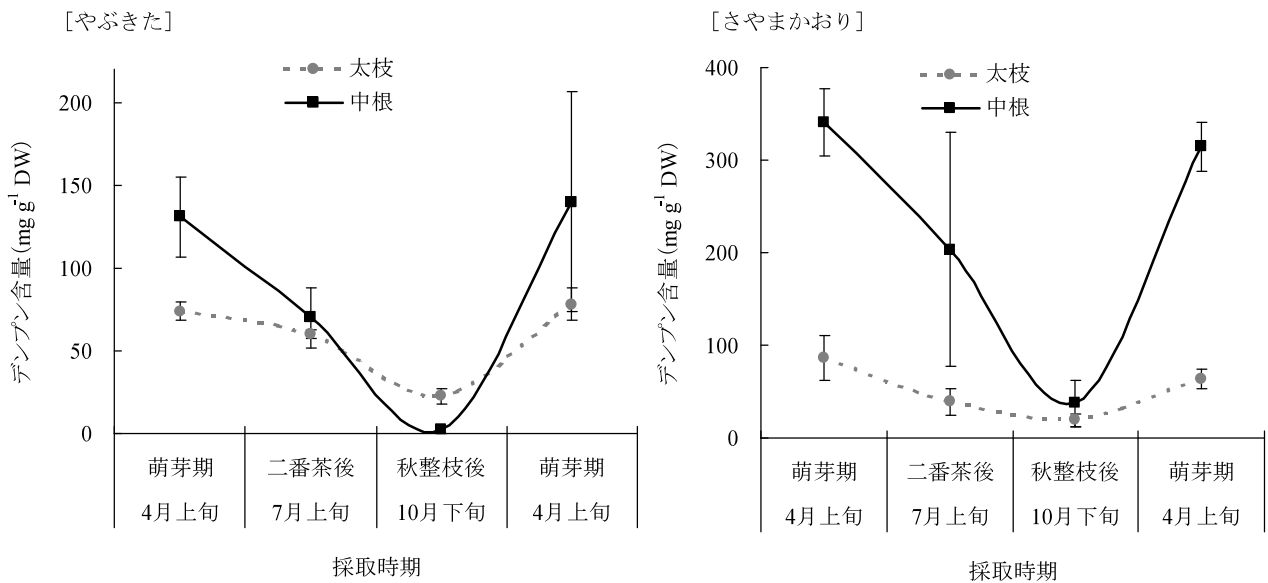


図 3-15 成木園 2 品種における太枝、中根のデンプン含量の推移

縦棒は標準偏差 (n=3)。

試料採取日は、4月上旬は4月6日、7月上旬は7月10日、10月下旬は10月22日、翌年4月上旬は4月5日。



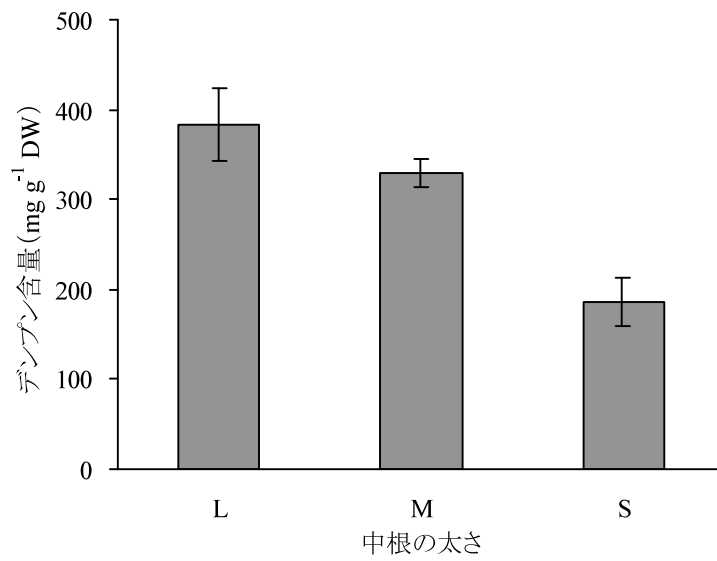


図 3-16 成木園における中根デンプン含量の太さによる変動

縦棒は標準偏差 (n=3). 2011年3月23日試料採取.

L : 7~10mm, M : 4~7mm, S : 2~4mm.

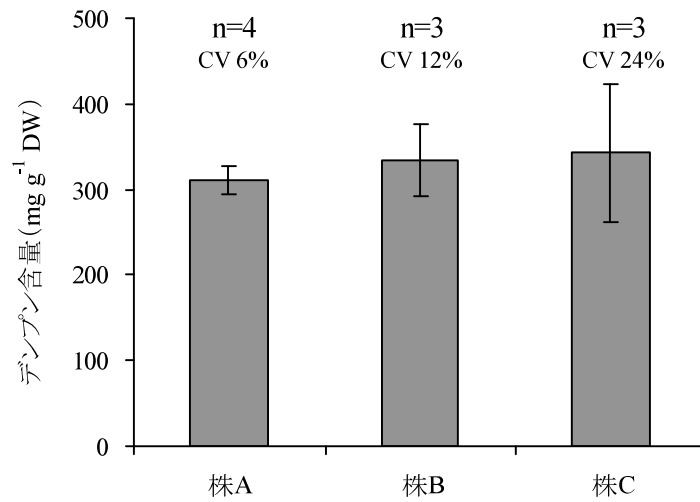


図 3-17 成木園における中根デンプン含量の個体内変動

縦棒は標準偏差. 2011年3月23日試料採取.

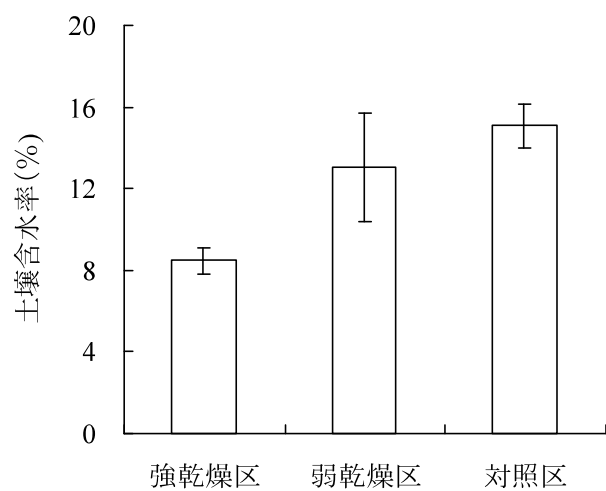


図 3-18 乾燥処理終了後の土壌含水率.

縦棒は標準偏差 (n=3).

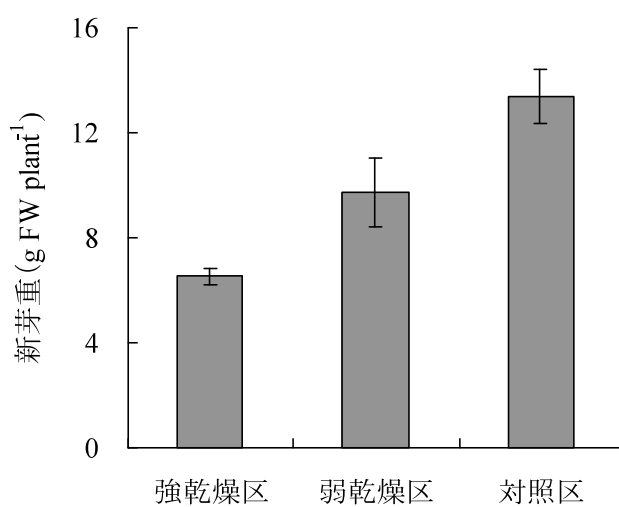


図 3-19 乾燥処理が新芽の生育量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

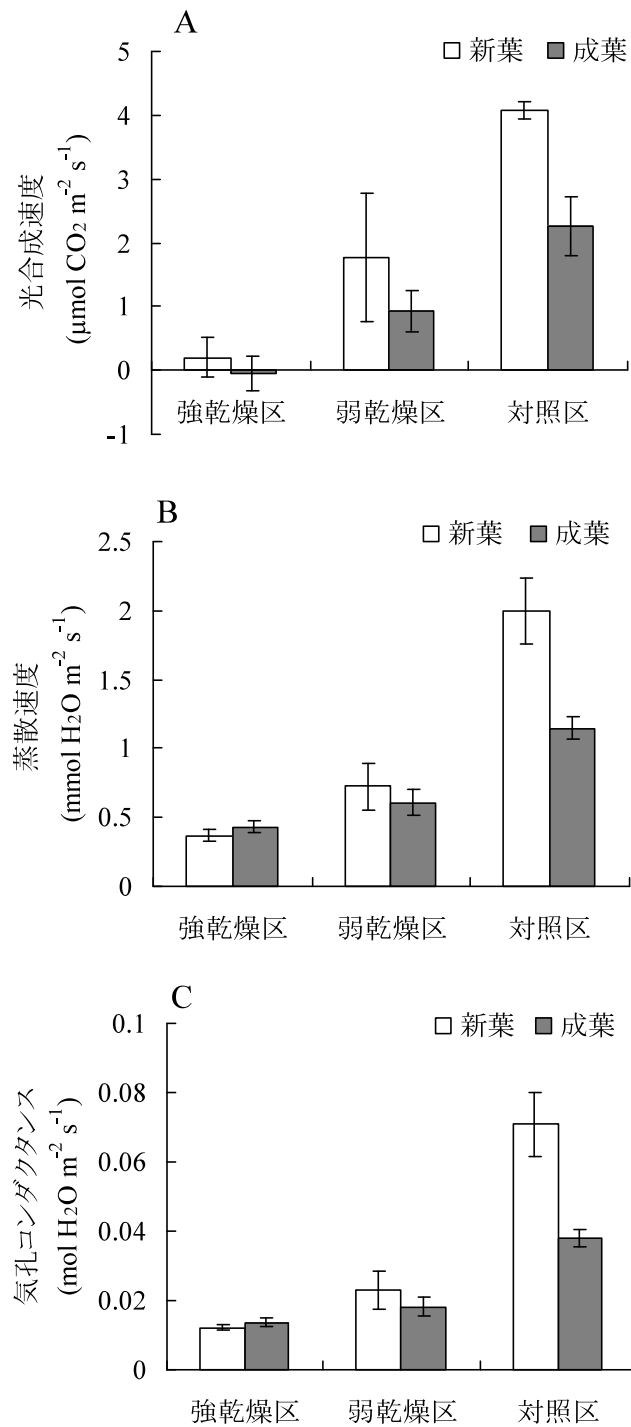


図 3-20 乾燥処理が新葉および成葉の光合成速度 (A), 蒸散速度 (B), 気孔コンダクタンス (C) に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

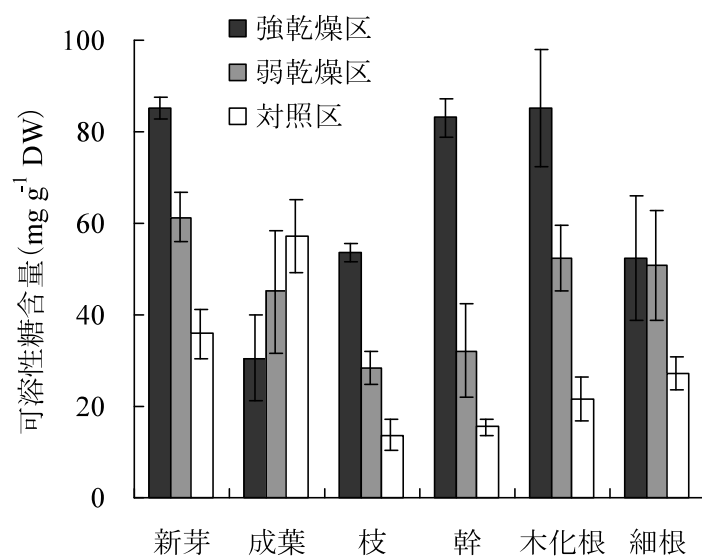


図 3-21 乾燥処理が各部位の可溶性糖含量に及ぼす影響  
縦棒は標準偏差 (n=3).

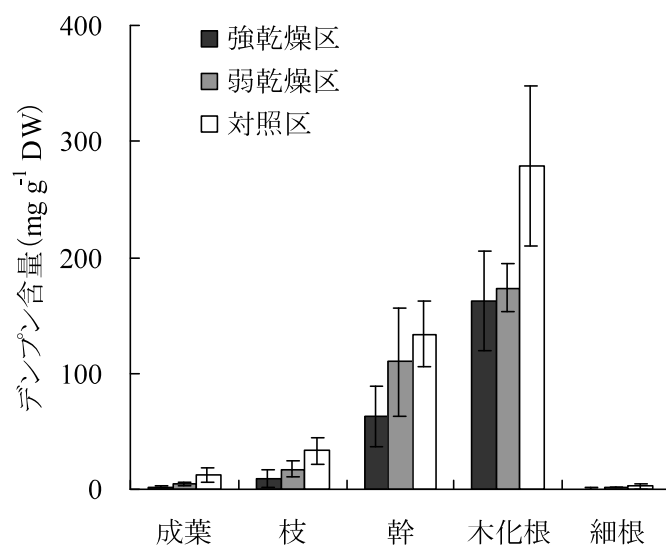


図 3-22 乾燥処理が各部位のデンプン含量に及ぼす影響  
縦棒は標準偏差 (n=3).

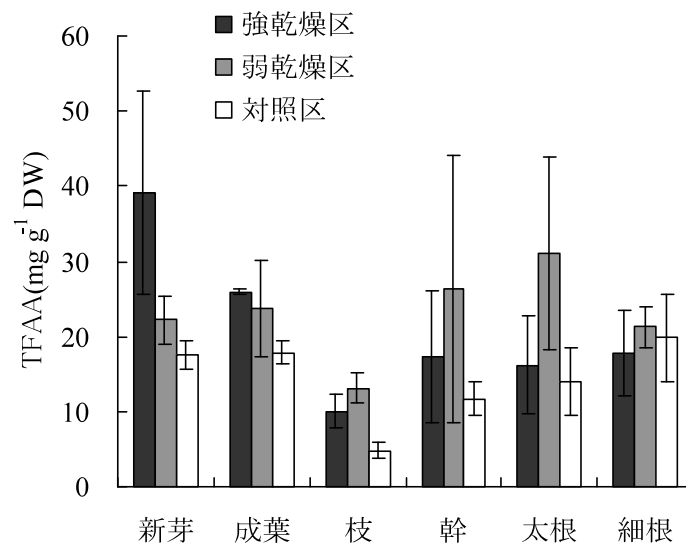


図 3-23 乾燥処理が各部位の全遊離アミノ酸 (TFAA) 含量に及ぼす影響

全遊離アミノ酸含量は、2.3.1.1(5)項に示した 8 種類のアミノ酸の合計値。  
縦棒は標準偏差 (n=3)。

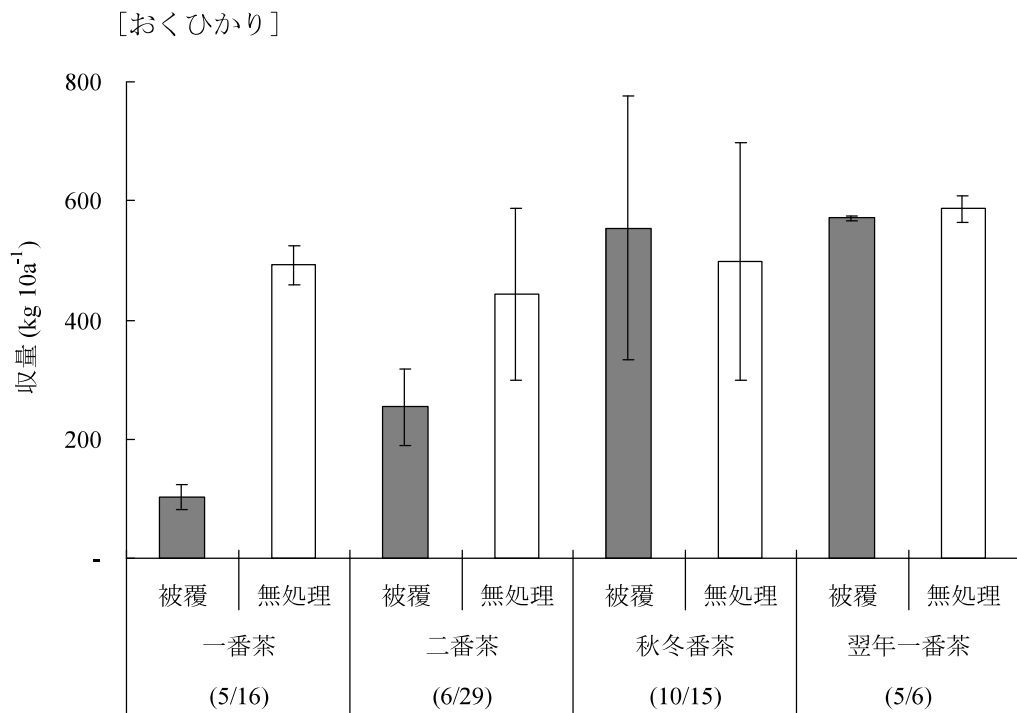
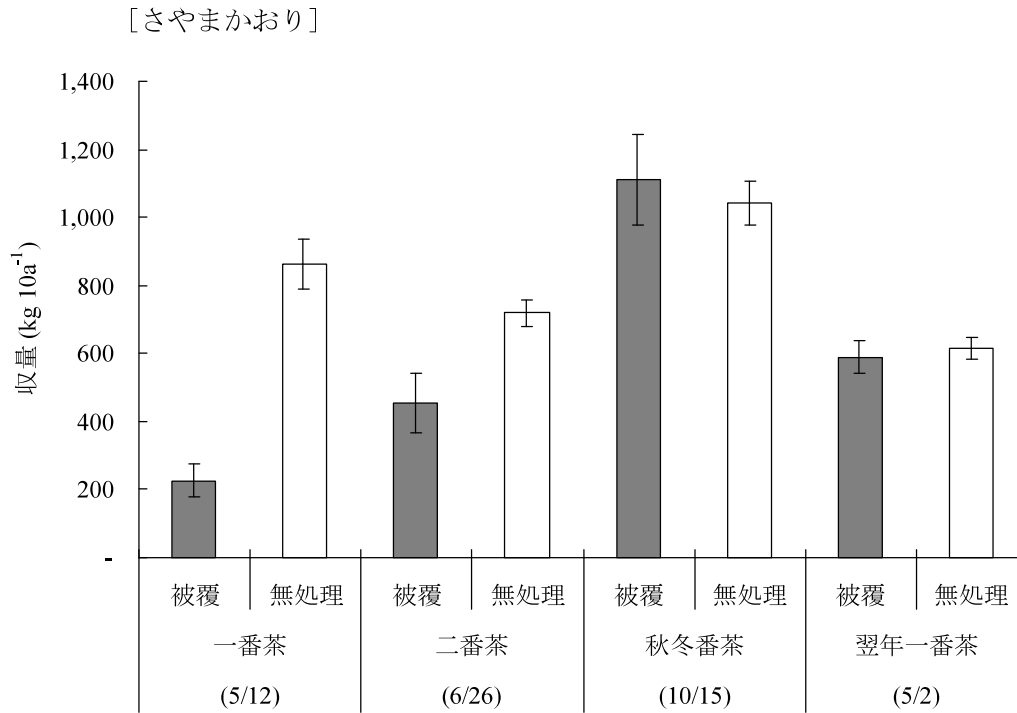


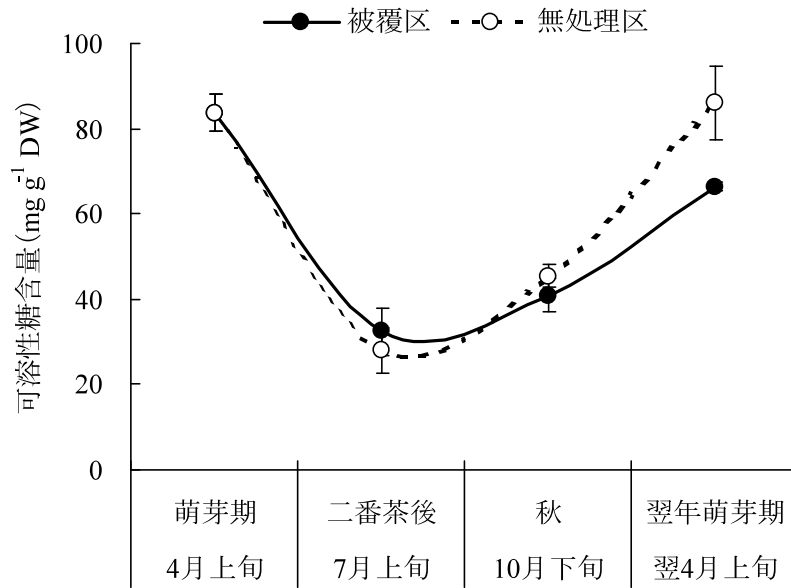
図 3-24 一，二番茶期の被覆（完全遮光）が処理当年から翌年の各茶期の収量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

被覆区は，一番茶および二番茶期に被覆（遮光率 98%の 3 重被覆），秋冬番および翌年一番茶は被覆無し．横軸の括弧内は摘採日．

おくひかりの翌年一番茶は，枠摘み調査から 10a 当たり収量を算出した．

[さやまかおり]



[おくひかり]

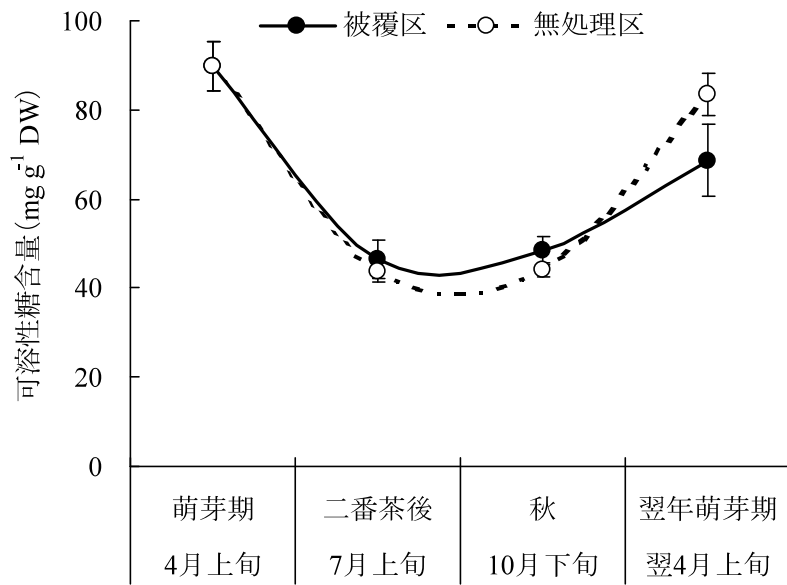


図 3-25 一、二番茶期の被覆（完全遮光）が処理当年から翌年の成葉の可溶性糖含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

被覆区は、一番茶および二番茶期に被覆（遮光率 98%の3重被覆）.

