

紫レーザー励起蛍光分析によるトマト水耕養液中の 蛍光性有機物と栄養成長の関係

上野諒子¹⁾・Pham Nguyen To QUYEN¹⁾・井上直人¹⁾・倉内伸幸²⁾・加藤 太²⁾

¹⁾ 信州大学農学部, 南箕輪村, 〒399-4598

²⁾ 日本大学生物資源科学部, 藤沢市, 〒252-0880

要 約

養液栽培は養液の成分の安定性に問題があり, 水中の有機物量の増加により, 植物の栄養成長が不安定になる。そこで, 本実験では水耕養液中の有機物と無機物がトマトの成長に及ぼす影響について検討することを目的に行った。トマト品種「ハウス桃太郎」を用いて, 養液栽培実験を9反復で行った。水耕養液中の電気伝導度 (EC), 全有機炭素 (TOC), 蛍光性物質 (養液サンプルは紫レーザーで励起し, スペクトルの波長500nmの値をFMとした。) および pH を測定した。その結果, ECが増加するほど茎長は短かった。FMとECは相乗的に茎長に影響を及ぼすことが明らかになり, その最適値が存在することも示唆された。TOCは, FMとの相関はなく, 茎長との関係は認められなかった。また, pH値と栄養成長の間に関係は認められなかった。このことから, トマトの養液栽培における安定的な栄養成長のためにはECやpHと同様にFMのモニタリングが有効であると考えられた。

キーワード: 蛍光性物質, 全有機炭素, 電気伝導度, トマト, 養液栽培

緒 言

近年, 養液栽培は連作障害を回避し, 軽作業で省力的に生産ができる方法の1つとして注目されている¹⁾。しかし, 化学肥料を用いる養液栽培は, 根圏を無機的環境にすることで微生物群・有用細菌群が変動することや, 有機物の蓄積によって植物の栄養成長が不安定になる^{2),3),4),5)}。そのため, 培養液の一部もしくは全量交換を定期的に行われている³⁾。その作業は重労働であり, 廃液処理にも問題があるため, 活性炭を利用した有機物の除去^{3),4),6),7)}も行われている。他方で, 有機物を積極的に利用する有機養液栽培法⁸⁾も提案されている。以上のように, 養液栽培において有機物の影響は無視できない。

しかしながら, 養液中の有機物をモニタリングして, 従来の測定項目であるECやpHに加えて, 植物生理活性との関係を論じたものは見当たらない。そこで本研究では, 有機物の測定に主軸を置き, TOC (全有機炭素) とFM (蛍光性物質) を測定した。TOCは水道法⁹⁾において上水道の水質を調査する指標として用いられている。そのため, 養液栽培の水質を管理する上でも有用であるとして測定

した。FMの測定には, アミノ酸¹⁰⁾や多環芳香族化合物^{11),12)}の検出が可能であるレーザー励起蛍光分析 (Laser Induced Fluorescence: LIFと略す) を用いた。励起光源には紫色光を用いた。紫色光には光源を光ファイバーで誘導でき, 青色蛍光スペクトルを取得でき, UVほどではないものの励起力が強く, 測定機が低コストであるといった多くの利点がある。そのため実用的な養液管理に有用であると考えた。

本研究は有機物のモニタリングが栽培管理において意義があるかを検討するために, 水耕養液中の有機物と無機物がトマトの栄養成長に及ぼす影響について調べた。

材料および方法

ガラス室にて家庭用水耕栽培キット (ホームハイポニカ601, 協和) を用いてトマト (*Solanum lycopersicum*, 品種ハウス桃太郎, タキイ種苗) の養液栽培実験を行った。播種は2013年2月28日に行い, 家庭用水耕栽培キット1個に1苗を2013年4月25日に移植し, 9個体を栽培した。各々の水耕栽培キット (直径46.7cm × 高さ30cm) は大型なので反復とし, 合計9反復とした。施肥は液肥によって行い, その施肥はホームハイポニカA・B (協和株式会社) を用い, 水1.5ℓに対してA液3mlとB

受付日 2015年12月14日

受理日 2016年2月2日

液 3ml を加えて、作成した。その時の A 液の硝酸性窒素 1.0%, 水溶性リン酸は 3.8%, 水溶性カリは 5.5%, 水溶性マグネシウムは 1.0%, 水溶性マンガンは 0.027%, 水溶性ホウ素は 0.055% の成分が含まれている。B 液には、硝酸性窒素は 3.0%, 水溶性カリは 3.9% の成分が含まれている。水耕養液の化学性は急激に変化することがあるために、1 週間に 1 回水の入れ替えを行い、施肥を行った。茎長とクロロフィル数値（葉緑素計 SPAD-502, コミカミノルタ センシング）の測定を行った。