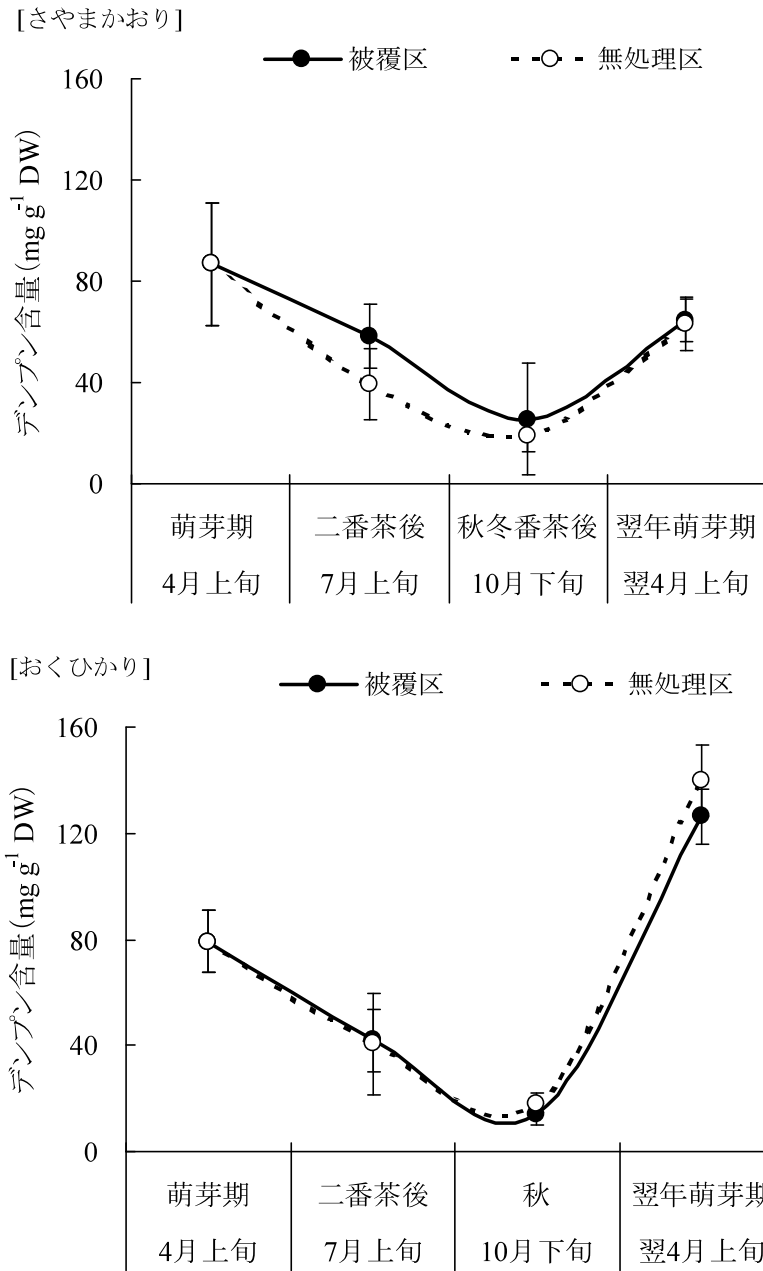


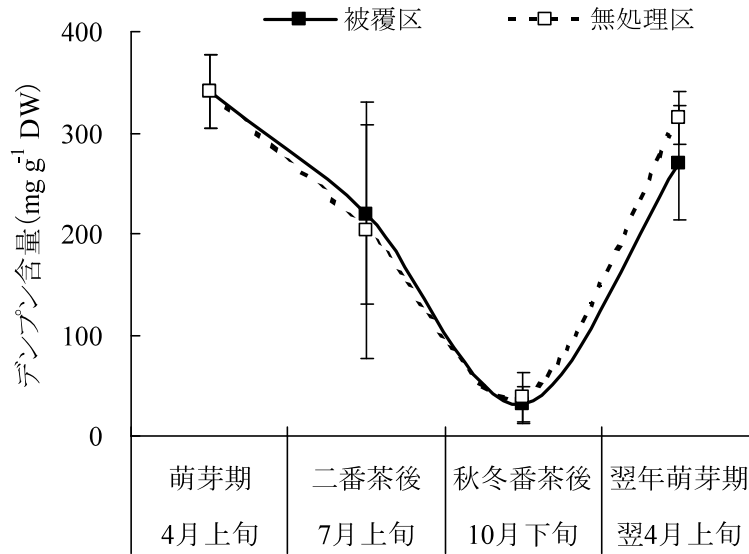
図 3-26 一、二番茶期の被覆（完全遮光）が処理当年から翌年の太枝のデンプン含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

被覆区は、一番茶および二番茶期に被覆（遮光率 98%の 3 重被覆）.



[さやまかおり]



[おくひかり]

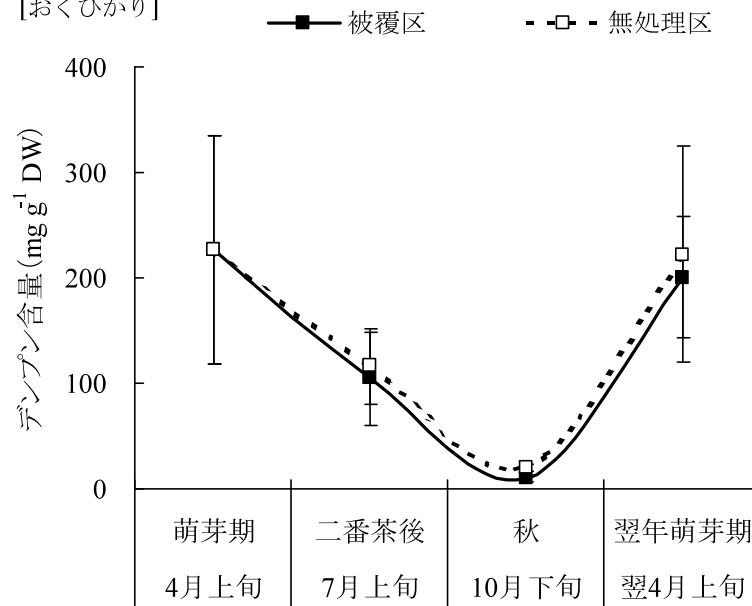


図 3-27 一、二番茶期の被覆（完全遮光）が処理当年から翌年の中根のデンブンプン含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

被覆区は、一番茶および二番茶期に被覆（遮光率 98%の 3 重被覆）.

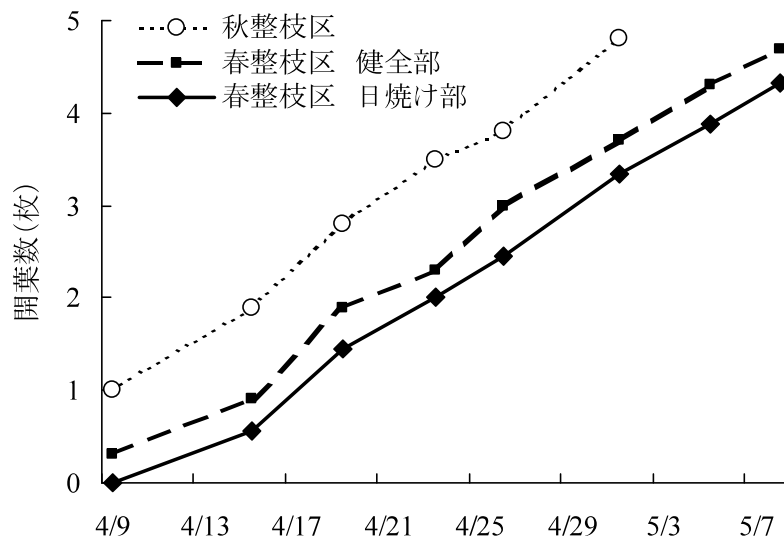


図 3-28 整枝時期および日焼けの有無が一番茶新芽の生育に及ぼす影響  
ラベル 10 芽の平均値.

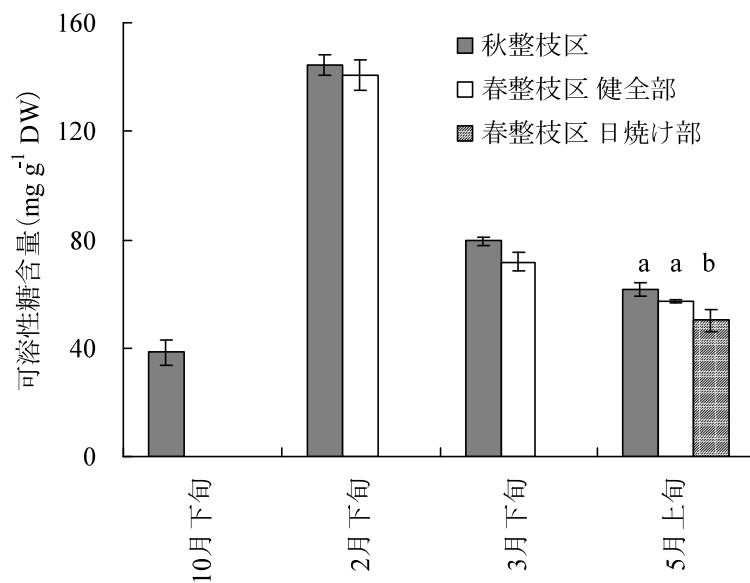


図 3-29 整枝時期および日焼けの有無が各時期の成葉の可溶性糖含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3). 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

10 月下旬は秋整枝区のみ採取, 5 月上旬の春整枝区では健全部と日焼け部で採取した.  
試料採取日は, 10 月下旬は 10 月 23 日, 2 月下旬は 2 月 26 日,  
3 月下旬は 3 月 31 日, 5 月上旬は 5 月 6 日, 9 日.

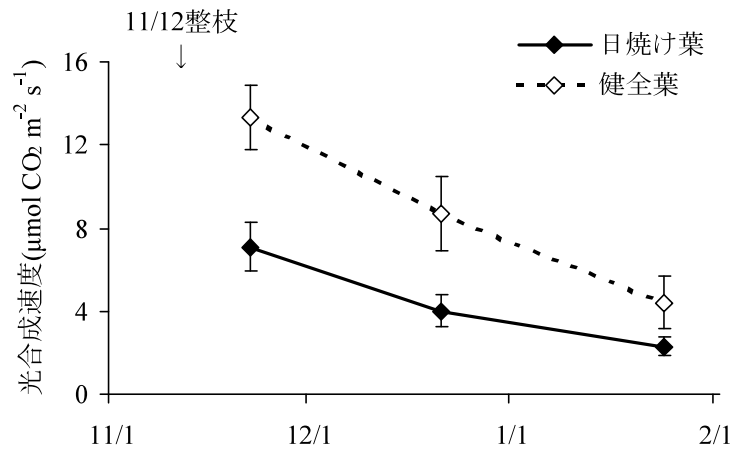


図 3-30 成葉の日焼けが冬期の光合成能に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=10).

11月中旬に整枝した「つゆひかり」ほ場において、健全部と日焼け部から成葉を採取して測定した。

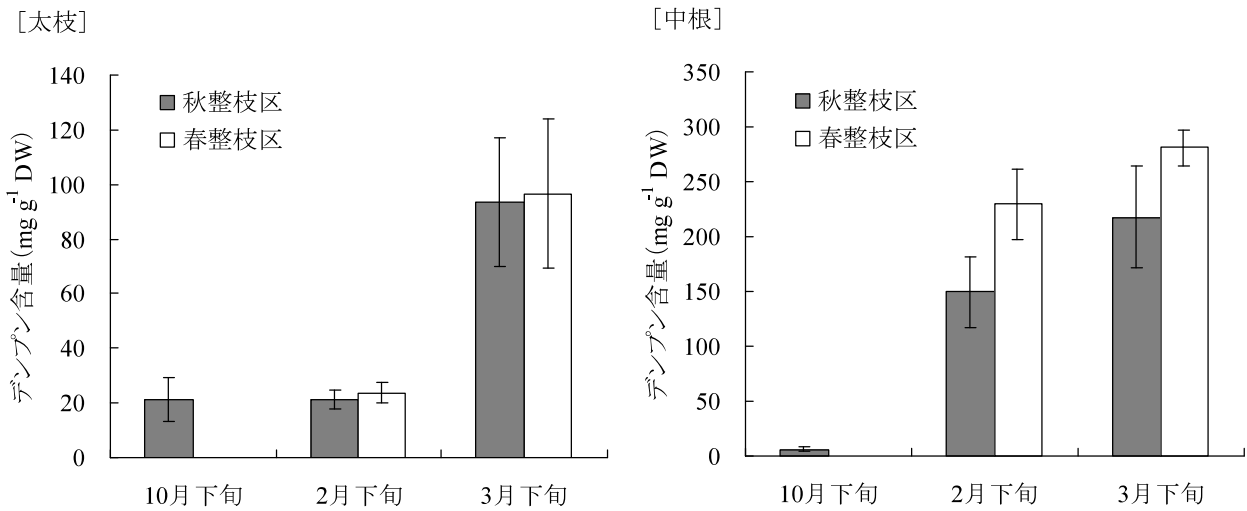


図 3-31 整枝時期の違いが各時期の太枝および中根のデンプン含量に及ぼす影響

縦棒は標準偏差 (n=3).

試料採取日は、10月下旬が10月23日、2月下旬が2月26日、3月下旬が3月31日。



写真 3-1 遮光の有無が新芽の生育に及ぼす影響（土耕ポット試験）

左：被覆，右：無被覆。



写真 3-2 春整枝区における日焼け発生部分

2月下旬整枝，3月下旬撮影。



写真 3-3 健全葉（左）と日焼け葉（右）の比較



写真 3-4 萌芽期における健全部（左）と日焼け部（右）の生育の違い

## 第4章 チャにおける炭水化物ソース能とシンク能の品種間差異

### 4.1 緒言

チャの多収性品種の育成においては、ソース能の向上、貯蔵シンク的能力向上、シンクサイズの拡大などが重要であると考えられ、これまで多収性品種のソース能やシンク能に関する生理生態的特性に関する研究が行われてきた。大石ら（1976）は、多収性品種の生育特性を解析し、収量と株張り、分枝数、主根数、古葉重、葉面積指数等との相関が高いことを明らかにした。日高・鈴木（1976）は、6年生樹の収量と4年生以降の株張り、4～5年生のせん枝重および3年生以降の葉重との相関が高いことを報告している。着葉量や樹体量などはソース能やシンクサイズとの関連が大きく、系統比較や品種選定試験における生育良否の評価基準として利用されている。品種の生育特性をソース・シンクの点から評価するためには、イネ等の他の作物でも解析されているように、収量性と光合成能や炭水化物分配との関係を解明することが重要であると考えられる。酒井（1987）は、挿し木苗床の受光態勢、幼木の個葉光合成速度および貯蔵炭水化物含量、成木園の受光態勢、個葉およびほ場光合成速度等を詳細に調査し、これらに品種間差があることを報告している。松尾（2002）は、30～40年生成木茶樹の木化根の形態的特徴を調査し、太根の本数、太さ、分枝発生程度などに品種間差異を認めている。しかしながら、これらの結果からは、個々のソースや貯蔵シンク器官の能力について品種間の違いは比較できるものの、最終的なシンク能（新芽の収量・品質）との関係は明らかになっていない。

また、第3章において、萌芽期頃の光合成産物あるいは貯蔵炭水化物である成葉の可溶性糖および枝・根の貯蔵デンプンは、一番茶新芽の生育や収量性に対する貢献度が高いことを示した。このことから、秋整枝以降に株面を形成する成葉の光合成能と炭水化物の貯蔵シンク器官の能力が一番茶の生産性を左右すると推測され、これらソース・シンク能の品種間差を解明することは、多収性品種の育成に寄与すると考えられる。

そこで本章では、秋期から一番茶期におけるソース能、貯蔵シンクにおける炭水化物含量の時期的変動、最終シンクである一番茶の生産性について品種間の比較を行うことにより、チャ品種の多収要因をソース能とシンク能の点から解析した。

### 4.2 一番茶期および秋期におけるソース能の品種間差異

作物の収量性向上のため、多収性品種のソース能を解析する研究が行われてきた。イネの多収性品種では、個葉の光合成速度を高く維持することによって乾物生産量の増加が図

られている（蔣ら 1988, 徐ら 1997, 浅沼ら 2008）。ダイズでは、受光態勢の異なる品種間で光合成速度に差異がみられたことが報告されている（佐川 1998）。カンキツ（岩崎・大垣 1983）やブドウ（高橋・倉橋 1983）においても、品種によって光合成速度が異なることが示されている。チャにおいても、ソース能の品種間差異を明らかにするため、各品種の個葉の光合成特性の研究が行われた。酒井（1987）は、幼木および成木園を対象として、それぞれ秋期または各茶期における個葉の光合成速度を経時的に測定し、最大光合成速度に有意な品種間差異があることを認めた。また、冬期の越冬葉の光合成速度の低下程度に品種間差があり、耐寒性の強弱との間に密接な関係があると考えられている（Aoki 1984, 岡野・松尾 1994）。これらの研究により、越冬葉（成葉）および各茶期の新葉の光合成速度に品種間差異があること明らかになっている。一方、第2, 3章で述べたとおり、光合成の一次産物である糖の葉中含量はソース能の評価指標の一つと考えられるが、新芽生育期における光合成産物の生成能についての品種間差異は明らかにされてはいない。また、光合成のカルビン回路において炭素固定を触媒するリブロース 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシダーゼ (Rubisco) の活性は光合成速度を規定する重要な要因である（臼田 1992）。しかしながら、チャにおいて Rubisco に関する研究事例は少なく、生化学的・分子生物学的なソース能の定量化手法はほとんど検討されていない。

そこで、本節ではチャのソース能の品種間差異を明らかにするため、早晩性や収量性の異なる5品種を選定し、一番茶生育期における光合成速度および葉中の可溶性糖含量並びに秋期における成葉の光合成速度および Rubisco 活性を調査し、それぞれの調査項目間の関係を解析した。

#### 4.2.1 材料および方法

##### (1) 供試茶園と栽培方法

供試茶園は茶業研究センター内の成木園（B6ほ場、21年生または29年生）で、表4-1に示した早晩性、樹勢および樹姿の異なる5品種を選定し、それぞれ1区9m<sup>2</sup>（3反復）を供試した。供試茶園は、2013年5月中旬（一番茶摘採後）に地上約50cmの高さで中切り更新した。その後、8月2日に中切り位置から5cm上で整枝し、10月7日に前回整枝位置から5cm上で秋整枝を行った。

##### (2) 一番茶生育期における個葉の光合成能と可溶性糖含量の日変化の測定

2013年4月29日および5月6日に、各品種の茶樹から平均的な大きさの新葉（1心5葉芽の上から3葉目）および株面最表層の成葉を各区（3反復）からそれぞれ1枚を選定