養液のサンプルは、移植して、約 1 カ月後の 2013 年 6 月 3 日（1 段花が着花し、栄養繁殖が盛んであると推測される時期）に採取した。なお、最後の水耕養液の交換は 2013 年 7 月 18 日に行った。蛍光分析は、レーザーを用いて行った（図 1）。サンプル 30 ml を暗箱中で紫レーザーを照射し、励起させた。励起光源は、レーザー用電源として SPU-60M（オーディオテクニカ）、レーザーモジュールとして SU-61C-405-40（オーディオテクニカ）を使用した。レーザーの中心波長は 405nm、連続照射とした。光ファイバーの先端からサンプルまでの距離は 2.8 cm した。レーザーの出力はサンプルへの照射部分において 28mW/cm² であった。照射部における励起光の強度は、3664OPTICAL POWER METER（日置電機株式会社）で計測した。470nm 以下の蛍光はロングパスフィルターで除去し、マルチチャンネル分光器 PMA-11（浜松ホトニクス）を使用した。PMA-11 は露光時間 1000ms、1 サンプルあたり 30 回繰り返して行い、レーザー励起蛍光値（Laser-induced fluorescence: LIF と略す）を取得した。取得した 30 個のスペクトルの平均値に 5nm の移動平均をとり、スムージング処理を行ったものを、1 つのサンプルから得られた LIF スペクトルとした。EC 値は EC メーターとして PCD-431（佐藤商事）を用いて測定を行った。有機物が多いと 470~550nm の蛍光量が増加する^{13),14)} ことから、スペク

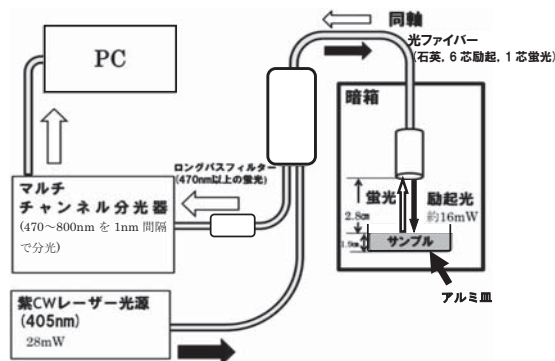


図1 紫レーザー励起蛍光分析システムの概略図

トルの波長 500nm の値を FM とし（図 2）、EC を無機イオンの指標とし、養液中の有機物と無機物との栄養成長の関係について調べた。なお、データの解析についてはエクセル及びエクセル統計 ver.2007 で行った。水素イオン指数（pH 値）は pH-222（佐藤商事）を用いて測定をした。

また、TOC は TOC-L（島津製作所）を用いて調べ、水耕養液中の全有機炭素と栄養成長の関係について調べた。

結果および考察

EC 値が高い個体では、トマトの茎長は低い傾向にあった（図 3）。これは、この実験の水耕養液における塩類の濃度障害の可能性が考えられた。EC 値が高くなるほど、吸水量が減少し、光合成や蒸散速度が抑制される¹⁵⁾ ために、成長に影響を及ぼしたと考えられる。