し、光合成蒸散測定装置（LI-6400XT, LI-COR 製）により光合成速度、蒸散速度および気孔コンダクタンスの日変化を測定した。測定日については、各品種の生育ステージを揃えるとともに測定当日の気象条件の影響を極力排除するため、4月29日の早生～中生品種「おおいわせ、さやまかおり、やぶきた」と5月6日の中生～晩生品種「やぶきた、かなやみどり、さわみずか」に分けて晴天日を選んで設定した。両日とも中生の「やぶきた」を比較対象とした。測定条件はチャンバー内温度 25 °C、葉面光合成有効放射量 2,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、測定時刻は 8 時、10 時、12 時、14 時、16 時、18 時の 6 回とした。測定日の気象条件は、4月29日は天候晴れ、平均気温 15.8 °C、日照時間 11.1 h、同様に5月6日は晴れ、16.9 °C、12.6 hであった。また、測定葉の葉色値を葉緑素計（SPAD-502, KONICA MINOLTA 製）により測定した。

可溶性糖分析用の試料として、各品種の一番茶生育期（「おおいわせ」は4月23日、「やぶきた、さやまかおり」は4月29日、「かなやみどり、さわみずか」は5月6日）に、任意の新葉（1心5葉芽の上から3葉目）および株面最表層の成葉を、1区につきそれぞれ10枚程度採取した。採取時刻は、8時、10時、12時、14時、16時、18時の6回とした。採取後、ただちに電子レンジで殺青し、2.3.1.1（4）項と同様の方法により乾燥および粉碎後、可溶性糖含量を定量した。

### （3） 秋期における光合成能の品種間差異

#### （a） 光合成速度の葉位による差異

個葉の光合成速度は葉位によって異なると考えられる。特に徒長芽の上位葉と下位葉では開葉後の日数に差があり成熟度が大きく異なるため光合成能にも差異が生じると推測される。そこで、秋芽の葉位による光合成速度の差異を明らかにするため、以下の調査を行った。2013年10月8日に「やぶきた」を対象として、長さ約40 cm、開葉数が11～12枚程度に生長した秋芽（8月整枝後の側芽；写真4-1）の発芽基部から上に向かって3、6、8、10葉位目の葉を各5枚採取し、光合成蒸散測定装置（LCpro+, ADC 製）により光合成速度を、葉緑素計により葉色値を測定した。光合成の測定条件はチャンバー内温度 25 °C、葉面光合成有効放射量 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  として、9時から11時の間に行った。測定時（9～11時）の気象条件は、天候晴れ、気温 22.9 °C、日照時間 1.2 h であった。

#### （b） 秋芽の葉位別光合成速度および Rubisco 活性

2013年10月3日に、各品種について、秋芽（8月整枝後の側芽）の発芽基部から上に向かって3葉位目（下位葉）と7葉位目（上位葉）の葉を3枚採取し、（a）項と同様の方



法で光合成速度および葉色値を測定した。次に、リーフパンチ（径 10 mm）により葉脈を避けて葉 1 枚につき 4 枚の葉片を打抜き、PP 製チューブに充填した後、速やかに液体窒素で凍結し、Rubisco 活性測定時まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保管した。測定時（9～11 時）の気象条件は、天候晴れ、気温  $25.5^{\circ}\text{C}$ 、日照時間 2.0 h であった。

Rubisco 活性の測定は、Lilley and Walker (1974) および Sharkey ら (1991) の方法を参考にして以下のように行った。葉片試料の入ったチューブに抽出 Buffer [100 mM HEPES/NaOH containing 25 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1mM EDTA & 12.5% (v/v) glycerol (pH7.2)] 990  $\mu\text{L}$ , 1M DTT 10  $\mu\text{L}$  および PVP40-50G 0.03 g を加え、タングステンビーズを投入し粉砕機 (Shake Master NEO, BMS 製) を用いて 1,500 rpm, 90 秒で磨砕した。次にビーズを取り出し冷却遠心機 (3500, KUBOTA 製) により 15,000 rpm,  $4^{\circ}\text{C}$ , 90 秒で遠心分離した後、上清をマイクロチューブに移し、1.6M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  150  $\mu\text{L}$  を加え 30 分間氷上で静置した。さらに、脱塩用カラム (Zeba Desalt Spin Columns 89890, Thermo Scientific 製) により脱塩し、得られた試料溶液 285  $\mu\text{L}$  を 200 mM  $\text{NaHCO}_3$  (10mM) 15  $\mu\text{L}$  の入ったマイクロチューブに移し Rubisco 活性測定に用いた。Rubisco 活性は NADH の酸化による 340 nm における吸光度の減少速度を測定することによって求めた。セルに Reaction Mixture [150 mM Bicine/NaOH (pH8.0,  $25^{\circ}\text{C}$ ) 600  $\mu\text{L}$ , 300 mM  $\text{MgCl}_2$  50  $\mu\text{L}$ , 200mM  $\text{NaHCO}_3$  50  $\mu\text{L}$ , 100 mM phosphocreatine (PC) 50  $\mu\text{L}$ , 100 mM ATP 50  $\mu\text{L}$ , 20mM NADH 10  $\mu\text{L}$ , 1M DTT 5  $\mu\text{L}$ , 蒸留水 45  $\mu\text{L}$ ] 860  $\mu\text{L}$  および酵素溶液 [PGA kinase 10 units  $\text{mL}^{-1}$ , G3P-DH 20 units  $\text{mL}^{-1}$ , CP kinase 1 units  $\text{mL}^{-1}$ ] 100  $\mu\text{L}$  を加え、十分に攪拌した後、 $25^{\circ}\text{C}$  でインキュベーションした。次に、2 本のセルに超純水と試料溶液をそれぞれ 20  $\mu\text{L}$  加え、ブランクとして 340 nm における吸光度を測定した。その後、別の 2 本のセルに試料溶液 20  $\mu\text{L}$  を加え、そのうち 1 本に 25 mM RuBP 20  $\mu\text{L}$  を加えて攪拌し、直ちに 340 nm における吸光度を 2 分間測定し、初期 (Initial) Rubisco 活性とした。さらに残りの 1 本は、試料溶液を加えた 15 分間後に同量の 25 mM RuBP を加え同様に吸光度を測定し、全 (Total) Rubisco 活性とした。また、脱塩後の試料溶液を用いて、Bradford 法 (1976) によりタンパク質を定量した。0.15 M NaCl で 200 倍に希釈した試料溶液 800  $\mu\text{L}$  に Bradford 試薬 200  $\mu\text{L}$  を加え 30 分間静置した後、595 nm の吸光度を測定した。検量線には標準タンパク質としてウシ血清アルブミン (BSA) を用いた。Rubisco 活性は、葉面積 ( $\text{m}^2$ ) 当たりとタンパク質量 (g) 当たりで算出した。さらに、初期 Rubisco 活性と全 Rubisco 活性の比である Rubisco 活性化率をタンパク質量 (g) 当たりで算出した。

### (c) 秋整枝後の株面成葉の光合成能

(a)項の調査において、葉の硬化（成熟）に伴い光合成速度が高くなることを明らかにした。そこで以下のように、硬化の進んだ成葉を対象として、各品種の光—光合成曲線を作成した。11月2日に、秋整枝（10月7日）後の株面から比較的硬化が進んだ大きめの成葉（秋整枝の切断面から1節目）を各品種3枚ずつ採取し、葉面光合成有効放射量を0, 100, 400, 700, 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、チャンバー内温度20℃として光合成速度を測定した。測定時（9～11時）の気象条件は、天候曇り、気温15.4℃、日照時間0hであった。また、11月6日に各品種について任意の株面成葉30枚の葉色（SPAD）値を測定した。

#### 4.2.2 結果および考察

##### (1) 一番茶生育期における個葉の光合成能と可溶性糖含量の品種間差異

各品種の新葉および成葉の光合成速度の日変化を図4-1に示した。新葉の光合成速度は、各品種とも6時から8時にかけて大きく上昇し、概ね14時頃までに日最大値を示した後、16時以降は顕著に低下した。これに対して成葉の光合成速度は、6時から上昇し、8時にピークとなり、10時から14時以降は徐々に下降し、新葉とは異なる日変化を示した。品種間を比較すると、「さわみずか」の新葉の光合成速度は他の品種より低く推移した。また「さわみずか」の新葉の葉色値は、成葉との差が他の品種と比較して大きかった（表4-2）。葉色値はクロロフィル含量との相関が高いことから、「さわみずか」の上位葉は、クロロフィル含量が低く成熟が進んでいない段階であったため光合成速度が低かったと考えられた。一方、成葉および「さわみずか」以外の品種の新葉の光合成速度は8時から20時の間で「やぶきた」との違いは認められず、有意な品種間差異はみられなかった。

各品種の蒸散速度および気孔コンダクタンスの日変化を図4-2、図4-3にそれぞれ示した。新葉の蒸散速度および気孔コンダクタンスは、概ね12時から14時の間に日最大値を示した後、16時以降は低下した。成葉の蒸散速度および気孔コンダクタンスは、6時から上昇し、概ね8時にピークとなり、10時から12時にかけて顕著に低下した後、さらに16時以降にかけて徐々に低下し、光合成速度の日変化と類似した傾向を示した。品種間を比較すると、光合成速度と同様に、「さわみずか」の新葉の14時までの蒸散速度および気孔コンダクタンスは他の品種より低く推移した。

新葉の可溶性糖含量（図4-4）は、いずれの品種とも8時から夕刻まで徐々に上昇する傾向がみられ、概ね30～50  $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ の範囲で推移した。品種間で比較すると、「かなやみどり」では、12時以降は他の品種と比較して有意に高く推移し、「さやまかおり」では

18時の値が有意に低かった。成葉の可溶性糖含量も、新葉と同様に8時以降徐々に上昇したが、16時以降は概ね減少に転じた。品種間で比較すると、「やぶきた、おおいわせ」でやや高く、「さやまかおり」でやや低く推移する傾向がみられたが、新葉に比べて品種間の差は小さかった。シンク能がソース能を上回り光合成産物の転流が盛んに行われる場合は、葉で生産された糖濃度が低く保たれることや（藤田 2008）、昼間集積した糖は夜間にも他器官へ移行すること（米山・林 1991）が示されている。つまり、葉中の糖は他器官への転流との関係に基づいてその含量が変動する。多収とされる「さやまかおり」では、生長シンクへの糖の転流量が大きいいため一部の時刻帯で葉中の糖含量が他品種より少なくなったとも考えられるが、チャにおける転流速度とシンク（新芽）との生長量の関係は未解明であり、今後さらに詳細な調査が必要である。

また、光合成速度と可溶性糖含量のそれぞれの日変化の傾向を比較すると、日最大値となる時刻帯や14時以降の低下程度が異なり、光合成速度の日変化は蒸散速度や気孔コンダクタンスと類似の傾向を示した。チャの光合成速度と葉中の炭水化物含量の日変化が一致しない現象は原田ら（1957, 1958, 1960）の調査でもみられている。原田ら（1960）は、光合成速度が日の出後急上昇し8~9時頃に最大値に達した後、昼間やや低下して推移する現象を日中低減と呼び、この日中低減と気孔開度の変化の間には密接な関係があるとしている。晴天日では盛んな蒸散により葉の水ポテンシャルが低下し、日中の光合成速度が減少する（石原 1992）。一方、前述のとおり、葉中の糖の蓄積量は転流速度の影響を受ける。これらのことから、光合成速度と可溶性糖含量の値が同調しなかったと推察された。

以上のように、各品種の一番茶生育期の光合成速度および可溶性糖含量とこれまで示された収量性（表 4-1）とは一致せず、個葉の光合成能の品種間差は判然としなかった。

## (2) 秋期における光合成能の品種間差異

### (a) 個葉光合成速度の葉位による差異

「やぶきた」秋芽の各葉位から採取した葉（n=20）の光合成速度と葉色値との関係を図 4-5 に示した。光合成速度は概ね  $6\sim 15 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、葉色値は概ね 45~75 の範囲に分布した。光合成速度と葉色値の間には有意な正の相関がみられ、葉色値の増加に伴って光合成速度は高くなった。また、光合成速度および葉色の測定値を分散分析した結果、いずれも葉位間で有意な差が認められ、下位葉ほど光合成速度と葉色値が高くなった。ただし、下から3葉位と6葉位の間には有意な差はなかったことから、葉の成熟が一定以上進めば、葉位にかかわらず光合成速度に違いがなくなることが示唆された。

#### (b) 秋芽の光合成速度および Rubisco 活性

各品種の秋芽葉の光合成速度、葉色値および Rubisco 活性を表 4-3 (上位葉) および表 4-4 (下位葉) に示した。上位葉の光合成速度には品種間差がみられ、「やぶきた」で  $14 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  と高く、「さわみずか」で  $8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  と低かった。「さわみずか」の上位葉の葉色値 (47.9) は他の品種と比較して低い傾向がみられたことから、(1) 項と同様に、「さわみずか」の上位葉における低い光合成速度は成熟度が進んでいなかったことに起因すると考えられた。一方、下位葉の光合成速度は  $12\sim 14 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、葉色値は 60~70 程度であり、品種間で差はみられなかった。秋芽の上位葉および下位葉を対象として、葉面積当たりの Total 活性、タンパク質量当たりの Total 活性および活性化率の 3 者について比較したところ、有意な品種間差はみられなかった。また、これらの値の大小には 3 者間で一定の傾向がみられず、光合成速度とも一致しなかった。イネの品種間には Rubisco の酵素的性質に差がないことが示されており (Makino ら 1987)、チャにおいても Rubisco 活性に顕著な品種間差異がないことも考えられるが、本試験では、個葉間での測定値の変動が大きく、品種間での Rubisco 活性の違いは判然としなかった。

#### (c) 秋整枝後の株面成葉の光合成能

各品種の秋整枝後の株面成葉の光-光合成曲線を図 4-6 に示した。各品種の光合成速度は、光強度の増加に伴い高くなった。光強度  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  下では  $13\sim 15 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  であり、光飽和下の光合成速度には品種間で大きな違いはみられなかった。

次に、各品種の秋整枝後の株面成葉の葉色値の度数分布を図 4-7 示した。各品種の葉色値の度数分布を比較すると、「さやまかおり、かなやみどり」では分布の広がりが狭い、すなわち葉色値の変動が小さく、成熟度の均一な葉が株面を構成していることが示された。これに対し「おおいわせ、さわみずか」では分布の広がりが大きく、株面を構成する葉の成熟度が不均一な状態であることが示された。「やぶきた」の葉色値は両者の中間的な分布を示した。

以上 (a) (b) (c) の結果から、秋期における個葉の最大光合成速度および Rubisco 活性には品種間で違いはみられなかったものの、葉色値の分布から判断するとソース葉の均一性には品種間差異があることが示唆された。

### 4.3 貯蔵シンク能およびシンク能 (一番茶の生産性) の品種間差異

第 3 章において、一番茶の生産性に対しては萌芽期頃の樹体内炭水化物含量の影響が大

きく、貯蔵シンク能の重要性が高いことが示された。酒井（1987）は、幼木茶樹を用いて樹体内炭水化物の品種間差異を調査した結果、樹勢の強い「ゆたかみどり」や「やぶきた」では、生育の劣る「はつもみじ」と比較して、萌芽期における太根の TAC 含量が高い傾向にあったことを報告している。しかし、「やぶきた」の TAC 含量は、「やぶきた」よりも樹勢が強いとされる「ゆたかみどり」よりも高かったことから、樹勢や生育の良否と TAC 含量とが単純な比例関係にはないことも指摘されている。一方、成木園における樹体内炭水化物含量の品種間差異を調査した研究例はなく、「やぶきた」以外の品種における貯蔵シンク能と一番茶の生産性との関係については全く明らかにされてはいない。

チャにおける最終的シンクは新芽である。イネでは穂数や 1 穂粒数などのシンクサイズの拡大により多収性品種の育成が図られたのに対し、チャでは収量構成要素である新芽重と新芽数を増大することがシンクサイズの拡大となる。しかし、新芽重と新芽数との間には一方を増やせば他方が減るといった相反する関係があり、両者を並行して増大させることには限界がある（山下 2008b）ことから、シンク能の向上は収量構成の改善以外の方法を考える必要がある。一方、チャの育種過程におけるそれぞれの品種の特性評価は、単位面積当たり収量と官能検査による製茶品質評価により行われている。チャは品種によって摘採時期が大きく異なるとともに、新芽の成熟度の進展に伴い品質指標であるアミノ酸や全窒素含量は減少する。したがって、品種特性をより正確に比較するには、成熟度を同一のレベルに揃えた上で収量性を評価する必要がある。

そこで本節では、4.2 項と同様の 5 品種（表 4-1）について、各時期における枝、根の炭水化物含量を比較するとともに、3.2.1 項と同様の手法で評価した一番茶の生産性（採摘み摘芽重と全窒素含有率との関係）を解析することにより、貯蔵シンク能およびシンク能の品種間差異を明らかにした。

#### 4.3.1 材料および方法

##### (1) 貯蔵シンクにおける時期別デンプン含量

4.2 項と同じ供試茶園 5 品種について、炭水化物分析用の試料として、各区から任意の 1 株を選び、成葉、太枝（径 10 mm 前後）および中根（径 5 mm 前後）を採取した。採取時期は、2013 年 3 月下旬～4 月上旬（以下、一番茶萌芽期と表記）、5 月 14 日（同、一番茶摘採後）、7 月 18 日（同、再生芽硬化期）、10 月 9 日（同、秋整枝後）の 4 回とした。一番茶萌芽期の試料採取日は、「おおいわせ」3 月 26 日、「さやまかおり、やぶきた」4 月 4 日、「かなやみどり」4 月 9 日、「さわみずか」4 月 11 日とした。試料採取後 2.3.1.1 (4) 項と

同様の方法により乾燥および粉碎後、成葉の可溶性糖並びに太枝および中根のデンプン含量を分析した。可溶性糖の抽出・定量は 2.3.1.1 (4) 項、デンプンの抽出・定量は 2.2.1 (2) 項のヨウ素法と同様の方法で行った。

## (2) 一番茶の生産性

4.2 項と同じ茶園（表 4-1 の 5 品種）において、2013 年一番茶の収量および品質の経時変化を採摘みにより調査した。各品種の一番茶新芽の概ね 3 葉期から 2~3 日おきに採摘み（20×20 cm, 1 区 2 採）を行った。「おおいわせ」は 4 月 16 日~5 月 2 日、「さやまかおり、やぶきた」は 4 月 23 日~5 月 4 日、「かなやみどり」は 4 月 26 日~5 月 8 日、「さわみずか」は 4 月 29 日~5 月 10 日の間に計 5~6 回の採摘みを行なった。採摘み後、速やかに摘芽重（新鮮重）を計測し、3.2.1 (3) 項と同様の方法で蒸熱、乾燥、粉碎後、全窒素含有率を測定した。また、一番茶新芽の全窒素含有率の品種間差異の要因を解析するため、4.3.1 (1) 項の一番茶萌芽期に採取した成葉、太枝および中根試料についても、新芽と同様の方法で全窒素含有率を測定した。

## 4.3.2 結果および考察

### (1) 貯蔵シンクにおける時期別デンプン含量の品種間差異

各品種における太枝および中根の時期別デンプン含量を図 4-8 に示した。各品種の太枝のデンプン含量は、一番茶萌芽期から一番茶摘採後にかけては 70~100 mg g<sup>-1</sup> DW 程度であり、再生芽硬化期には概ね 40~50 mg g<sup>-1</sup> DW 程度に、秋整枝後には 10~30 mg g<sup>-1</sup> DW 程度にまで減少し、成木園におけるデンプン含量の時期的変動を調査した 3.2.3.2 (2) 項の結果と一致した。品種間の違いについてみると、各時期を通して一定の傾向はみられなかったものの、秋整枝後において「おおいわせ」が「さわみずか」より有意に高い値を示した。各品種の秋整枝量を計測した結果、「おおいわせ、さやまかおり、やぶきた」では 400 kg 10a<sup>-1</sup> 前後であったのに対し、「かなやみどり」は約 500 kg 10a<sup>-1</sup>、「さわみずか」は約 700 kg 10a<sup>-1</sup> であった。つまり、「さわみずか」は秋芽の生育量が多かった分、樹体内炭水化物の消費量も多くなり太枝のデンプン含量が減少したとも考えられたが、以下に述べる中根のデンプン含量については太枝と傾向が異なっていることから、この原因については判然としなかった。

中根のデンプン含量は、一番茶萌芽期には 200~300 mg g<sup>-1</sup> DW 程度であったが、再生芽硬化期には概ね 50~170 mg g<sup>-1</sup> DW 程度に、秋整枝後には 20~50 mg g<sup>-1</sup> DW 程度にまで減少した。品種間の違いを見ると、一番茶摘採後には「さやまかおり、さわみずか」では一

番茶萌芽期と同程度であったが、「おおいわせ、かなやみどり」では一番茶萌芽期の半分程度まで大きく減少した。一番茶摘採後における「さわみずか」の中根のデンプン含量は、「おおいわせ」に対し有意に高かった。4回の採取時期を通じて「さやまかおり、さわみずか」でデンプン含量が多く、「おおいわせ、かなやみどり」で少ない傾向がみられた。

以上のことから、太枝のデンプン含量は各時期を通して一定の傾向がみられなかったものの、中根のデンプン含量は5品種のうちでは多収型とされる「さやまかおり」および「さわみずか」で多くなる傾向がみられた。

## (2) 一番茶の生産性の品種間差異

摘採時期の異なる品種において、品質特性を加味した収量性を比較するため、3.2.1項と同様に摘採期前後の摘芽重と全窒素含有率を経時的に調査し、両者の関係を表す1次回帰式を作成した。

各品種における一番茶の枠摘み摘芽重の経時変化を図4-9に示した。枠摘み摘芽重の増加直線の傾きには品種間で差がみられ、「さやまかおり」では0.7を超えたのに対し、それ以外の品種では0.4~0.5程度であった。回帰直線の平行性検定を行なった結果、「さやまかおり」はそれ以外の4品種よりも直線の傾きが有意に大きく(holm 5%)、「さやまかおり」の摘芽重の増加速度は他の品種よりも速いことが明らかになった。

各品種における枠摘み摘芽重と全窒素含有率の関係を図4-10に示した。各品種とも摘芽重と全窒素含有率の間には強い負の相関がみられ、摘芽重の増加に伴い全窒素含有率が低下した。枠摘み摘芽重を説明変数、全窒素含有率を目的変数として回帰直線を作成し、平行性検定を行った。その結果、「さやまかおり」はそれ以外の4品種よりも直線の傾きが有意に小さく(holm 10%)、「さやまかおり」の枠摘み重の増加に伴う全窒素含有率の低下が緩やかであった。言い換えると全窒素含有率が同じ時点での収量が多いことが明らかになった。本節と同様の方法で調査を行った3.2.1項では、「やぶきた」無処理区の摘採適期における枠摘み摘芽重を5.9g DWと推定した。これを図4-9の「やぶきた」の回帰直線に当てはめると、摘芽重5.9g DWとなる時点の全窒素含有率は5.4%となり、3.2.1項(5.5%)とほぼ同等である。そこで、各品種の回帰式から摘芽重5.9g DW時点の全窒素含有率を比較すると、おおいわせ(5.7%) > さやまかおり(5.4%) = やぶきた(5.4%) > さわみずか(5.3%) > かなやみどり(4.7%)の順で高かった。池田ら(2006)は4年間にわたりチャ36品種の一番茶新芽(1心3葉)の全窒素含有率を測定した結果、有意な品種間差異を認めており、「おおいわせ、さやまかおり、やぶきた、かなやみどり」の4年間の平均値は、

それぞれ 5.7%, 5.9%, 5.9%, 5.3%であった。本節で得られたデータと池田らの結果とは、摘芽の採取方法、生育ステージ、反復の取り方等の点が異なるため一概に比較できないが、「かなやみどり」の全窒素含有率が他の品種と比較して低いという傾向は一致しており、同一収量における全窒素含有率に品種間で差があることが示唆された。

一番茶新芽の全窒素含有率が品種間で異なった要因を窒素吸収能の点から解析するため、萌芽期における樹体各部位の全窒素含有率を測定した。その結果、成葉では「さわみずか」の全窒素含有率が他の品種と比較して高いことが認められたが、それ以外の品種間では差がみられず、太枝および中根の全窒素含有率にも有意な品種間差異は認められなかった(図 4-11)。これらのことから、各品種の新芽の全窒素含有率およびその低下速度の違いは、窒素吸収・同化能の差によるものかどうかは判然としなかった。

#### 4.4 総合考察

チャの多収性品種の育成においては、炭水化物のソース能の向上、貯蔵シンクの能力向上、シンクサイズの拡大などが重要であると考えられ、これまで個々のソース能やシンク能に関して各品種の生理生態的特性が調査されてきた。しかしながら、ソースーシンク間の炭水化物の分配やソース・シンク能と新芽の生産性について成木園レベルで品種間差を調査した例はみあたらない。そこで本節では、早晚性、樹勢、樹姿、収量性の異なる 5 品種「おおいわせ、さやまかおり、やぶきた、かなやみどり、さわみずか」を対象として、一番茶生育期におけるソース能、貯蔵シンクにおける炭水化物含量の時期的変動、最終シンクである新芽の生産性について品種間差を解析することにより、チャ品種の多収要因をソース能とシンク能の点から解明した。

最初に、一番茶期および秋期における光合成速度および可溶性糖含量の品種間差異を解析した。一番茶生育期における新葉の光合成速度は、各品種とも 8 時から 14 時頃まで高い値を示した後、16 時以降は顕著に低下した。これに対し成葉の光合成速度は、8 時にかけて大きく上昇した後、10 時以降はやや低下して推移、その後夕刻にかけて徐々に下降した。品種間を比較すると、「さわみずか」の新葉の光合成速度は低く推移し、この理由として成熟度が進んでいなかったことが考えられた。成葉の光合成速度については、品種間で顕著な差異はみられなかった。新葉の可溶性糖含量は、8 時から夕刻まで徐々に上昇する傾向がみられ、「かなやみどり」では 12 時以降は他の品種と比較して有意に高く、「さやまかおり」では 18 時に顕著に減少した。成葉の可溶性糖含量も、新葉と同様に 8 時以



降徐々に上昇したが 16 時以降は概ね減少に転じ、「やぶきた、おおいわせ」でやや高く、「さやまかおり」でやや低く推移する傾向がみられたが、新葉に比べて品種間の差は小さかった。葉中の糖は他器官への転流との関係に基づいてその含量が変動することから、多収とされる「さやまかおり」では、生長シンクへの糖の転流量が大きいため一部時刻帯で葉中の糖含量が少なくなったとも考えられるが、転流速度とシンクの生長量の関係については、今後さらに詳細な調査が必要である。また、一日を通じた光合成速度と可溶性糖含量との間で、減少に転ずる時刻帯と変化量が異なり、両者は一致しなかった。光合成速度が日中やや低下する現象は気孔開度との関係が深く、葉中の糖の蓄積量は転流速度の影響を大きく受けることから、光合成速度と可溶性糖含量の値が同調しなかったと推察された。

秋芽葉の光合成能の葉位による違いを調査した結果、光合成速度は下葉位ほど高く、葉色値と概ね一致した。品種間を比較すると、秋芽生育期における上位葉の光合成速度は晩生の「さわみずか」で低く、一番茶生育期における新葉の光合成速度の傾向と一致した。このことから、葉色値が低く成熟が進んでいない葉では、光合成速度が低くなることが示された。ただし、葉色の濃淡には品種間差があることから、成熟度の指標として葉色値を利用する場合には十分留意する必要がある。一方、秋芽生育期の下位葉と秋整枝後の株面成葉の光合成速度および Rubisco 活性には品種間差異がみられなかった。以上のように、一番茶生育期における成葉の光合成速度および可溶性糖含量に加えて、秋期における成葉の光合成速度および Rubisco 活性についても、品種間差異がみられず、今回供試した 5 品種間では個葉レベルでの光合成能の差異は判然としなかった。

作物の個体群光合成速度は、個葉の光合成特性に加え、葉面積指数、葉の空間的配列・傾斜角度などの要因にも支配される（黒田 1994）。緒言で述べたとおり、チャにおいても品種によって生育特性が大きく異なり、樹姿、葉の大きさ・色、着葉密度、分枝数等に違いがある。田中（2011）は、70 品種・系統の 15 年生以上の成木茶樹について葉身傾斜角度を調査し明確な品種・系統間差があること、葉身傾斜角度の大きさと年間収量との間に有意な相関（ $r=0.85$ ）があることを報告している。本試験においても株面を構成する成葉の均一性には品種間で違いがみられた。これらのことから、個葉だけではなく、個葉の集合体である葉層全体を個体群として光合成能を評価した場合には、品種間差異や収量性との相関がより明確に表れる可能性がある。一方、第 2, 3 章で示したとおり、光環境の変化や乾燥等のストレスは光合成速度の変動要因となり一番茶母葉のソース能に影響を及

ぼすと推測されるが、品種によってストレス（例えば、乾燥、低温）耐性が異なることも考えられる。したがって、チャのソース能の品種間差異をさらに詳細に解明するためには、葉層レベルでのソース能の評価や、環境変化やストレスに伴う光合成能の変化量の比較など多面的な解析も必要であろう。

次に、萌芽期から秋期における太枝および中根の炭水化物含量と一番茶の生産性との関係を解析することにより、貯蔵シンク能およびシンク能の品種間差異を明らかにした。各品種の太枝のデンプン含量は、一番茶萌芽期から秋整枝後には減少し、成木園におけるデンプン含量の時期的変動を調査した 3.2.3.2 (2) 項の結果と一致した。しかし、品種間の違いについては、各時期を通して一定の傾向はみられなかった。一方、中根のデンプン含量は、一番茶萌芽期には  $200\sim 300\text{ mg g}^{-1}\text{ DW}$  程度の高い値を示し、一番茶摘採後には「さやまかおり、さわみずか」では萌芽期と同程度であったのに対し、「おおいわせ、かなやみどり」では萌芽期の半分程度まで大きく減少した。その後、再生芽生育期および秋整枝後の時期においても「さやまかおり、さわみずか」でデンプン含量が多く、「おおいわせ、かなやみどり」で少なくなる傾向がみられた。以上のように、各時期を通して太枝のデンプン含量には一定の傾向がみられなかったものの、中根のデンプン含量は 5 品種のうちでは多収型とされる「さやまかおり」と「さわみずか」で多くなる傾向がみられた。

チャの収量構成要素である新芽重、新芽数はシンクサイズを決定する要因であるが、両者を並行して増大させることは困難であり、芽重型あるいは芽数型といった区分でシンク能を評価することは適当ではないと考えられる。そこで、採摘調査による単位面積当たりの収量と全窒素含量の関係を解析することにより、各品種のシンク能を評価した。各品種における採摘摘芽重の増加直線を比較すると、「さやまかおり」ではそれ以外の 4 品種よりも有意に傾きが大きかった。このことから、「さやまかおり」の摘芽重の増加速度は他の品種よりも速いことが明らかになった。各品種の摘芽重と全窒素含有率の間には強い負の相関がみられ、摘芽重の増加に伴い全窒素含有率が低下した。採摘摘芽重を説明変数、全窒素含有率を目的変数とした回帰直線を作成したところ、「さやまかおり」ではそれ以外の 4 品種よりも有意に傾きが小さく、「さやまかおり」の摘芽重の増加に伴う全窒素含有率の低下速度は他の品種よりも遅いことが明らかになった。また、「かなやみどり」の全窒素含有率が他の品種と比較して低くなる傾向がみられ、同一収量における全窒素含有率に品種間差があることが示された。

以上のことから、チャの炭水化物のソース能については、供試した 5 品種間において個

葉の光合成能の差異は判然としなかったものの、ソース葉の均一性には違いがみられた。したがって、ソース能の品種間差を解明するためには、個葉ではなく葉層レベルでの評価など異なる視点での解析を行う必要があると考えられる。一方、多収とされる品種において中根のデンプン含量が高く、一番茶の生産性も優れる傾向がみられ、貯蔵シンク能およびシンク能に品種間差異があることが明らかになり、これらのシンク能が多収性の判定指標として利用できることが示された。今後は育種現場においてシンク能をより効率的、効果的に評価する方法を検討する必要がある。

## 4.5 要約

### 4.5.1 一番茶期および秋期におけるソース能の品種間差異

樹姿、早晚性、収量性の異なる5品種を対象として、一番茶生育期における個葉光合成速度および可溶性糖含量の日変化を測定した。その結果、光合成速度の日変化は新葉と成葉とで傾向が異なり、成葉では12時以降の低下が顕著であった。品種間では、新葉の成熟度が低かった「さわみずか」の新葉の光合成速度が低かった以外には、顕著な差異はみられなかった。新葉および成葉の可溶性糖含量は夕刻までは徐々に上昇する傾向がみられ、品種間を比較すると、「かなやみどり」の新葉の可溶性糖含量がやや高く推移した以外は、顕著な差異はみられなかった。

上述の5品種について秋期の個葉光合成速度、Rubisco活性および葉色値を測定し、翌年一番茶のソース葉の品種間差を解析した。秋芽葉の光合成速度は下葉位ほど高く、成熟度を示す葉色値と概ね一致した。品種間を比較すると、秋芽生育期における上位葉の光合成速度は、「さわみずか」で低く、葉色値と一致した。これに対して、秋芽生育期の下位葉と秋整枝後の株面成葉の光合成速度およびRubisco活性には明確な品種間差異がみられなかった。

### 4.5.2 貯蔵シンク能およびシンク能（一番茶の生産性）の品種間差異

萌芽期から秋期における太枝および中根の炭水化物含量を経時的に調査し、貯蔵シンク能の品種間差異を解析した。各採取時期の太枝のデンプン含量には品種間で大きな違いはみられなかったものの、中根のデンプン含量については、供試5品種のうち多収型とされる「さやまかおり」と「さわみずか」で多かった。

一番茶の生産性の品種間差異を明らかにするため、最終シンクである新芽の悴摘み調査を経時的に行い、摘芽重と全窒素含有率を品種間で比較した。その結果、「さやまかおり」

の摘芽重の増加速度は他の品種よりも速く，摘芽重の増加に伴う全窒素含有率の低下速度は他の品種よりも遅かった．また，「かなやみどり」の全窒素含有率が他の品種と比較して低くなる傾向がみられた．

表 4-1 供試品種の特性

品種名(定植年)	早晚性	樹勢	樹姿	収量性
おおいわせ (1985)	早生	中	開張型	中
さやまかおり (1985)	やや早生	強	中間型	多
やぶきた (1985)	中生	やや強	やや直立型	やや多
かなやみどり (1985)	中晩生	中	開張型	中
さわみずか (1993)	晩生	強	開張型	多

表 4-2 4.2.1 (2) 項の試験に供試した測定葉の葉色値

品種	測定日	葉色値		
		新葉 (A)	成葉 (B)	B-A
おおいわせ	4月29日	34.1 ± 1.9	72.3 ± 1.1	38.2
さやまかおり	4月29日	40.7 ± 0.6	78.2 ± 1.2	37.5
やぶきた	4月29日	42.3 ± 1.7	73.7 ± 3.6	31.4
	5月6日	45.4 ± 2.5	71.2 ± 3.9	25.8
かなやみどり	5月6日	43.4 ± 7.1	76.8 ± 8.2	33.4
さわみずか	5月6日	32.0 ± 3.3	78.9 ± 5.8	46.9

表中の値は平均値±標準偏差 (n=3).

葉色値は図 4-1 の測定葉と同一の葉について測定した.

表 4-3 各品種の秋芽上位葉の光合成速度, 葉色値および Rubisco 活性

品種	光合成速度 ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	葉色値 (SPAD値)	Rubisco活性		
			Total 活性		活性化率 (%)
			葉面積当たり ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	タンパク質量当たり ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ protein s}^{-1}$ )	
おおいわせ	10.8 ± 2.5 <sup>ab</sup>	51.0 ± 9.1 <sup>b</sup>	179.2 ± 52.5	10.2 ± 2.3	100.2 ± 5.8
さやまかおり	12.7 ± 1.8 <sup>a</sup>	66.1 ± 3.3 <sup>a</sup>	218.0 ± 33.8	9.0 ± 1.0	97.3 ± 32.1
やぶきた	14.1 ± 1.0 <sup>a</sup>	57.5 ± 3.7 <sup>ab</sup>	198.3 ± 65.8	8.1 ± 2.3	98.2 ± 21.4
かなやみどり	12.5 ± 0.6 <sup>ab</sup>	60.7 ± 3.0 <sup>ab</sup>	207.9 ± 51.8	10.4 ± 0.7	91.7 ± 10.5
さわみずか	8.0 ± 1.9 <sup>b</sup>	47.9 ± 3.0 <sup>b</sup>	100.0 ± 36.3	6.9 ± 1.8	101.9 ± 19.0
分散分析の有意性	*	*	n.s.	n.s.	n.s.

表中の値は平均値±標準偏差 (n=3). 光合成速度, 葉色値および Rubisco 活性の測定には同一の葉 (10月3日測定および採取, 下から7葉位目) を用いた.

\*は, 5%水準で有意, 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

活性化率は, タンパク質量当たりの初期 (Initial) 活性と全 (Total) 活性の比を算出したもの.

表 4-4 各品種の秋芽下位葉の光合成速度，葉色値および Rubisco 活性

品種	光合成速度 ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	葉色値 (SPAD値)	Rubisco活性		
			Total 活性		活性化率 (%)
			葉面積当たり ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	タンパク質量当たり ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ protein s}^{-1}$ )	
おおいわせ	14.3 ± 1.2	63.5 ± 9.1	204.0 ± 4.5	10.6 ± 1.2	106.0 ± 3.2
さやまかおり	12.6 ± 2.1	69.7 ± 2.9	154.9 ± 43.4	9.8 ± 2.5	86.0 ± 9.4
やぶきた	14.3 ± 1.6	61.8 ± 6.2	159.4 ± 75.7	6.6 ± 1.7	113.1 ± 22.1
かなやみどり	13.6 ± 2.3	68.5 ± 2.5	230.7 ± 48.7	10.5 ± 4.5	104.9 ± 12.9
さわみずか	12.6 ± 3.5	58.8 ± 3.2	148.8 ± 25.0	10.6 ± 2.8	99.3 ± 11.3
分散分析の有意性	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

表中の値は平均値±標準偏差 (n=3)。光合成速度，葉色値および Rubisco 活性の測定には同一の葉 (10月3日測定および採取，下から7葉位目) を用いた。

活性化率は，タンパク質量当たりの初期 (Initial) 活性と全 (Total) 活性の比を算出したもの。

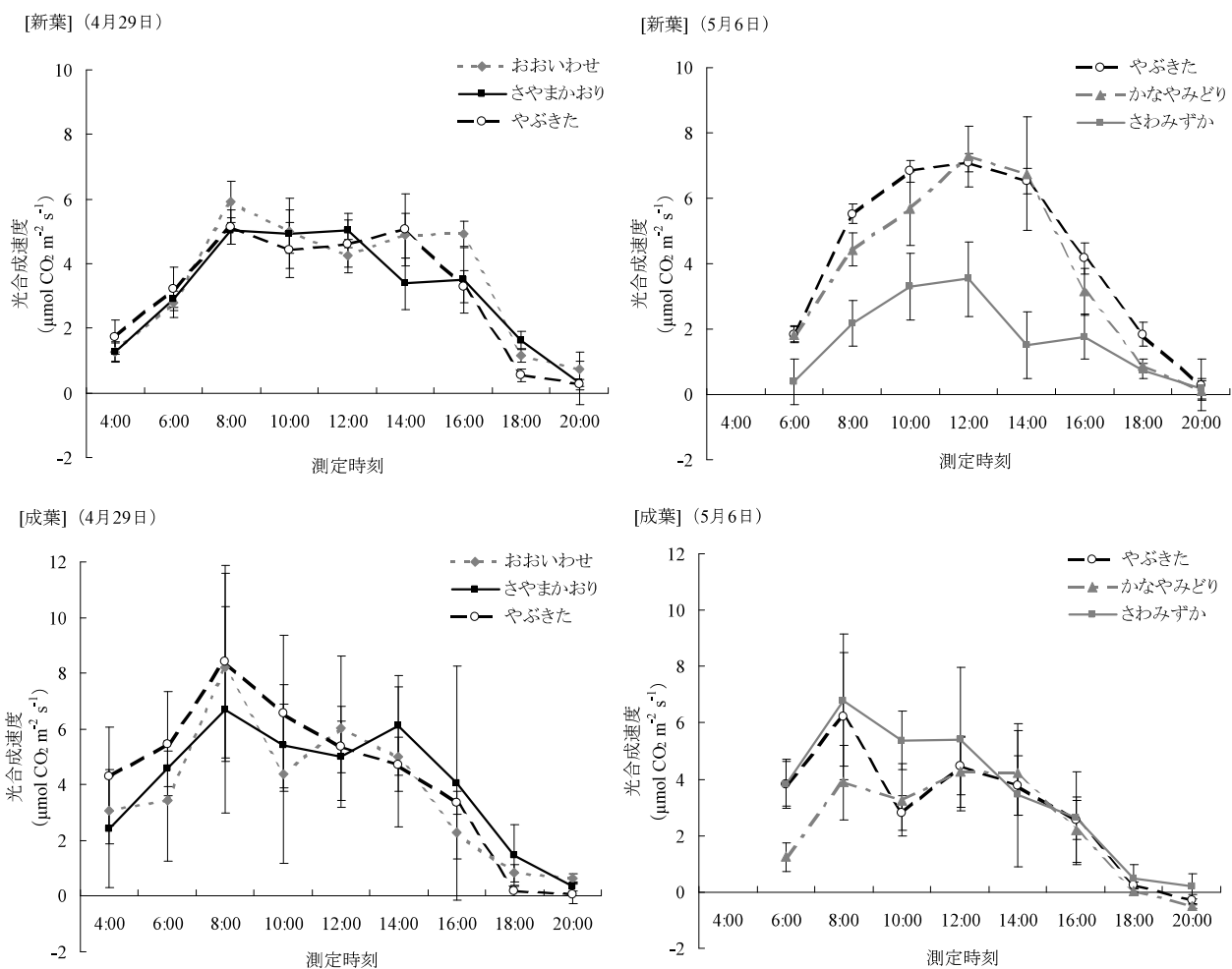


図 4-1 各品種の一番茶新葉および成葉の光合成速度の日変化  
縦棒は標準偏差 (n=3). 日付は測定日.