FM は茎長との関係があることが明らかになり、

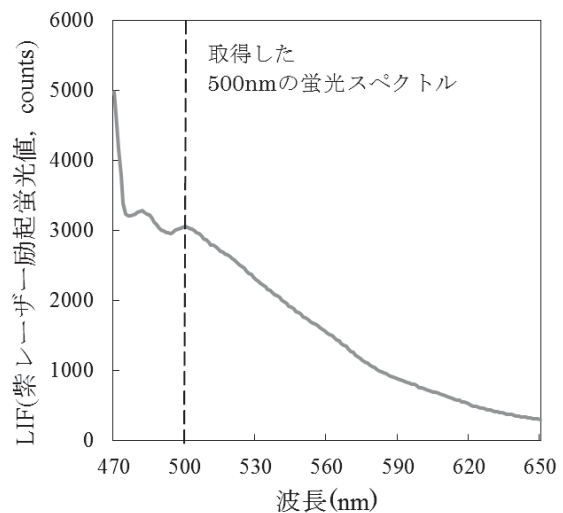


図2 LIF のスペクトル

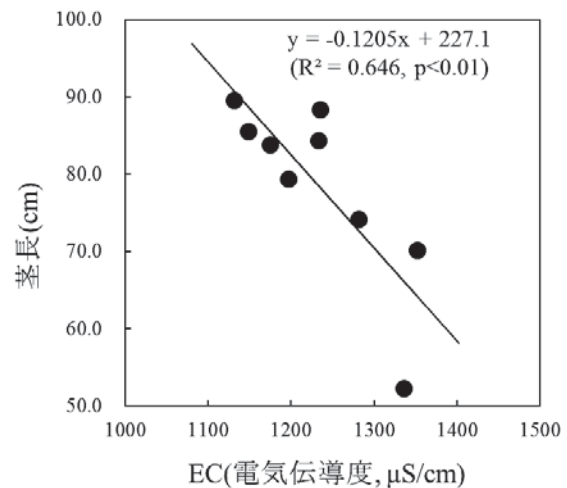


図3 EC が茎長に及ぼす影響

水耕養液中における FM の値が2500以上で茎長が短くなることが示唆された(図4)。FMの変動は、培養液中の根圏環境が深く関与していると考えられる。培養液中の根圏環境は、根から剥離と脱した腐敗物と根からの酸やそれらを栄養源にする微生物の分泌物と代謝産物などである。培養液中に分泌され、分解し溶解している物質は、各種糖類、有機酸、アミノ酸、ビタミン、ホルモン、酸素、抗生物質、核酸物質などの有機物である⁵⁾。それらの有機物の中でもトマトの根から出される有機酸は、安息香酸、フタル酸、ヒドロキシ安息香酸、パルミチン、フェルラ酸、フェニル酢酸、バニリン、カフェ酸などの成分が同定されたとの報告がされている¹⁶⁾。また、根から溶出するフェノール物質が栄養成長を抑制したと報告もされている¹⁶⁾。これらは多量に存在すると栄養成長を阻害する¹⁷⁾。これらの有機酸のうち、蛍光性有機物は安息香酸、フェルラ酸、ヒドロキシ安息香酸、カフェ酸などである。これらが増加することにより還元的になり、トマトの茎長の伸長が抑制されると考えられた。FM と EC の相乗作用があると考え、FM × EC を算出して解析した。その結果、トマトの茎長を精度よく説明できることが明らかになった(図5)。二次関数のあてはまりは良好

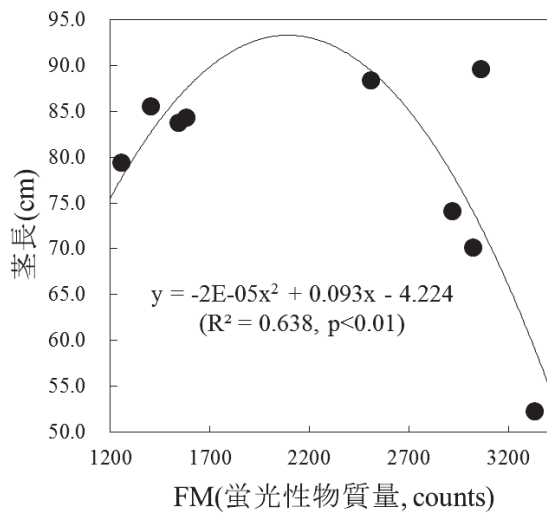


図4 FM が茎長に及ぼす影響

で ($R^2=0.922$), 水耕養液中においての FM × EC が2000000~3000000の範囲では、この値が増加すると茎長が長くなり、それ以上の値では逆に短くなることを示唆された。これは、成長促進と濃度障害による茎長の伸長抑制の2つの動きが考えられたため、ピークをもった曲線をあてはめた。

また、それぞれの個体で茎長と葉の濃さに差がみられたため、苗の健全度指数として、SPAD/茎長で定義した。一般に、「徒長せず、緑色が濃い個体は健全な成長を示すもの」と考えられることから、それを指数化したものである。光合成速度に関係するクロロフィル含量として、指数には SPAD 値と実際の伸長として茎長の2つをパラメーターとして構成した。この健全度指数と水耕養液中の FM と EC の関係を調べたところ、FM × EC が大きくなるほど健全度指数も大きくなることを示唆された(表1)。また、TOC と栄養成長との関係も認められなかった(表1)。pH と茎長との関係および pH と健全度指数とのそれぞれの関係にも相関は認められなかった(表1)。