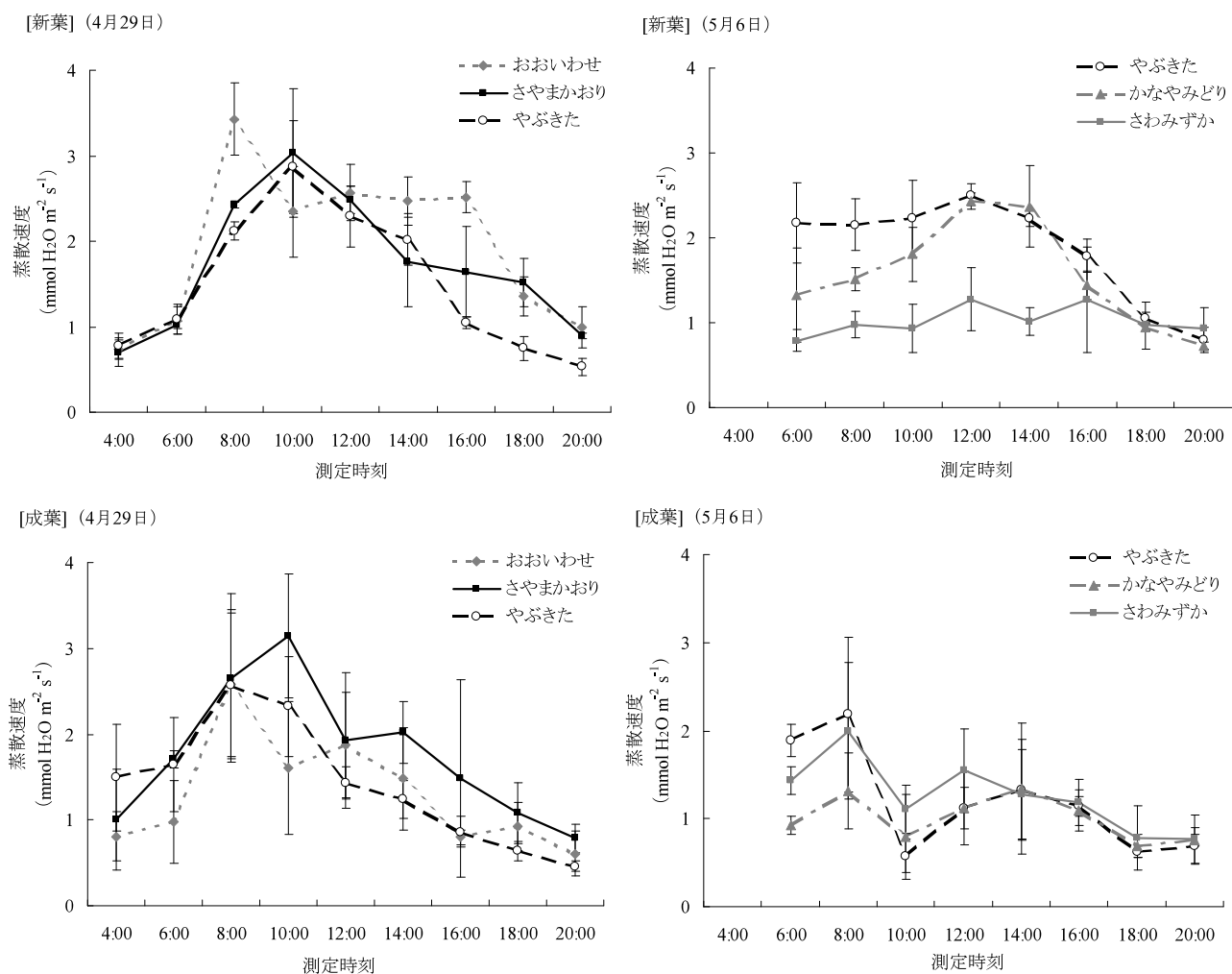


図 4-2 各品種の一番茶新葉および成葉の蒸散速度の日変化  
縦棒は標準偏差 (n=3). 日付は測定日.



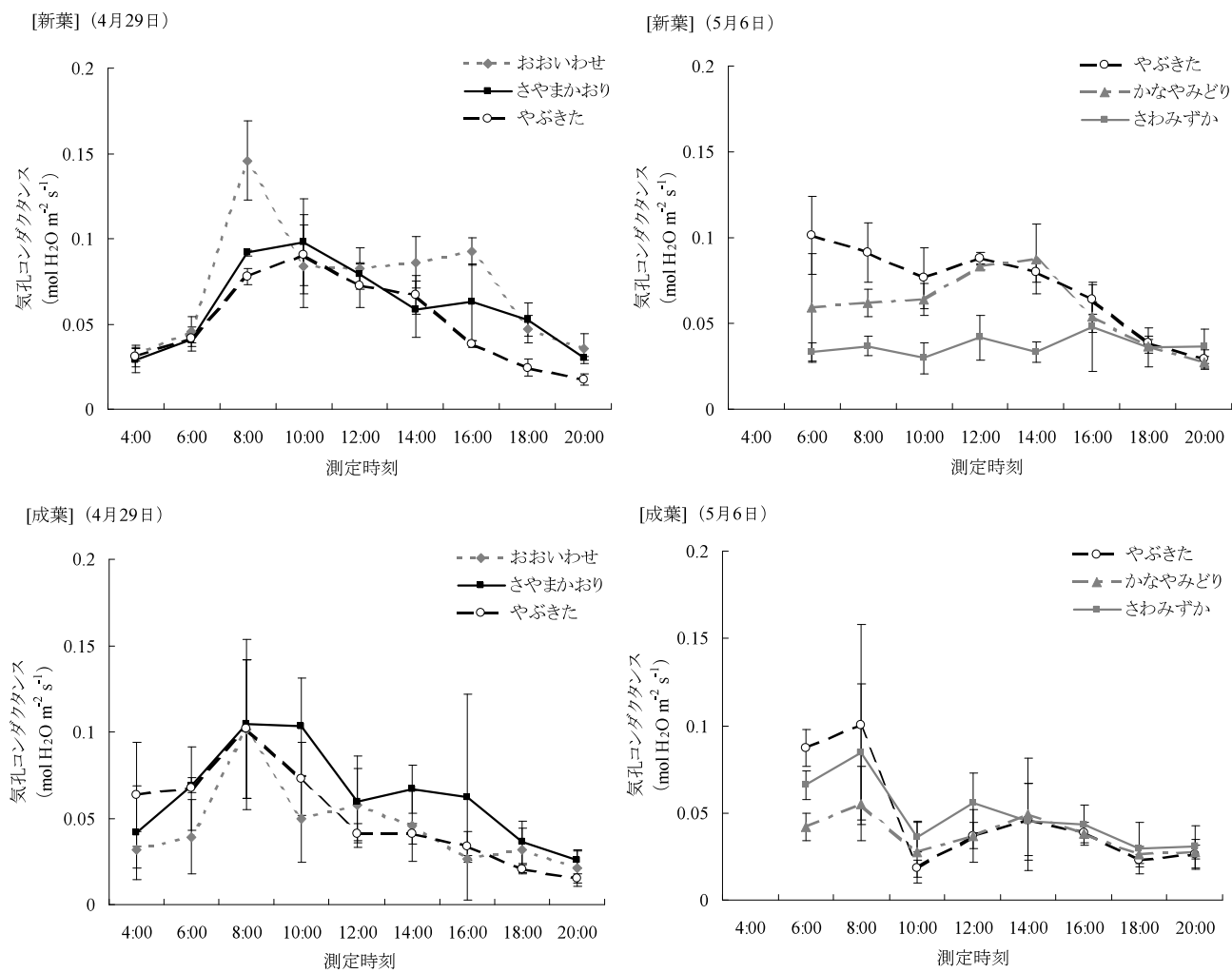


図 4-3 各品種の一番茶新葉および成葉の気孔コンダクタンスの日変化

縦棒は標準偏差 (n=3). 日付は測定日.

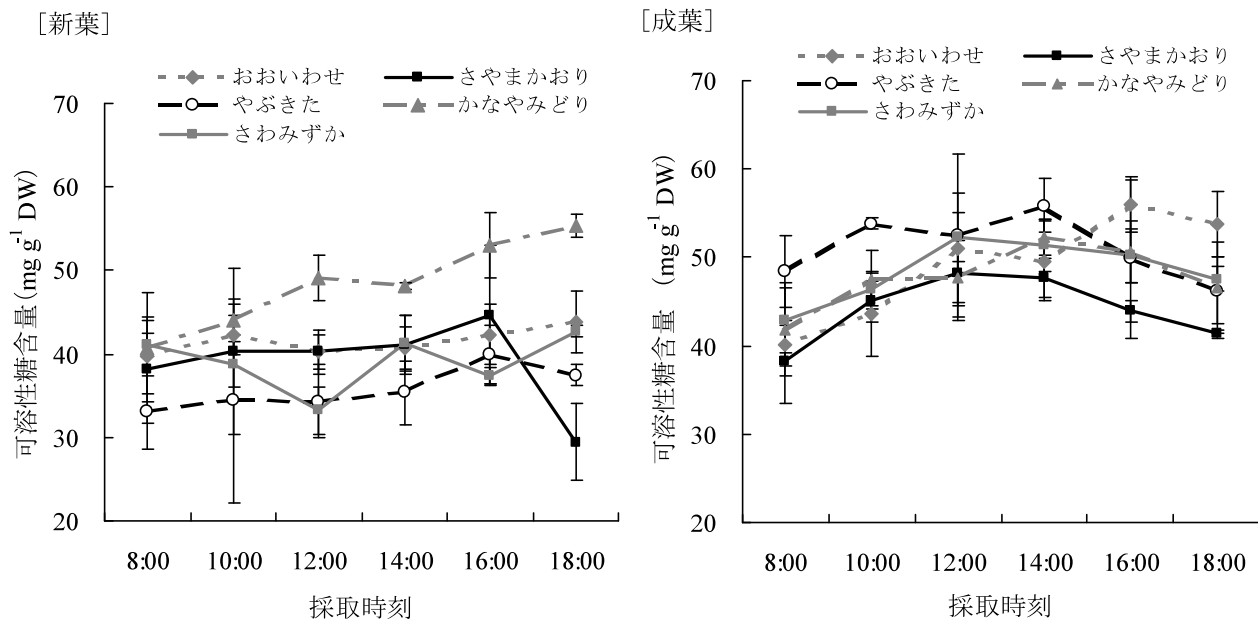


図 4-4 各品種の一番茶新葉および成葉の可溶性糖含量の日変化

縦棒は標準偏差 (n=3).

採取日は、おおいわせ 4月 23日, さやまかおり・やぶきた 4月 29日,  
かなやみどり・さわみずか 5月 6日.

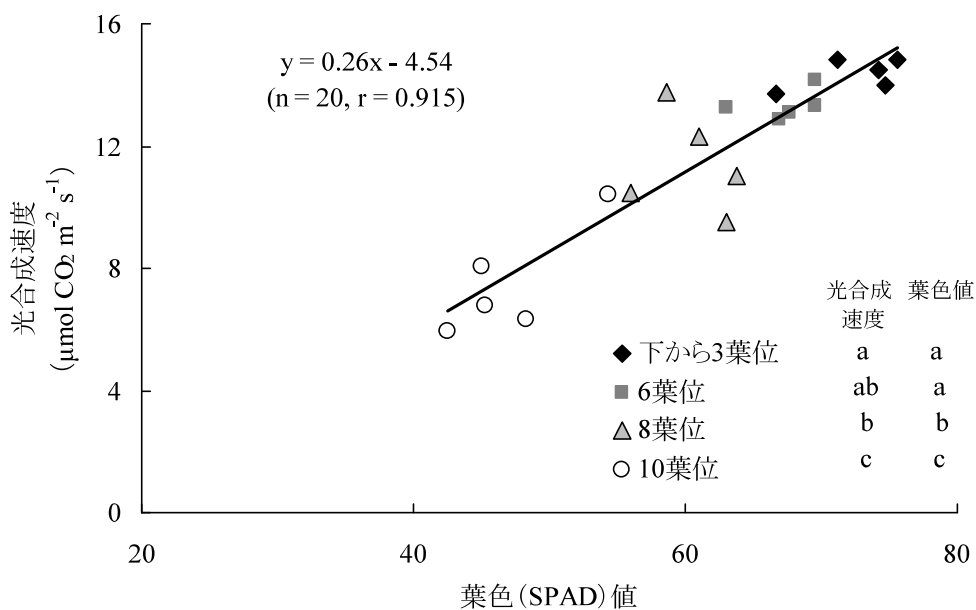


図 4-5 秋芽生育期における葉位別の葉色値と光合成速度との関係

「やぶきた」中切り更新園の秋芽を対象として下から 3, 6, 8, 10 葉位の葉を測定した.

凡例横の記号は各葉位の計測値 (n=5) を多重検定したもの.  
同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%). 10月 8日測定.

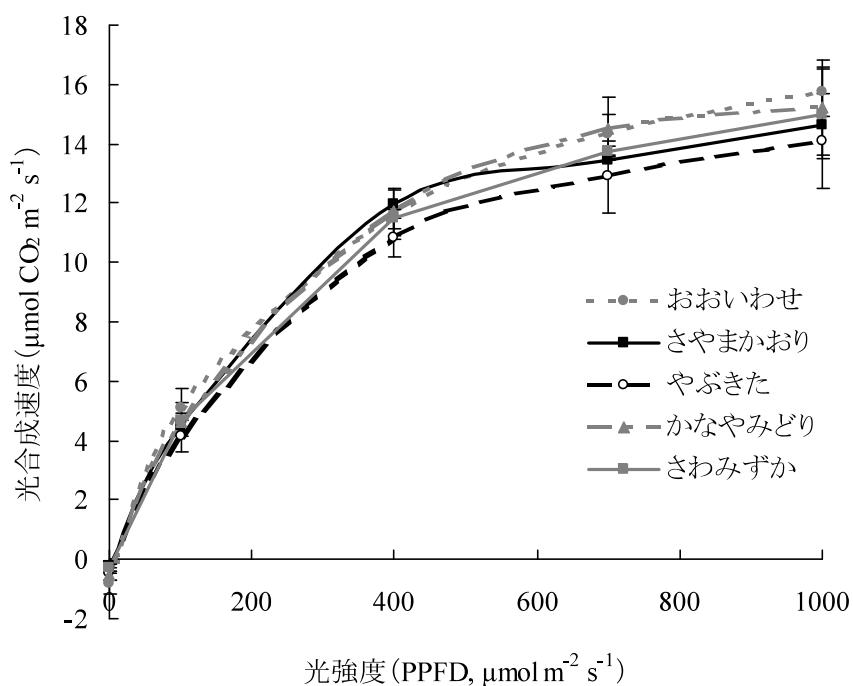


図 4-6 各品種の成葉の光-光合成曲線

縦棒は標準偏差 (n=3). 11月2日測定.

秋整枝後の株面の生育良好な成葉を測定した.

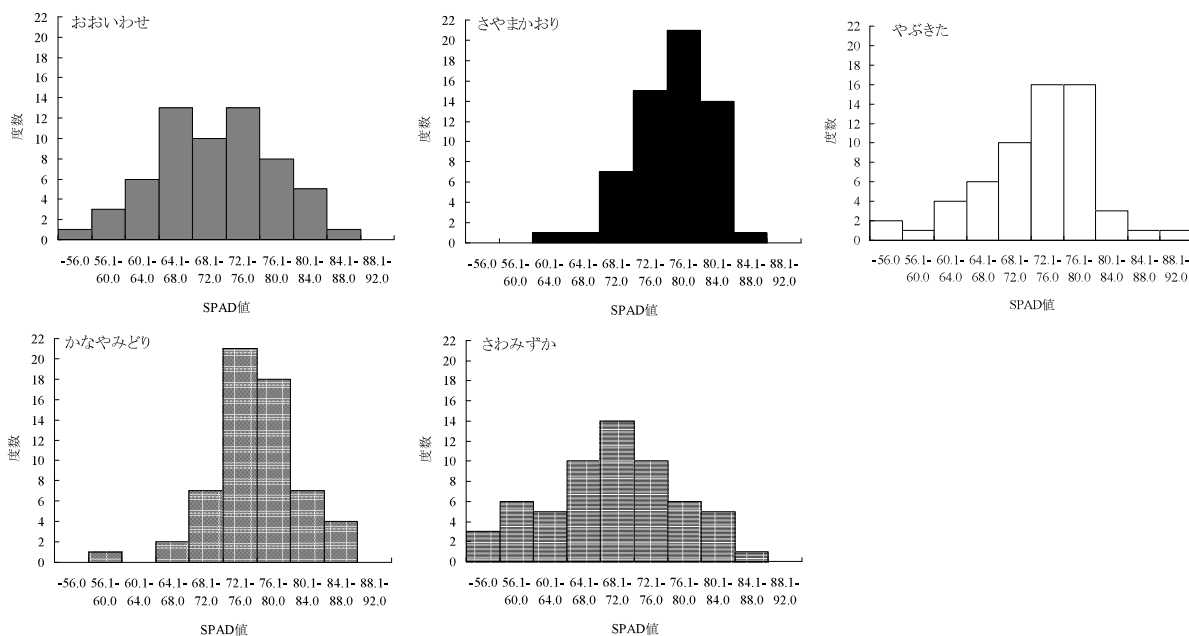


図 4-7 各品種における秋整枝後の株面成葉の葉色値の度数分布

秋整枝の切断面から1節目の成葉 (n=30) を任意に選定し測定した.

11月6日試料採取.

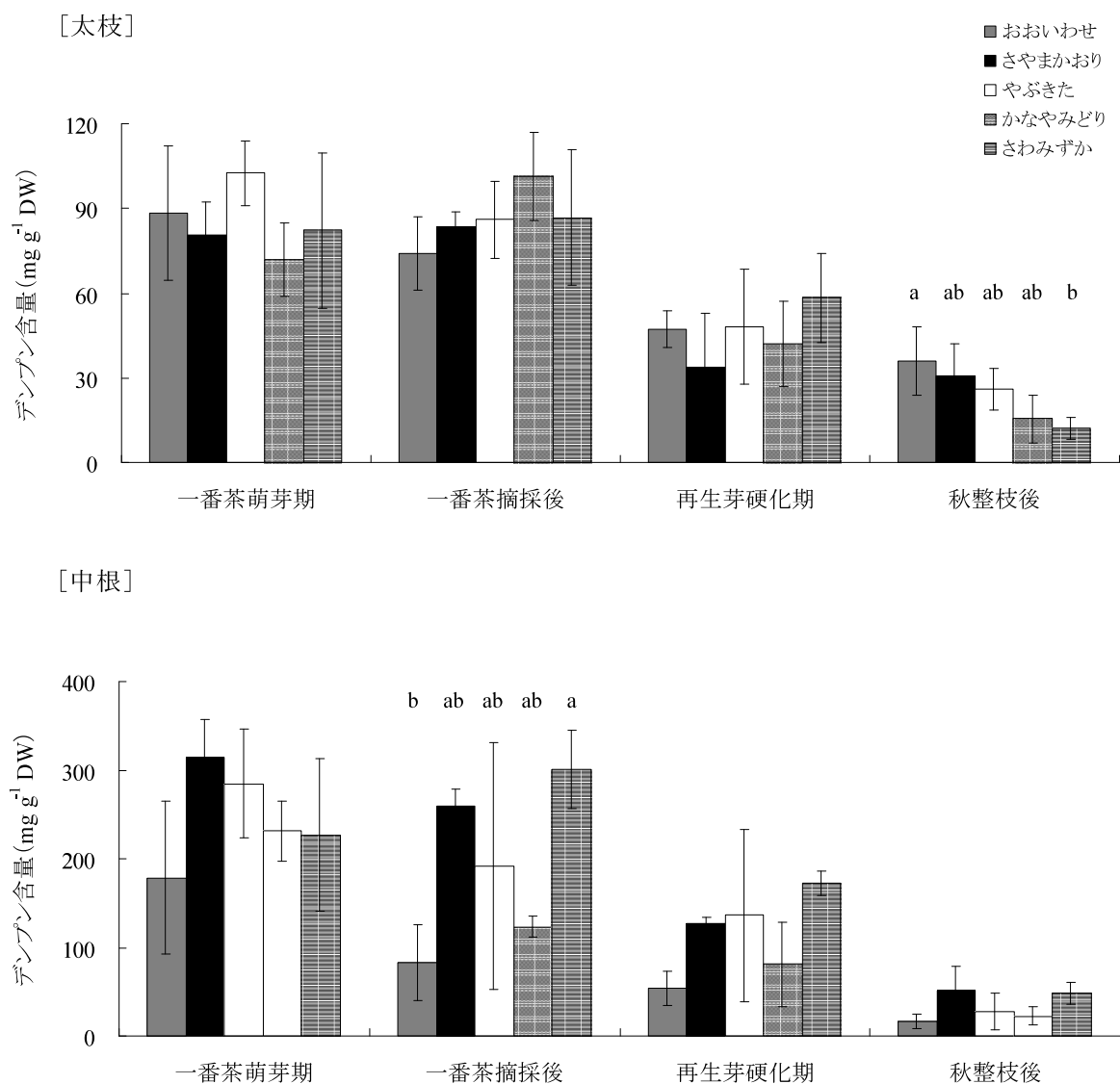


図 4-8 各品種における太枝および中根のデンプン含量の時期的変動

縦棒は標準偏差 (n=3). 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

一番茶摘採後に中切り更新を行った.