本実験において、水耕養液中には無機肥料だけを用いていたことから、FM がトマトの根の破片や根から溶出した有機物や養液中の微生物由来する有

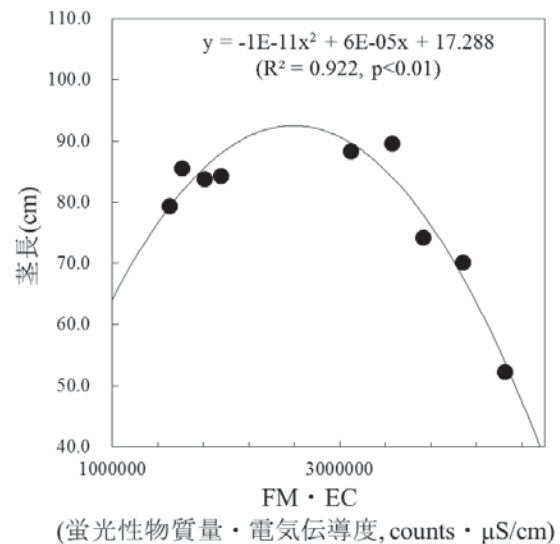


図5 FM と EC の相乗作用が茎長に及ぼす影響

表1 水耕養液の環境パラメーターと成長の相関関係。

環境パラメーター	茎長 (cm)	健全度指数 (SPAD/茎長)
pH (水素イオン指数)	0.209 n.s.	0.198 n.s.
EC (電気伝導度 $\mu\text{S}/\text{cm}$)	0.804 **	0.831 **
TOC (全有機炭素量 mg/L)	0.500 n.s.	0.425 n.s.
FM (蛍光性有機物量 counts)	0.796 *	0.661 n.s.
FM × EC (counts · $\mu\text{S}/\text{cm}$)	0.960 **	0.965 **

**: $p<0.01$ *: $p<0.05$

機物を反映していると推察された。これらの有機物は、過剰の場合にはアンモニアを発生し、栄養成長を阻害すると報告されている¹⁸⁾。この実験でも水耕養液中の蛍光性有機物が多すぎると、茎長の成長に負の影響を及ぼしていると推察された(図4)。

紫レーザー励起蛍光分析で測定が可能な FM は、蛍光性有機物と蛍光性無機物であり、蛍光性無機物は主に希土類元素に少量の不純物を添加した金属酸化物であり、そのような物質は培養液中に含まれないと推測された。そのため、FM のうち、蛍光性有機物が特に栄養成長と関係があることが示唆された。また、TOC と栄養成長の関係が見られなかったことから、無蛍光性有機物は関係がないことが推測された。蛍光性有機物を構成するのは、芳香族の炭化水素が中心と考えられるが、その蛍光値で成長量が最大となる値が見られた原因は3つ考えられる。1つは、根から有機物が直接吸収されたことである¹⁹⁾。2つ目は、根圏において有機物が存在することにより、根毛が発達し、根全体を微生物が覆うバイオフィームを形成することで、有機物の分解が促進され、植物の栄養成長を良好にした可能性である¹⁸⁾。3つ目は、有機物が還元剤としてミネラル養分の吸収を促進したことである²⁰⁾。

このことから、今後の養液栽培において pH や EC と同様に蛍光性有機物をモニターする意義があると考えられた。紫レーザー励起蛍光法は安価で1本の光ファイバーで入出力でき、安定性も高く実用的と考えられた。今後の展望としては、実験サンプルを増やし、EC と同時にレーザーやより安価な LED による励起で蛍光性有機物をモニターすることの栽培管理上の有効性を検証していきたい。