試料採取日は, 一番茶萌芽期は 3 月 26 日~4 月 11 日, 一番茶摘採後は 5 月 14 日, 再生芽硬化期は 7 月 18 日, 秋整枝後は 10 月 9 日.

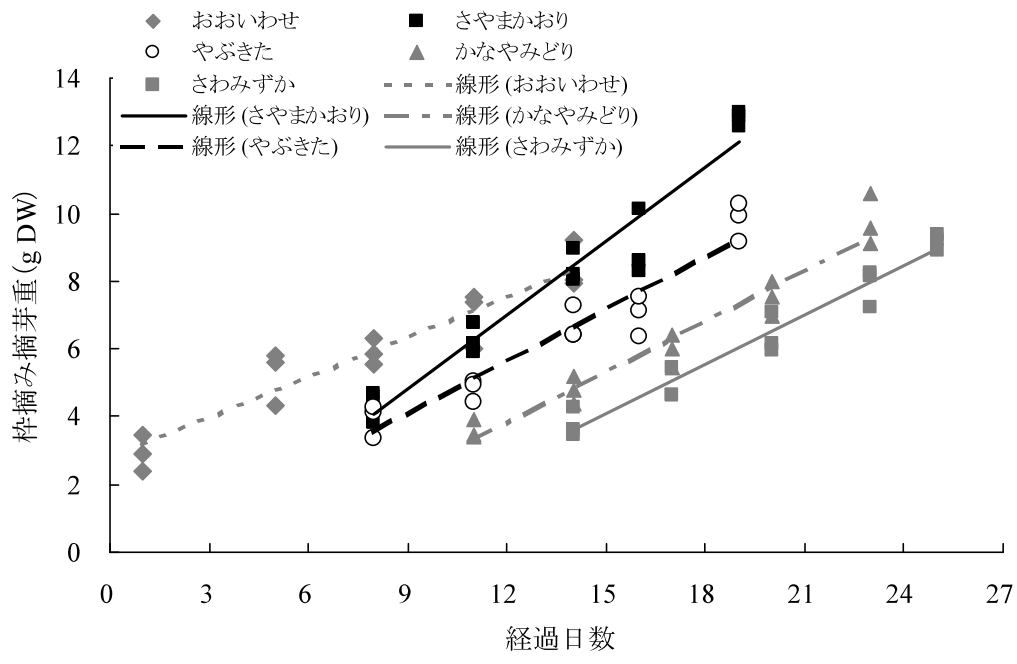


図 4-9 各品種における一番茶の芽摘み摘芽重の経時変化

回帰式 (説明変数 x は起算日 4/15 からの経過日数とした) :

- おおいわせ  $y = 0.399x + 2.78$  (n=15, r=0.95) a
- さやまかおり  $y = 0.729x - 1.75$  (n=15, r=0.97) b
- やぶきた  $y = 0.518x - 0.60$  (n=15, r=0.96) a
- かなやみどり  $y = 0.501x - 2.20$  (n=15, r=0.97) a
- さわみずか  $y = 0.489x - 3.25$  (n=15, r=0.98) a

※回帰式横の英小文字は平行性検定で有意差の認められたもの。  
 同一英小文字間に有意差なし (holm 5%) .

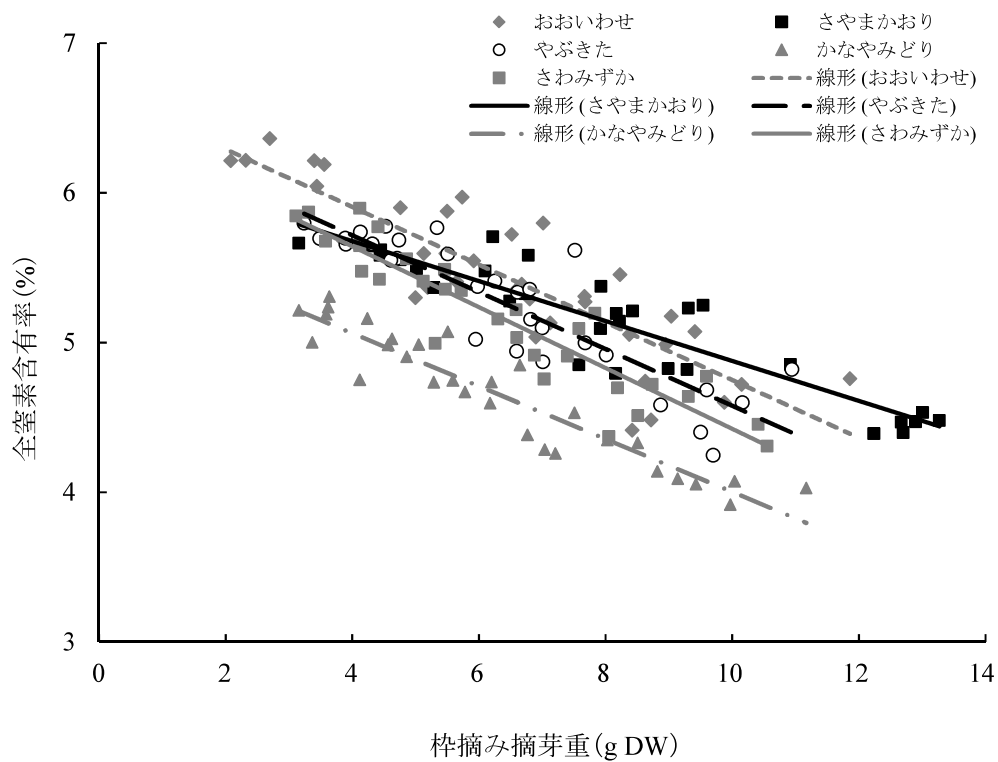


図 4-10 各品種における一番茶の芽摘み摘芽重と全窒素含有率の関係

回帰式：

おおいわせ  $y = -0.193x + 6.7$  (n=36, r=0.87) a

さやまかおり  $y = -0.133x + 6.2$  (n=30, r=0.92) b

やぶきた  $y = -0.190x + 6.5$  (n=30, r=0.89) a

かなやみどり  $y = -0.177x + 5.7$  (n=30, r=0.94) a

さわみずか  $y = -0.203x + 6.5$  (n=30, r=0.92) a

※回帰式横の英小文字は平行性検定で有意差の認められたもの。

同一英小文字間に有意差なし (holm 10%)。

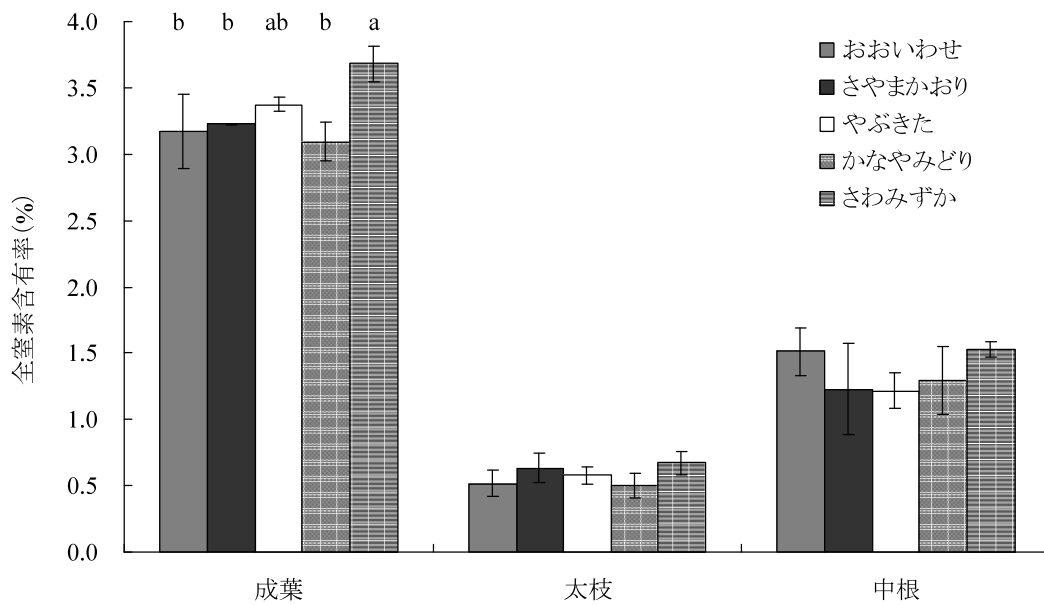


図 4-11 各品種における萌芽期の部位別全窒素含有率

縦棒は標準偏差 (n=3). 同一英小文字間に有意差なし (Tukey 5%).

試料採取日は、「おおいわせ」は 3 月 26 日、「さやまかおり、やぶきた」は 4 月 4 日、「かなやみどり」は 4 月 9 日、「さわみずか」は 4 月 11 日.



写真 4-1 秋期の光合成速度の測定に用いた秋芽  
矢印は 8 月整枝の位置.



## 第 5 章 総括

日本においてチャは農業粗生産額が約 1,000 億円、栽培面積が約 45,900ha であり、主な生産県ではチャは基幹的な作物として中山間地域の振興にも重要な役割を果たしている。しかしながら近年、茶価の低迷、茶業従事者の減少・高齢化等により経営体質の弱体化や生産意欲の減退が懸念されており、茶生産の収益性の改善が求められている。チャの単位面積当たりの収益性は、主に茶葉の収量と品質によって決定される。チャの品質評価は官能検査で行われてきたが、近年では旨味成分と相関が高いとされる遊離アミノ酸や全窒素などの窒素成分含量を指標とすることも多い。チャの新芽の生育に伴って窒素成分含量は減少することから、収量と品質指標としての窒素成分含量をバランスよく高めることが収益性の向上に寄与する。このため生産現場では、新芽の窒素成分含量を一定レベル以上に確保した上で多収量を得られるような生産力の高い茶園づくりが求められている。これまで、チャの生産性向上を目的として、物質生産的側面から光合成特性や光合成産物の樹体内での消費・分配に関する研究が精力的に行われ、チャの栽培技術の改善や多収性品種の育成に多大な貢献を果たしてきた。しかしながら、光環境条件がチャの光合成能の変化と光合成産物の分配に及ぼす影響は十分に解明されていない。成木園における樹体内炭水化物の分配・蓄積のメカニズムと炭水化物含量の違いが一番茶の生産性（収量・品質）に及ぼす影響については不明な点が多い。一方、育種的観点からは、多収性品種の特性を解明することは重要な意義を持つが、多収に大きく関与する炭水化物ソース・シンク能の点から品種間差異を解析する研究はチャにおいてはほとんど行われていない。

そこで本研究では、チャの生産力向上のための栽培技術を確立することを目的として、チャの生産性に及ぼす炭水化物の動態に関する研究を、以下のように行った。まず、樹体内炭水化物の分析作業の効率化を図るためデンプンを短時間に安全に低コストでできる簡易分析法を確立した。次に、LED を用いて各光環境条件の変化がチャの生育、形態変化、炭水化物の分配および窒素代謝に及ぼす影響を明らかにした。また、樹体内炭水化物の分配メカニズムと炭水化物含量の多少が一番茶の生産性に及ぼす影響を明らかにした。次に、乾燥、遮光、整枝等の環境ストレスに伴うチャの樹体内炭水化物の変動が新芽生育へ及ぼす影響を明らかにした。さらに、成木園におけるソース能、貯蔵シンク能およびシンク能（一番茶の生産性）について品種間差異を解明した。

## 1 光環境がチャの炭水化物生産に及ぼす影響

本章ではまず、チャの樹体内デンプンの簡易定量法としてヨウ素法を開発し、有効性を確認した。ヨウ素法では、熱水抽出時間を10分以上として、ヨウ素呈色による測定波長を600 nmにするのが適当であった。ヨウ素法の測定値と対照法（過塩素酸抽出・フェノール硫酸法）の測定値との間に高い相関関係が認められ、枝、根などのデンプン含量の高い試料ではヨウ素法が有効であることが示された。また、ヨウ素法は対照法と比較して、分析時間が約1/3に短縮され、コストは1/90に削減された。

次に、光環境条件の違いがチャに及ぼす影響を明らかにするため、光強度、光質および明期の異なる各光環境条件下での幼茶樹の生育、形態、光合成能、炭水化物の分配および窒素同化能を調査した。

異なる光強度または明期下で幼茶樹を生育させた結果、光強度や明期の減少に伴って、新芽生育量の減少、光合成能の低下、新葉の葉色の変化、新芽の遊離アミノ酸含量の増加がみられた。このことから、光強度や明期は、光合成速度の変動を介してチャの新芽生育に影響を及ぼすとともに、アミノ酸の合成や分解などの窒素代謝にも影響を及ぼすことが明らかになった。また、各部位の炭水化物含量が光照射処理後に大きく減少したことから、貯蔵炭水化物が新芽生長に利用される重要な炭素源となっていることが示された。赤、青および白色LED光を幼茶樹に照射した結果、新芽生育量に光質間差はなかったものの、赤色光下では、青色および白色光照射下と比較して、新葉の形態変化、光合成能の低下、各部位の可溶性糖含量の減少、根のGS活性の早期低下、窒素吸収量の減少がみられた。このことから、チャの生育、光合成能および窒素同化能の向上には青色光を含む光が重要であることが示唆された。

以上のことから、本章では、チャの樹体内デンプンの簡易定量法としてヨウ素法を開発し、その有効性を明らかにした。また、光強度、光質および明期がチャの生育、炭水化物生産および窒素代謝に及ぼす影響を明らかにした。

## 2 環境ストレスが樹体内炭水化物含量とチャの生育に及ぼす影響

本章では、まず、冬から春期の樹体内炭水化物含量の多少が一番茶の生産性に及ぼす影響を明らかにするため、成木園に対し冬期に遮光処理を行い、炭水化物含量と一番茶の収量・品質との関係を解析した。遮光を行わなかった場合には、デンプンは2月下旬から萌芽期までに、根、枝の順に蓄積されたのに対し、遮光した場合には、光合成の抑制に伴う

葉からの糖の供給不足により各部位でのデンプン蓄積が遅れた。また、一番茶萌芽期前後の樹体内炭水化物の不足は、新芽生育と摘採時期の遅れ、摘芽の減少・不揃い、全窒素含有率の低下を通じて一番茶の生産性を低下させることが示された。また、本試験において処理間差が明確であった成葉の可溶性糖並びに太枝および中根のデンプン含量は樹体診断の指標部位として活用できる可能性が示唆され、これらの炭水化物含量の採取時期や太さによる変動を明らかにした。

次に、環境ストレスの影響を明らかにするため、茶樹に対して土壌乾燥、完全遮光および整枝の処理を行い、それぞれ新芽の生育、光合成能、炭水化物の分配等を調査した。土耕ポット茶樹に対して新芽生育期に乾燥処理を行った結果、乾燥ストレス下で新芽生育量の減少と光合成能の低下がみられた。また、乾燥ストレス下では、成葉を除く部位では浸透圧調節のため可溶性糖やアミノ酸含量が増加する一方、光合成の抑制により成葉の可溶性糖および各部位のデンプン含量は減少することが示された。成木園で、一、二番茶の生育期に完全遮光（遮光率 98%の 3 重被覆）処理を行った結果、一、二番茶の収量は大きく減少し、遮光によるソース能の低下が示された。しかし、遮光処理後の秋整枝量および翌年一番茶収量と樹体内炭水化物含量には処理間差はみられなかったことから、新芽生育期の短期間の遮光が以後の炭水化物蓄積や生育に及ぼす影響は小さいと考えられた。成木園において、秋または春に整枝を行った結果、春整枝茶園の株面において日焼け症状を呈した成葉では可溶性糖含量が減少し、新芽の生育遅延や摘芽の不揃いが助長された。

以上のことから、成木園における冬から春期の樹体内炭水化物の分配を明らかにするとともに、炭水化物含量の減少が一番茶の生産性を低下させることが示された。また、樹体の診断指標として有効と考えられる成葉の可溶性糖並びに太枝および中根のデンプン含量の時期や太さ等による変動を明らかにした。さらに、乾燥や遮光等の環境ストレスがチャの生育、光合成能および炭水化物の分配に及ぼす影響を明らかにした。

### 3 チャにおける炭水化物ソース能とシンク能の品種間差異

本章ではまず、一番茶および秋期におけるソース能の品種間差異を明らかにするため、収量性の異なる 5 品種を用いて光合成速度、可溶性糖含量、Rubisco 活性および葉色値を比較した。秋期と一番茶生育期のソース葉には光合成速度、可溶性糖含量、Rubisco 活性等に品種間差はみられず、個葉レベルでの光合成能の差異は判然としなかった。しかし、秋期の株面成葉の成熟度（葉色値）の均一性には違いがみられたことから、葉層レベルで

評価することによりソース能の品種間差異を明らかにできる可能性が示唆された。

次に、同じ5品種について、貯蔵シンク能およびシンク能（一番茶の生産性）の差異を明らかにするため、太枝および中根のデンプン含量を経時的に調査するとともに、一番茶新芽の採摘量と全窒素含有率の関係を解析した。萌芽期から秋期における太枝のデンプン含量には品種間で明確な差はみられなかったものの、中根のデンプン含量は、5品種のうちでは多収型とされる「さやまかおり」と「さわみずか」で多かった。さらに、「さやまかおり」の採摘量増加速度や品質指標としての全窒素含有率が高いことが示されたことから、貯蔵シンク能およびシンク能には品種間差異があること、中根のデンプン含量や品質を加味した単位面積当たりの収量を比較することにより多収性の判定が可能であることを明らかにした。

以上のことから、チャの炭水化物のソース能については、供試した5品種間において個葉の光合成能の差異は判然としなかった。しかし、多収とされる品種において枝や根のデンプン含量が高く一番茶の生産性が優れていたことから、貯蔵シンク能およびシンク能に品種間差異があることが明らかになり、これらのシンク能が多収性の判定指標として利用できることが示された。

#### 4 まとめ

チャの生産力を向上するためには、茶樹の栄養状態を的確に把握し、それに応じた栽培管理を行っていく必要がある。光合成能や樹体内の炭水化物含量は茶樹の栄養状態の診断や生産力判定の指標として活用できると考えられる。本研究の第2, 3章では、光環境の変化や環境ストレスにより各部位の炭水化物含量が顕著に変動することを示した。また、第3章では、成木園の一番茶萌芽期における成葉の可溶性糖並びに太枝および中根のデンプン含量は一番茶の生産性との関係が大きく、これらの部位の炭水化物が樹体の診断指標として適用できる可能性が示唆された。4章では多収性品種において中根のデンプン含量が高いことを示した。デンプンの分析については、第2章においてヨウ素法の有効性を示した。

一方、今後、炭水化物含量を指標としたチャの樹体診断法を生産現場に適用するためには、幾つかの課題が残されている。中根のデンプン含量は変動が大きいことから、再現性の高い根の試料採取法について検討する必要がある。また、新芽生育期の遮光栽培や夏期の乾燥などの環境ストレスがチャに及ぼす長期的な影響についても解明を進める必要がある。

り，樹体の状態をより精確に把握するためには炭水化物以外の指標を用いた手法を併用することも考えられる．さらに，ソース能の品種間差を評価する手法についても大きな検討の余地が残されている．これらの課題を解決し，チャの樹体診断法を確立することにより，生産力向上のための栽培管理技術の普及と多収性品種の育成を進めていきたいと考える．

## Summary

### Studies of Carbohydrate Dynamics on Productivity of Tea Plants (*Camellia sinensis* L.)

Tea profitability per unit area depends on yield and quality at harvest. Tea quality is primarily evaluated by human sensory testing. Recently, the content of total nitrogen, which has a high correlation with tea taste, has been used as an indicator to evaluate tea quality. It is important to improve the yield of tea fields and the content of total nitrogen in tea leaves in order to increase tea profitability because nitrogen content decreases with new shoot growth. Highly productive tea fields producing high yield with stable total nitrogen content are required in tea plantations. Many studies of photosynthetic characteristics and consumption and distribution of carbohydrates for improving tea plant productivity have contributed to the establishment of tea cultivation technology and breeding of high-yielding cultivars. However, the effects of the photoenvironment on photosynthetic ability and carbohydrate distribution in the tea plant are insufficiently clear. The mechanisms of consumption and distribution of carbohydrates in a mature tea field, and the effects of the carbohydrate content in the mature tea plant on the productivity of the first crop of tea have not been elucidated. Identifying the characteristics of high yielding cultivars is an important issue from the breeding point of view but few studies investigating cultivar difference in carbohydrate source–sink relationships have been performed in tea.

This study investigated the effect of carbohydrate dynamics on the productivity of tea plant in order to establish cultivation techniques for improving tea productivity. First, a simple iodine colorimetry method for quantitative analysis of starch content in tea plants was established. Next, tea growth, change in morphology of new leaves, and carbohydrate distribution in the tea plant under artificial light conditions using LEDs were investigated. The mechanism of distribution of carbohydrates in the mature tea plant and the effects of carbohydrate contents on the productivity of the first crop of tea were described. The effects of environmental stress on new shoot growth and carbohydrate contents in the tea plant were described. Finally, cultivar differences in photosynthetic ability, carbohydrate storage capacity, and yielding ability in a mature tea field were characterized.

## 1. Effects of light environment on carbohydrate production of tea plant

First, estimates of starch content of tea plants were obtained by iodine colorimetry. Starch content was measured by absorbance at 600 nm, and starch in samples of tea plants was extracted with hot water for at least 10 min. There was a high correlation between the measured values of starch content in leaves obtained by iodine colorimetry and those obtained by a control method (perchlorate–phenol–sulfuric acid colorimetric method). Relative to the control method, iodine colorimetry reduced the total analysis time and reagent cost to 1/3 and 1/90, respectively. The method is suitable for determining storage starch in roots and branches of tea plants and offers the advantages of safety, convenience, and economy.

The growth, morphology, photosynthetic ability, carbohydrate distribution, and nitrogen-assimilation ability of young tea plants under different light intensities, quality, and duration (light/dark period) were investigated to determine the effects of light environmental conditions on tea plant.

One-year-old rooted cuttings of tea plants were grown under five light intensities (0, 10, 100, 500, and 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) in growth chambers illuminated with white LEDs for 16 days. Fresh weight of new shoots, photosynthetic rate, and carbohydrate contents decreased with decreasing light intensity. Leaf color changed to dark green with decreasing light intensity from 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  to 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , whereas under 0  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  the leaf color changed to yellowish white. In contrast, total free amino acid content in new shoots increased with decreasing light intensity. Thus, light intensity affected not only new shoot growth through change in photosynthetic ability but also nitrogen metabolism in the form of composition and resolution of amino acids. The carbohydrate content in each organ under all treatments decreased markedly compared with that before treatment. This result was expected, as carbon stored in mature leaves, branches, and roots is a primary source of carbon for new shoot growth in tea plants.

Young tea plants in hydroponic culture were grown in growth chambers illuminated with red, blue, and white LEDs for 15 days. No difference was seen in the increments in fresh weight of new shoots among the three LED treatments. Change of morphology in new leaves was promoted under the red LED treatment. Photosynthetic rates, transpiration rates, stomatal conductance, and soluble sugar content of new leaves in plants that received a blue or white LED treatment increased compared with those that received the red LED treatment. Glutamine synthetase

activities in rootlets were lower in plants under the red LED treatment than in those under the other two LED treatments. The rate of nitrogen translocation to new leaves was also lowest in the red LED treatment. These findings suggested that irradiation with light containing blue wavelengths is effective for improving the quality of tea plants.

One-year-old rooted cuttings of tea plants were grown under five light/dark periods (0 /24 h, 2 /22 h, 4 /20 h, 8 /16 h, and 12 /12 h) in growth chambers illuminated with white LED for 16 days. Fresh weight, photosynthetic rate, chlorophyll content, and hue angle (green color index) of new shoots decreased linearly with increasing duration of darkness. In contrast, total free amino acid content in new shoots increased with darkness duration. Thus, the light period also affected new shoot growth, photosynthetic ability, and nitrogen metabolism. The carbohydrate content in each organ under all light-period treatments light intensities markedly decreased compared with that before treatment. The soluble sugar contents in mature leaves and starch in branches and roots under the 0/24 h (dark) treatment were comparatively high despite the extremely low photosynthetic rate.

## 2. Effects of environmental stress on carbohydrate contents and growth of tea plants

The effect of 85% shading of mature tea plants in different periods during winter on the carbohydrate content of the plant and productivity of the first crop of tea were investigated.

Without shading, sugar, the product of photosynthesis, was fully supplied and starch began to accumulate in medium and thick roots by late February and accumulated in the branches by budding time. After shading for three months from early January to early April, starch in medium roots and branches increased slowly, accompanying a delay of starch accumulation in thick roots owing to insufficient supply of sugar from source leaves by inhibition of photosynthesis. Shading during the period just before budding time also caused delay of growth and harvest time, decrease in new shoot numbers, irregular size of new shoots, and decrease in total nitrogen content in new shoots.

However, the rate of decrease in carbohydrate content ( $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ) (evaluated by sampling a small part of each organ from mature plants) caused by shading was not always in agreement with the degree of yield reduction by shading. Accordingly, the relationship between carbohydrate content ( $\text{g DW plant}^{-1}$ ) per tea plant and new shoot growth was investigated by shading tea plants



cultured in soil pots. As a result, in late March (budding time), the carbohydrate content per plant (g DW plant<sup>-1</sup>) under shading decreased to 60% of that under no shading, and the fresh weight of new shoots also decreased to 60% of that under no shading. This decrease was because of the delay in growth and decrease in number of new shoots. These findings suggested that sampling parts of the tea plant were effective for evaluating its carbohydrate content (mg g<sup>-1</sup> DW).

The soluble sugar contents in mature leaves and starch in branches and medium roots were considered to be appropriate for evaluating tea plant productivity because these contents decreased markedly under shading treatment in the mature tea field, and these organs could be more easily sampled than trunks and thick roots. The seasonal change and individual variation in the carbohydrate contents of these organs were also investigated. The soluble sugar content in mature leaves increased from autumn to a harsh winter and then declined until harvest time, whereas the contents of starch in branches and medium roots reached their maximum in the first crop season and then decreased to a minimum at autumn. The starch content in medium roots increased with larger root diameter, and starch content showed large within-plant variation.

The effects of soil drying, complete shading, and light stress by skiffing on the tea plant were examined.

Young tea plants in pots were grown under drought-stress treatment, beginning at the opening of the fourth leaf of new shoots. Under drought stress, new shoot growth and photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance of new and mature leaves significantly decreased. The soluble sugar and free amino acid contents of all organs except mature leaves increased in response to osmotic pressure adjustment under drought stress. The soluble sugar contents in the mature leaf and starch in all organs decreased by depression of photosynthesis under dry stress.

The effects of complete shading during the first and second flushes were examined in mature tea fields. Under complete shading, yields of the first and second crops of tea decreased markedly but those of the autumn crop and the first crop of the following year showed no difference and nor did the carbohydrate contents throughout the period between the second cropping and budding in the following year. These results indicated that complete shading exerts little effect on the yields of the subsequent harvest season or on the carbohydrate contents by suppressing carbohydrate consumption and winter accumulation of carbohydrates through reduction of new shoot growth.

Skiffing to keep the surface uniform for mechanical plucking was performed in autumn (early

October) and spring (late February) in the mature tea field, and the effects of different skiffing times on the carbohydrate contents of tea plants and new tea shoot growth were evaluated. The starch contents at budding in tea plants skiffed during spring were higher than in those skiffed during autumn but were not reflected in the growth of new shoots or the yield of the mature tea field. In contrast, sunburn of mature leaves by skiffing in spring led to a significant decrease in soluble sugar content in mature leaves, a delay in new shoot growth, and irregular size of new shoots in the sunburned parts.

### 3. Cultivar differences in carbohydrate source–sink relationship in the tea plant

To identify cultivar differences in source strength in the autumn and tea season of a first crop, photosynthetic rates, soluble sugar content, and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) activity were investigated in leaves of five cultivars “Ooiwase,” “Sayamakaori,” “Yabukita,” “Kanayamidori,” and “Sawamizuka.” In the season of the first crop, the photosynthetic rate of new leaves differed from that of mature leaves in its daily variation; the photosynthetic rate in new leaves of “Sawamizuka” was lower than that in other cultivars; and neither the soluble sugar content nor the photosynthetic rate of five cultivars showed identical daily variation. In addition, no difference was seen in the photosynthetic rate of the mature leaf or the soluble sugar content between the five cultivars. In autumn, cultivar differences in photosynthetic rate, Rubisco activity, and leaf-color level in source leaves were investigated. The photosynthetic rate and the leaf-color level, corresponding to the degree of maturity of the leaf, were higher in mature leaves than in immature leaves, and the photosynthetic rate in immature leaves of “Sawamizuka” was very low. No cultivar differences were seen in the photosynthetic rate and Rubisco activity of mature leaves. However, variation was seen in the leaf-color value of mature leaves situated on the skiffing surface.

To identify cultivar differences in sink strength, the carbohydrate contents in branches and medium roots from budding time to autumn were measured, and yields per unit area and total nitrogen contents in new shoots were also measured for the five cultivars. No difference was seen in the starch content in branches, but those in medium roots of “Sayamakaori” and “Sawamizuka” were higher than those in the other cultivars. The rate of increase in the yield per unit area and total nitrogen content in new shoots of “Sayamakaori” were significantly higher than in those of

the other cultivars, and total nitrogen content in new shoots of “Kanayamidori” was low.

These results indicate that cultivar differences in source strength may be identified by evaluating in leaf layer levels, that there are cultivar differences in storage and sink strength, and that it is possible to identify cultivar differences in yield ability by comparing starch contents in medium roots and yield per unit area.

#### 4. Conclusion

It is desirable to evaluate nutritional status by measuring carbohydrate content in tea plants in order to improve tea productivity. The sources for new shoot growth of the first crop of tea are considered to be reserve carbohydrates, photosynthate from mature leaves, and photosynthates produced by the new shoots themselves.

In Chapters 2 and 3, the effects of light conditions and the environmental stress on the carbohydrate distribution in the tea plant are described. In Chapter 3, the relationship of the productivity of the first crop of tea with the carbohydrate content in tea plants (in the form of soluble sugars in mature leaves and starch in branches and medium roots) is described. Factors contributing to variation in these contents are also discussed. In Chapter 4, the high starch content in medium roots and the sink strength of high-yielding-type cultivars are described. From the above results, it is deemed appropriate to use the contents of soluble sugar in mature leaves and starch in branches and medium roots sampled at budding time as indicators for nutritional diagnosis of the tea plant. The iodine colorimetry method described in Chapter 2 is suitable for starch determination

Future studies should investigate high-reproducibility sampling methods, combine carbohydrate content with other evaluation indices, and investigate other methods for evaluation of source strength to develop a nutritional diagnostic method using carbohydrate content. Evaluation of nutritional status by measurement of carbohydrate content will improve cultivation technologies to raise the productivity of the tea plant and contribute to breeding high-yielding tea cultivars.

## 謝辞

本研究の遂行ならびに取りまとめに当たり、終始懇切丁寧な御指導および暖かい激励を賜った静岡大学農学部森田明雄教授に謹んで深い感謝の意を表します。また、本論文の執筆に当たって有益な御助言を賜った静岡大学農学部糠谷明農学研究科長、一家崇志助教、岐阜大学応用生物科学部小山博之教授に深く感謝の意を表します。

本研究の遂行に当たり、静岡県農林技術研究所茶業研究センター小泉豊センター長、前センター長（現静岡県立大学特任教授）中村順行氏にはチャ栽培研究に関するご助言と暖かい励ましのお言葉をいただきました。また、実験および調査に御協力を頂いた静岡県農林技術研究所茶業研究センター小林栄人氏、中野敬之氏、秋葉恵子氏、静岡県経済産業部茶業農産課大石哲也氏、静岡県志太榛原農林事務所稲葉清文氏、静岡大学農学部非常勤職員大口玲子氏には心から感謝の意を表します。

さらに、本研究の実施に当たり、静岡県農林技術研究所茶業研究センターの職員諸氏並びに静岡大学農学部植物機能生理学研究室の卒業生、修了生および在校生諸氏には多大な御協力と御支援を賜りました。記して深謝いたします。

## 引用文献

- Amthor, J. S. (1989). *Respiration and crop productivity*. Springer-Verlag, New York.
- Aoki, S. (1984). Inhibition of photosynthetic light reactions in overwintering tea leaves during winter cold. *J.Crop.Sci.* 53, 396~402.
- Aoki, S. (1986a). Site of cold-induced depression of photosynthesis in overwintering tea leaves. *J.Crop.Sci.* 55, 489~495.
- Aoki, S. (1986b). Interaction of light and low temperature in depression of photosynthesis in tea leaves. *Jpn. J. Crop Sci.* 55, 496~503.
- 阿南豊正, 中川致之 (1974). 茶葉の化学成分含量に及ぼす光の影響. *茶技研* 47, 132~137.
- 阿南豊正, 高柳博次, 池ヶ谷賢次郎, 中川致之 (1981). 高速液体クロマトグラフィーによる緑茶の遊離糖の定量法. *日食工誌* 28, 632~639.
- 阿南豊正, 高柳博次, 池ヶ谷賢次郎 (1985). 生育ならびに遮光による茶芽の遊離糖含量の変化. *日食工誌* 32, 43~50.
- 青木智 (1980). 暗黒下で誘導された茶葉の衰退減少. *茶技研* 59, 1~5.
- 青木智 (1985a). 固定化酵素膜-過酸化水素電極による茶樹の炭水化物と遊離アミノ酸の定量. *日作紀* 54, 235~240.
- 青木智 (1985b). 秋冬期における茶葉光合成機能の変化 第 5 報 冬期被覆による新芽生育の向上. *日作紀* 54 (別), 124~125.
- 青野英也, 築瀬好充, 田中静夫, 杉井四郎 (1976). チャ栽培における科学繊維被覆資材の利用とその効果. *茶試研報* 12, 1~123.
- 浅沼俊輔, 二戸奈央子, 大川泰一郎, 平沢正 (2008). 水稻品種ササニシキとハバタキの収量, 乾物生産とこれに関わる生理生態的性質の比較. *日作紀* 77 (4), 474~480.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72, 248~254.
- 卜蔵健治 (1965). 単色光がエンドウの蒸散作用に及ぼす影響 (第 1 報). *生物環境調節* 2, 94~97.
- Chatterton, N. J. and Silvius, J. E. (1979). Photosynthate partitioning into starch in soybean leaves. Effects of photoperiod versus photosynthetic period duration. *Plant Physiol.* 64, 749~753.

- Commission Internationale de L'Eclairage (CIE) (1986). Colorimetry (2nd ed. Vol. Publication No. CIE 15.2). Vienna, Austria, Central Bureau of the CIE.
- Darnell, R. L. (1991). Photoperiod, carbon partitioning, and reproductive development in rabbiteye blueberry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116, 856~860.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350~356.
- Farooqi, A. H. A., Sangwan, N. S. and Sangwan, R. S. (1999). Effect of different photoperiodic regimes on growth, flowering and essential oil in *Mentha speciosa*. *Plant Growth Regulation* 29, 181~187.
- Fitter, A. H. and Hay, R. K. M. (2001). Effects of spectral distribution of radiation on plants. In : Fitter A. H. and Hay R. K. M. (Ed.), *Environmental physiology of plants*, third ed. pp.33~42. Academic Press, London.
- Forrest, G. I. (1969). Effects of light and darkness on polyphenol distribution in the tea plant (*Camellia sinensis* L.). *Biochem. J.* 113, 773~781.
- 澗之上弘子 (1960). 遮光が茶葉の形質の形質に及ぼす影響について 第1報 茶葉の形態的变化. *日作紀* 29, 373~375.
- 澗之上康元, 澗之上弘子 (1999). 玉露, 碾茶 (抹茶原料) 原料生産のための覆下園. *日本茶全書*. pp.97~100. 農文協, 東京.
- 藤田耕之輔 (2008). ソース・シンク関係からみた作物生産能に関する研究. *J. Grad. Sch. Sci., Hiroshima Univ.* 47, 61~68.
- 福井作蔵 (1969). 生物化学実験法. A-1 還元糖の定量法. pp.45~47. 東京大学出版会, 東京.
- Hanes, C.S. (1929). An application of the method of Hagedorn and Jensen to the determination of larger quantities of reducing sugars. *Biochem. J.* 23, 99.
- Hata, N., Hayashi, Y., Okazawa, A., Ono, E., Satake, H. and Kobayashi, A. (2012). Effect of photoperiod on growth of plants, and sesamin content and *CYP81Q1* gene expression in the leaves of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Environ. Experimental Botany* 75, 212~219.
- Hodge, J.E. and Hofreiter, B.T. (1962). Determination of reducing sugars and carbohydrates. *Methods in carbohydrate chemistry*. R.L. Whistler and M.L. Wolfrom eds. vol.1 pp.380~394. Academic Press, New York.

- Honma, T., Anzai, T., Matuo, K., Kanemitsu, N., Satoh, H. and Hiramoto, H. (2011). Effect of continuous irradiation of LED light on growth of young tea plants. *ISHS Acta Horticulture* 907, 233~236.
- Hsiao, T.C. and Allaway, W.G. (1973) Action spectra for guard cell  $Rb^+$  uptake and stomatal opening in *Vicia faba*. *Plant Physiol.* 51, 82~88.
- 袴田勝弘 (1981). チャにおける  $^{14}C$  同化産物の初期分布. 茶技研 61, 22~27.
- 袴田勝弘, 酒井慎介 (1980a). 幼茶樹における冬季  $^{14}CO_2$  光合成産物の転流と再分布. 茶技研 58, 11~19.
- 袴田勝弘, 酒井慎介 (1980b). 幼茶樹における春季  $^{14}CO_2$  光合成産物の転流と再分布. 茶技研 58, 21~28.
- 袴田勝弘, 酒井慎介 (1981). 幼茶樹における秋季  $^{14}CO_2$  光合成産物の転流と再分布. 茶技研 61 : 11~20.
- 原田重雄, 加納照崇, 酒井慎介 (1957). 茶の炭酸同化作用に関する研究. 日作紀 26, 49~50.
- 原田重雄, 加納照崇, 酒井慎介 (1958). 茶の炭酸同化作用に関する研究 第 2 報. 日作紀 27, 301~302.
- 原田重雄, 加納照崇, 酒井慎介 (1960). 茶の炭酸同化作用に関する研究 第 4 報 成木茶園の葉層による同化作用の差異とその原因について. 茶技研 22, 1~5.
- 原田重雄, 加納照崇, 酒井慎介 (1961). 茶の炭酸同化作用に関する研究 第 5 報 成木茶園の同化作用 (2). 茶技研 25, 1~10.
- 原田重雄, 加納照崇, 酒井慎介 (1965). 茶の炭酸同化作用に関する研究 第 6 報 赤外線ガス分析計を用いたガス代謝測定装置とそれによるガス代謝測定上の諸問題の検討. 茶技研 31, 10~22.
- 日高保, 鈴木幸隆 (1976). チャの育種における多収栄養系の早期選抜 (第 1 報) 系統比較の段階での収量と生育特性の関係. 静岡茶試研報 7, 33~41.
- 東島敏彦, 野中一弥, 灰塚士郎 (2001). F-キット, スターチによる茶樹木化根の炭水化物含有率簡易定量法. 九州沖縄農業研究成果情報 第 16 号, 367~368.
- 平井正良, 雨木若慶, 渡邊博之 (2006). 発光ダイオード (LED) による単色光照射がナス, リーフレタス, ヒマワリの節間伸長に及ぼす影響. 植物環境工学 18 (2), 160~166.
- 平野貢, 上山純子, Truong Hop Tac, 黒田栄喜, 村田孝雄 (1999). 登熟期水稻の茎におけ

- る炭水化物と細胞壁成分の関係. 日作紀 68 (1), 99~104.
- 平沢正 (1994). 水ストレスと作物の光合成・生長. 石井龍一編. 植物生産生理学. pp.103~109. 朝倉書店, 東京.
- 平沢正 (1998). 根による吸水. 根の事典. 根の事典編集委員会編. pp.350~360. 朝倉書店, 東京.
- 久田秀彦 (1992). 茶樹における一番茶の生育期の樹体内炭水化物の減少. 静岡茶試研報 16, 61~64.
- 飯野盛利 (2001). 青色光受容体研究のたどってきた道. 和田正三・徳富哲・長谷あきら・長谷部光泰監修. 植物の光センシング. pp.88~98. 秀潤社, 東京.
- 池田奈実子, 堀江秀樹, 向井俊博, 後藤哲久 (2006). チャ品種の一番茶新芽の化学成分含有量の年次変動. 日作紀 75 (4), 511~517.
- 石原邦 (1992). 葉内水分と空気湿度. 宮地重遠編. 光合成. pp.89~97. 朝倉書店, 東京.
- 石井龍一 (1992). 各種要因による光合成の制御. 宮地重遠編. 光合成. pp.75~88. 朝倉書店, 東京.
- 岩井万祐子 (2011). 農業分野における光技術の応用. 照明学会誌 95 (4), 230~232.
- 岩浅潔 (1968). 茶葉カテキン蘇生に及ぼすしゃ光栽培の影響. 茶技研 36, 63~69.
- 岩崎直人, 大垣智明 (1983). 気象的適地に関与する各種カンキツの光合成特性について. 園学要旨 昭 58 春, 4~5.
- Joy, K.W., Ireland, R.J. and Lea, P.J. (1983). Asparagine synthesis in pea leaves, and the occurrence of an asparagine synthetase inhibitor. *Plant Physiol.* 73, 165~168.
- 蔣才忠, 平沢正, 石原邦 (1988). 水稻多収性品種の生理生態的特徴について -アケノホシと日本晴の比較-. 日作紀 57 (1), 139~145.
- Kaur-Sawhney, R., Shih, L., Flores, H.E. and Galston, A.W. (1982). Relation of polyamine synthesis and titer to aging and senescence in oat leaves. *Plant Physiology* 69, 405~410.
- Konishi, S. and Miyamoto, T. (1985). Stimulatory effects of aluminum on tea plants grown under low and high phosphorus supply. *Soil Sci.Plant Nutr.* 31, 361~368.
- Kruk, J. (2005). Occurrence of chlorophyll precursors in leaves of cabbage heads – the case of natural etioleation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B* 80, 187~194.
- Kubot, S. Yamamoto, J. Takazawa, Y. Sakasai, H. Watanabe, K. Yoneda, K. and Mtsui, N. (2005). Effects of light intensity and temperature on growth, Flowering, and single-leaf CO<sub>2</sub>