謝 辞

TOC の計測では長野県野菜花き試験場の吉田清志、矢口直輝、斎藤龍司、出澤文武の指導の下に行った。ここに感謝の意を表します。

引用文献

- 1) 板木利隆, 1996. 養液栽培の導入と発展, 社団法人 日本施設園芸協会編, 『最新養液栽培の手引き』誠文堂新光社, p.2-10.
- 2) Elroy L.Rice 著, 八巻敏雄, 安田環, 藤井義晴 訳, 1984. 『アレロパシー』学会出版センター, p.67.
- 3) 磯崎真英, 2012. 培地・培養液のリサイクル, (社)日本施設園芸協会/日本養液栽培研究会 共編, 『養液栽培のすべて 植物工場を支える基本技術』, 誠文堂新光社, p.322-328.
- 4) Ehret, D. L. , J. G. Menzies and T. Helmer 2005. Production and quality of greenhouse roses in recirculating nutrient system. *Scientia Horticulturae*. 106 : 103-113.
- 5) 山崎肯哉 1982. 『養液栽培全編』博友社, p.60-64.
- 6) 浅尾俊樹, 梅山元正, 太田勝巳, 細木高志, 伊藤憲弘, 植田尚文 1998. 水耕キュウリの培養液非交換による収量の減少と活性炭添加による回復. 園芸学会雑誌. 67(1) : 99-105.
- 7) Yu, J. Q. , Lee, K.S. and Y. Matsui 1993. Effect of the Addition of Activated Charcoal to the Nutrient Solution on the Growth of Tomato in Hydroponic Culture. *Soil Science and Plant Nutrition*. 39 (1) : 13-22.
- 8) 篠原 信 2006. 有機肥料の養液栽培—並行複式無機化法による養液内微生物生態系構築法— 農業および園芸. 81(7) : 753-764.
- 9) 厚生労働省. 水道法第4条 平成21年4月1日施行.
- 10) Fuchigami. T, Imasaka. T, Shiga. M 1993. Subattomole detection of amino acids by capillary electrophoresis based on semiconductor laser fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*. 282 : 209-213.
- 11) Imasaka. T, Nishitani. K, Ishibashi. N 1991. Cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography combined with semi conductor laser fluorimetry. *Analyst*. 116 : 1407-1409.
- 12) Saito, Y. Monitoring raw material by laser-induced fluorescence spectroscopy in the production. Edited by Zude, M. 2009. *Optical Monitoring of Fresh and Processed Agricultural Crops*. p.319-335.
- 13) 織井 孝治, 井上 直人, 関沼 幹夫 2012. 北陸作物学会報. 紫レーザー励起蛍光 (V-LIF) を用いた土壌可給態窒素の測定. 48 (別号) : 20.
- 14) 井上 直人, 織井 孝治, 関沼 幹夫, 吉田 清志 2014. クロボク土壌における地力関連化学形質の紫レーザー励起蛍光分析. 信州大学 AFC 報告. 12 : 79-84
- 15) 北条雅章・伊東正・田中晶子 1996. 生育段階に応じて EC 値を変えて栽培した NFT トマトの生育, 収量, 品質および生理的特性. *生物環境調節*. 34 (2) : 129-134.
- 16) Yu, J. Q. and Y. Matsui 1993. Extration and Identification of Phytotoxic Substances Accumulated in Nutrient Solution for the Hydroponic Culture of Tomato. *Soil Science and Plant Nutrition*. 394 : 691-700.
- 17) Lee, J. G. , B.Y. Lee, H.J. Lee 2006. Accumulation of phytotoxic organic acid in reused nutrient

- solution during hydroponic cultivation of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Scientia Horticulturae*. 110 : 119-128.
- 18) 篠原 信 2007. 養液栽培における有機物を活用した根部病害抑止技術. *植物防疫*. 61(1) : 17-20.
- 19) Chapin III, F .S. , L. Moilanen and K. Kielland 1993. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal arctic sedge. *Nature*. 361 : 150-15.
- 20) 矢野勝也, 1998. 根の分泌物質と養分吸収, 根の事典編集委員会編者, 『根の事典』, 朝倉書店, p. 335-337.

Summary

Relationship between tomato vegetative growth and violet laser-induced fluorescence from water in hydroponic culture

Ryouko UENO¹⁾, Pham Nguyen To QUYEN¹⁾, Naoto INOUE¹⁾
Nobuyuki KURAUCHI²⁾ and Futosi KATO²⁾

¹⁾Faculty of Agriculture, Shinshu University, Minamiminowa, 399-4598, Japan,

²⁾College of Bioresource Science, Nihon University, Fujisawa, 252-0880, Japan

The nutrient solution of water hydroponic cultures often fluctuates due to change in organic matter, which can affect crop growth stability. In this experiment, we investigated the relationship between shoot growth and amounts of organic and inorganic materials in the solution using the tomato variety "House Momotaro". The experiments were carried out 9 replications in the green house. Electric conductivity (EC), pH, total organic carbon (TOC), and fluorescent materials (FM) were measured during the experimental period. FM was estimated by blue fluorescence(500nm) induced by a violet-laser. FM and EC values related to the stem growth, and a higher EC depressed the length. The value of EC*FM influenced the vegetative growth, and the results suggested that there was the optimum value of EC*FM to govern the growth. TOC did not correlate with FM and shoot length. The pH value also did not affect shoot growth. From the results, FM monitoring by violet laser-induced fluorescence suggested to be useful tool under water hydroponic culture of tomato.

Keywords : Electrical conductivity, Fluorescent matter, Hydroponic culture, Tomato, Total organic carbon