- assimilation in *Odontioda orchid*. *Soc. Hort. Sci.* 74 (4), 330~336.
- 加藤陽治, 野呂哲 (2008). ダイコンの澱粉. 弘前大学教育学部紀要 99, 107~110.
- 木村守, 鈴木茂敏 (2002). インゲンマメ初生葉の蒸散と光合成に及ぼす青色光照射処理の影響. 名城大農学報 38, 1~6.
- 北村進一, 中屋慎 (2012). 糖の定量法. 生物工学 90, 790~793.
- 小林章 (1954). 冬季の体内貯蔵養分と春季の生長. 果樹園芸総論. pp.372~374. 養賢堂, 東京.
- 小林栄人, 大石哲也 (2009). 環境条件がチャの光合成活性に及ぼす影響 土壌 pF の影響. 茶研報 (別) 108, 64~65.
- 小林栄人, 中村順行, 鈴木利和, 大石哲也, 稲葉清文 (2011). 光強度がチャ新芽の葉色および成分に及ぼす影響. 茶研報 111, 39~49.
- 小西茂毅, 葛西善三郎 (1968). 茶樹における  $^{14}\text{CO}_2$  からのテアニン生成とその部位. 茶樹におけるテアニンおよびその関連物質の代謝と制御 (第 2 報). 土肥誌 39 (9), 439~443.
- 小西茂毅, 高橋英一 (1969). 茶幼苗におけるテアニンの単車と代謝産物の再移動 茶樹におけるテアニンおよびその関連物質の代謝と制御 (第 6 報). 土肥誌 40, 479~484.
- 倉貫幸一, 山本銀男, 野崎郁徳 (1989). 冬季の被覆栽培が一番茶収量と収量構成要素に及ぼす影響について. 静岡茶試研報 14. 23~31.
- 黒田栄喜 (1994). 作物生産と光合成. 石井龍一編. 植物生産生理学. pp.6~34. 朝倉書店, 東京.
- 楠谷彰人, 浅沼興一郎, 木暮秩 (1993). 水稻における多収性の品種生態に関する研究 第 1 報 収量構造の品種間差異. 日作紀 62 (3), 385~394.
- Goto, E. (2003). Effects of light quality on growth of crop plants under artificial lighting, *Environ. Control in Biol.* 41, 121~132.
- 後藤英司 (2004). 光質と植物生育. 照明学会誌 88 (6), 336~340.
- 後藤英司 (2005). LED の植物育成分野への応用. 照明学会誌 89 (3), 142~144.
- 後藤英司 (2007). 植物生産システムにおける人工光利用. 照明学会誌 91 (4), 184~188.
- 後藤英司 (2011). 植物生産における人工光利用. 照明学会誌 95 (4), 200~204.
- 後藤哲久, 堀江秀樹, 向井俊博 (1993). 緑茶中のアミノ酸の OPA によるプレカラム誘導体化高速液体クロマトグラフィーによる分析. 茶研報 77 : 29~33.
- Lea, P.J., Sodek, L., Parry, M.A.J., Shewry, P.R. and Halhord, N.G. (2006). Asparagine in plants.

- Annals of Applied Biology 150, 1~26.
- Lefsrud M. G., Kopsell D. A., Auge M. and Both A. J. (2006). Biomass production and pigment accumulation in kale grown under increasing photoperiods. Hort. Sci. 41, 603~606.
- Lilley, R. M. and Walker, D. A. (1974) An improved spectrophotometric assay for ribulosebiphosphate carboxylase. Biochem. Acta. 358, 226~229.
- Makino, A., Mae, T. and Ohira, K. (1987). Variations in the contents and kinetic properties of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylases among rice species. Plant Cell Physiol. 28, 799~804.
- Malayeri, S. H., Hikosaka, S. and Goto, E. (2010). Effects of light period and light intensity on essential oil composition of Japanese mint growth in a closed production system. Environ. Control Biol. 48(3), 141~149.
- 牧野周 (2002). 作物葉の光合成能力と Rubisco の関係についての解析. 土肥誌 73 (3), 245~248.
- 柁木茂彦, 井澤弘一, 大山嘉信 (1978). 環境温度がアルファルファ 2 番草の非構造的炭水化物組成に及ぼす影響. 日草誌 24 (3), 216~221.
- 松井弘之 (1989). 光合成産物の生産と分配. 平野暁, 菊池卓郎編. 果樹の物質生産と収量. pp.25~81. 農文協, 東京.
- 松尾喜義 (2002). 茶樹木化根の品種系統間差異の概況. 根の研究 11 (4), 155~159.
- 深山浩 (2013). 高 CO<sub>2</sub> 環境に適した Rubisco の導入による稲の光合成能力の改良. 光合成研究 23 (1), 24~32.
- 宮本大輔, 堀本圭一 (2007). 一番茶後の刈番茶に混入する黄褐色の変色葉の発生要因. 近畿中国四国農業成果情報.
- 宮崎尚時, 矢ヶ崎和弘, 安井健 (1985). ヨウ素呈色による大豆子実のでんぷん含量の簡易測定. 日作紀 54 (2), 177~178.
- 水野卓, 金兵忠雄 (1964). 茶葉のデンプン定量法について. 茶研報 21, 77~85.
- 持田圭介 (2005). カキの主枝基部腹接ぎによる更新方法—‘西条’における環状はく皮, はく皮逆接ぎによる更新枝の早期拡大—. 園学研 4 (1), 59~62.
- 森康裕, 高辻正基 (1999). LED と LD 光がサラダナ生育に及ぼす影響. 植物工場 11 (1), 46~49.
- 讃井元, 中山仰, 加納照崇, 酒井慎介 (1966). 幼茶樹の生育に伴う体内成分の変化に関する研究. 茶試研報 4, 1~33.

- 向井讓 (2004). 低温条件下で樹木が受ける光ストレスとその防御機能. 日林誌 86 (1), 48～53.
- 村山登, 吉野実, 大島正男, 塚原貞雄, 川原崎裕司 (1955). 水稻の生育に伴う炭水化物の集積過程に関する研究. 農技研報 B-4, 123～129.
- 中本恭子, 奥達雄, 早川誠而 (1996). 野外生育環境におけるチャ葉の光合成特性. 生物環境調節 34 (4), 277～283.
- 中村道徳, 貝沼圭二 (1986). 澱粉, 関連糖質実験法 (生物化学実験法 19). pp.1～54. 学会出版センター, 東京.
- 中村充, 小川茂 (1987). 茶園土壌の物理性改善が茶樹の生育及び新芽の窒素含量におよぼす影響. 静岡茶試研報 13 : 61～70.
- 中野敬之 (2008). 秋冬期の生育診断と管理. 農文協編. 茶大百科Ⅱ. pp.299～300. 農文協, 東京.
- 中山仰, 酒井慎介 (1972). 幼茶樹の生育に及ぼす冬季土壌水分の影響. 茶技研 44, 1～7.
- 中山仰, 土井芳憲, 酒井慎介 (1979). 茶樹の生育に及ぼす光質の影響に関する研究. 茶試研報 15, 1～49.
- 成島光昭, 青山正巳 (2006). 環境に配慮した茶園施肥が茶の生育・収量に及ぼす影響. 茶研報 (別) 102, 36～37.
- Ogawa, A. and Yamauchi, A. (2006). Root osmotic adjustment under osmotic stress in maize seedlings. 2. Mode of accumulation of several solutes for osmotic adjustment in the root. Plant Prod. Sci. 9 : 39～46.
- Okano, K., Komaki, S., Matsuo, K., Hirose, D., Tatsumi, J. (1995). Analysis of canopy photosynthesis in mature tea (*Camellia sinensis* L.) bush at late autumn. J.Crop.Sci. 64 (2), 310～316.
- 尾形亮輔 (1978). 有機栄養. 岩田正利編, 果樹園芸学. pp.187～191. 朝倉書店, 東京.
- 大石貞男, 日高保, 木村政美 (1976). チャ品種の多収性と生育特性の研究. 静岡茶試研報 7, 1～32.
- 大石哲也 (2008). 春季の茶園消費水量とかん水の効果. あたらしい農業技術 No. 505. 静岡県産業部. 1～9.
- 大石哲也 (2011). 凍霜害被害茶園における被害程度と摘芽重, 摘採期との関係. 茶研報 (別) 112, 22～23.

- 大前英, 根角厚司 (1998). 茶樹休眠の季節変化とそれに伴う生化学的変化の品種, 系統間差異. 日作九支報 64, 47~49.
- 大崎満 (1990). 植物体有機成分の粗分画と定量. 植物体成分の粗分画. 植物栄養実験法編集委員会編. 植物栄養実験法. pp.204~217. 博友社, 東京.
- 岡野邦夫 (2008). 成木茶園の光合成と物質生産. 農文協編. 茶大百科Ⅱ. pp.16~27. 農文協, 東京.
- 岡野邦夫, 松尾喜義 (1994). チャにおける光合成の冬期低下現象と品種及び葉齢との関係. 日作紀 63 (2), 240~246.
- 岡野邦夫, 大前英 (1996). チャの根系を構成する様々な直径の根の生理機能の定量的評価. 日作紀 65, 605~611.
- Porra, R. J., Thompson, W. A. and Kriedemann, P. E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents : verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* 975, 384~394.
- Shahbazi, M., Gilbert, M., Laboure, A. M. and Kuntz, M. (2007). Dual role of the plastid terminal oxidase in tomato. *Plant Physiol.* 145, 691~702.
- Sharkey, T. D., Savitch, L. V. and Butz, N. D. (1991). Photometric method for routine determination of  $k_{cat}$  and carbamylation of rubisco. *Photosynthesis Research* 28, 41~48.
- Sugiyama, N. and Simura, T. (1968). Study on the varietal differentiation of frost resistance of the tea plant. V. The histochemical observation of the variation of glucose content in the stem of the tea plant during frost hardening. *Japan. J. Breeding* 18, 37~42.
- Sugiyama, N. and Simura, T. (1969). Study on the varietal differentiation of frost resistance of the tea plant. VII. The histochemical observation of amylase and phosphorylase of cortical cells of different frost resistance of the varieties. *Japan. J. Breeding* 19, 419~424.
- Suzuki, T., Kaneko, Y., Kobayashi, E., Ikka, T., Nakamura, Y. and Morita, A. (2010). Effects of light period and intensity on photomorphogenesis and constituents in new shoots of tea plant (*Camellia sinensis* L.). The 4th International Conference on O-CHA(Tea) Culture and Science 2010, Pr-P-23.
- 佐川了 (1998). ダイズ中・下位葉における光合成速度の品種間差異と子実収量. 日作紀 67 (2), 221~225.

- 西條了康, 竹尾忠一 (1978). 生育ならびにしゃ光による各種成分の代謝機能の変化. 茶技研 54, 37~43.
- 西條了康, 大沢キミコ (1981). しゃ光によるカテキン類ならびに窒素成分の生成制御. 茶研報 54, 40~45.
- 斉藤邦行 (1993). 水稲品種の多収性に関する解析的研究—とくに物質生産, 光合成に着目して—. 日作紀 62 (別), 316~319.
- 斉藤邦行, 柏木伸哉, 木下孝宏, 石原邦 (1991). 水稲多収品種の乾物生産特性の解析 第4報 穂への同化産物の分配. 日作紀 60 (2), 255~263.
- 酒井慎介 (1968). Weinmann 法による茶樹炭水化物簡易定量法の検討. 茶研報 29, 21~27.
- 酒井慎介 (1987). 茶樹の光合成ならびに物質生産に関する研究. 茶試研報 22, 19~262.
- 佐瀬勘紀, 小綿寿志, 石井雅久, 森山英樹, 福田直也 (2003). LED の局部補光による園芸作物の形態制御. 平成 14 年度農業工学研究成果情報. ([http://www.affrc.go.jp/ja/agropedia/seika/data\\_nkk/h14/html/25/25](http://www.affrc.go.jp/ja/agropedia/seika/data_nkk/h14/html/25/25))
- 関谷直正, 山下正隆 (1988). 一番茶後におけるせん枝強度が樹体内炭水化物の蓄積消長に及ぼす影響. 野菜茶試研報 D1, 79~89.
- 島崎研一郎, 木下俊則 (2001). 青色光受容体のシグナル伝達. 和田正三・徳富哲・長谷あきら・長谷部光泰監修. 植物の光センシング. pp.114~122. 秀潤社, 東京.
- 清水達夫, 鳥潟博高, 鳥居鎮男 (1978). 温州ミカンの着果負担に関する研究 (第5報) 着果樹と不着果樹の炭水化物経済について. 園学雑 46, 465~478.
- 静岡県経済産業部 (2013). 樹齢別茶園面積. 静岡県茶業の現状. pp.48.
- 静岡県農林水産部 (2000). チャの栽培. 茶生産指導指針. pp.17~68.
- 静岡県産業振興財団 (2013). 強遮光による「白葉茶」栽培法の確立. 静岡県, 静岡市地域結集型研究開発プログラム成果集. pp.3.
- 杉山和美 (1992). ウンシュウミカンの隔年結果と貯蔵養分に関する研究 第1報 青島温州幼木における冬季の炭水化物および窒素化合物の形態, 存在部位. 静岡柑試研報 24, 61~70.
- 杉山泰之, 大城晃 (1999). 温州ミカンの根中および枝中デンプンの簡易測定法 (第1報) 屈折糖度計, ヨウ素デンプン反応, F-キットスターチ利用による測定法. 静岡柑試研報 28, 11~17.
- 杉山泰之, 大城晃 (2001). ウンシュウミカンの栄養診断のためのヨウ素比色法によるデン

- ブン簡易測定法. 土肥誌 72 (1), 81~84.
- 角明夫, 箱山晋, 翁仁憲, 縣和一, 武田友四郎 (1996). 水稻登熟過程における穂重増加を支配する稲体要因の解析. 第2報 穎花の同化産物受容効率に及ぼす出穂期貯蔵炭水化物の役割. 日作紀 65 (2), 214~221.
- 高橋国昭, 倉橋孝夫 (1983). ブドウ個葉の光合成特性. 園学要旨 昭 58 春, 120~121.
- 武田友四郎 (1971). 光合成の意義と研究の歴史. 作物の光合成と物質生産, 戸莉義次監修. pp.1~14. 養賢堂, 東京.
- 竹尾忠一 (1981). 茶の滋味に關与するテアニンを中心とした茶樹の窒素代謝. 茶試研報 17, 1~68.
- 竹内宏治, 井熊武志, 高橋裕司, 匂坂慶子, 高澤俊英 (2001). 高感度フェノール硫酸法. 帯大研報 22, 103~107.
- 滝本雅章, 木下忠孝, 白井一則, 辻正樹 (2006). 砂耕栽培から見た被覆茶樹の養分吸収特性. 茶研報 (別) 102, 46~47.
- 田中博一, 志田原崇 (2005). LED を利用したトルコギキョウの人工光源育苗. 平成 17 年度近畿中国四国農業研究成果情報. 近畿中国四国農業研究センター. 327~328.
- 田中淳一 (2011). チャ品種・系統における葉身傾斜角度と収量性との関係. 育種学研究 13, 89~98.
- 田中敏弘, 岩倉勉, 山中浩文, 嶽崎亮, 野中寿之 (1991). 秋から春までの整枝時期が一番茶の収量・品質に及ぼす影響. 茶研報 73, 31~38.
- 上田真也 (2008). かぶせ茶栽培の実際. 農文協編. 茶大百科Ⅱ. pp.328~332. 農文協, 東京.
- 梅崎輝尚, 佐藤邦夫, 高木滋樹 (2004). 水稻葉身の外観に及ぼすレーザー照射の影響. 日作紀 73 (1), 103~106.
- 白田秀明 (1992). 炭素代謝. 宮地重遠編. 光合成. pp.38~56. 朝倉書店, 東京.
- Weinmann, H. (1947). Determination of Total Available Carbohydrates in Plants Plant Physiol. 22, 279~290.
- 渡辺毅, 福井博一, 中村三夫 (1990). ウメ樹における枝の齡と全アミノ酸及び可溶性糖類, デンプン含量の関係. 園学雑 59 (3), 641~648.
- Xing, Y. and Zhang, Q. (2010). Genetic and molecular bases of rice yield. Annu. Rev. Plant Biol. 61, 421~442.

- Xu, Q., Huang, B. and Wang, Z. (2004). Effect of extended daylength on shoot growth and carbohydrate metabolism for creeping bentgrass exposed to heat stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 129, 193~197.
- 徐銀発, 大川泰一郎, 石原邦 (1997). 多収性水稻品種タカナリの光合成特性の解析. *日作紀* 66 (4), 616~623.
- Yahata, D., Matsumoto, K. and Ushijima, K. (2006). The effect of the time of fruit harvest on flower formation and carbohydrate contents in shoots of Wase Satsuma mandarin trees. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75 (1), 32~37.
- Yakushiji, H., Nonami, H., Fukuyama, T., Ono, S., Takagi, N. and Hashimoto, Y. (1996). Sugar accumulation enhanced by osmoregulation in *Satsuma mandarin* fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121, 466~472.
- Yamamoto, S., Misumi, M. and Nawata, E. (2008). Effects of photoperiod on vegetative growth, flowering and fruiting of *Capsium frutescens* L. and *C. annuum* L. in Japan. *Environ. Control Biol.* 46(1), 39~47.
- Yano, T., Inoue, H., Shimizu, Y. and Shinkai, S. (2002). Dry matter partitioning and carbohydrate status of 'Kawanakajima Hakuto' peach trees grafted onto different rootstocks or with an interstock at pre-bloom period. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 71(2), 164~170.
- 山岸徹 (1994). 作物生産と窒素の吸収・代謝. 石井龍一編. 植物生産生理学. pp.89~91. 朝倉書店, 東京.
- 山下正隆 (1984). 収量構成要素による一番茶多収条件の解析. 茶研報 59, 19~27.
- 山下正隆 (2008a). 根系としてみた場合の根の特性. 農文協編. 茶大百科Ⅱ. pp.48~50. 農文協, 東京.
- 山下正隆 (2008b). チャの収量構成要素. 農文協編. 茶大百科Ⅱ. pp.81~82. 農文協, 東京.
- 山下正隆, 田中勝夫, 関谷直正 (1982). 一番茶摘採残葉の多少が夏期の炭水化物の消長および新芽生産に及ぼす影響. 茶研報 56, 7~15.
- 山下正隆, 武弓利雄, 佐波哲次 (1996). 94年夏季の干ばつが茶樹の根の活力及び翌年一番茶収量に及ぼす影響. 茶研報 82, 15~20.
- 山谷知行 (1990). 窒素代謝関連酵素活性測定法. アンモニア同化酵素. 植物栄養実験法編集委員会編. 植物栄養実験法. pp.263~270. 博友社, 東京.

- 築瀬好充, 青野英也, 田中静夫, 杉井四郎 (1974). しゃ光の程度が茶の収量ならびに品質に及ぼす影響. 茶技研 47, 48~53.
- 築瀬好充, 青野英也, 此本晴夫 (1994). 茶園の気象災害. 岩浅潔編. 茶の栽培と利用加工. pp.245~265. 養賢堂, 東京.
- 矢野隆, 新開志帆, 井上久雄, 森口一志 (2000). 衰弱発生程度の異なるユスラウメ台木モノ樹 2 品種のデンプン, 可溶性糖含量の季節的变化. 園学雑 69 (6), 711~717.
- 米山忠克 (1990).  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{N}$  の利用法.  $^{15}\text{N}$  の利用. 植物栄養実験法編集委員会編. 植物栄養実験法. pp.291~297. 博友社, 東京.
- 米山忠克, 林浩昭 (1991). 転流. 茅野充男編. 物質の輸送と貯蔵. pp.128~145. 朝倉書店, 東京.
- 葭田隆治, 園田真紀 (2006). 水稻葉における付着泥土が光合成能力に及ぼす影響. 北陸作物学会報 41, 166~168.