

茨城農総セ
生工研研報
Bull. Ibaraki
Plant Biotech. Inst.
No. 2 1998

ISSN 1341-2809

BULLETIN
OF THE
PLANT BIOTECHNOLOGY INSTITUTE
IBARAKI AGRICULTURAL CENTER

NO. 2
February 1998

茨城県農業総合センター
生物工学研究所研究報告

第 2 号
平成 10 年 2 月

茨城県農業総合センター
生物工学研究所

茨城県西茨城郡岩間町安居 3 1 6 5 - 1
Ago, Iwama, Nishi-Ibaraki, Ibaraki 319-0292, Japan

目 次

陸稲輪作による野菜連作障害軽減効果の機作に関する研究	1
— 陸稲中に含まれるフェノール性酸の役割と利用法 —	
陸稲新品種「ゆめのはたもち」の育成	57
培養変異を利用したイチゴ新品種「アンテール」の育成	75
グラジオラス無菌植物の葉からの不定胚および不定芽形成による植物体再生	83
茨城県内のグラジオラスに発生したウイルス病に関する研究	91
ホオズキ (<i>Physalis alkekengi</i> L.) の成長点培養によるタバコモザイクウイルスの除去とその増殖	99

陸稲輪作による野菜連作障害軽減効果の機作に関する研究

—— 陸稲中に含まれるフェノール性酸の役割と利用法 ——

林 幹 夫

目 次

第Ⅰ章 序 論	1
1. 研究の背景と目的	1
2. 研究の構成	1
第Ⅱ章 陸稲に起因する微生物活性化物質の探索	1
第1節 陸稲根から糖およびアミノ酸類の分泌	2
1. 明所および暗所条件下における糖およびアミノ酸の分泌	2
2. 液肥培地培養条件下における糖およびアミノ酸の分泌	3
3. 陸稲の栄養条件と糖およびアミノ酸の分泌	6
第2節 陸稲中に含まれる糖, アミノ酸, フェノール性酸	8
1. 陸稲その他数種作物に含まれる可溶性糖	8
2. 陸稲その他数種作物に含まれる遊離アミノ酸	10
3. 陸稲その他数種作物に含まれるフェノール性酸	12
第Ⅲ章 陸稲中に含まれるフェノール性酸の諸特性	16
第1節 フェノール性酸が土壤微生物の増殖および土壤微生物相に及ぼす影響	17
1. 土壤微生物の増殖に及ぼす影響	17
2. 土壤微生物相に及ぼす影響	20
3. 土壤糸状菌フロラに及ぼす影響	22
4. <i>p</i> -クマル酸の土壤中での分解	24
第2節 ゴボウ苗立枯病菌およびゴボウ萎ちょう病菌に対するフェノール性酸の抗菌作用と 発病に及ぼす影響	25
1. ゴボウ苗立枯病菌およびゴボウ萎ちょう病菌に対する抗菌活性	25
2. ゴボウ苗立枯病の発病に及ぼす影響	28
3. ゴボウ萎ちょう病の発病に及ぼす影響	31
第3節 陸稲およびゴボウに対するフェノール性酸の生育阻害作用	32
1. 陸稲に対する生育阻害作用	33

2. ゴボウに対する生育阻害作用	34
第IV章 陸稲中に含まれるフェノール性酸によるゴボウ連作障害の軽減	36
第1節 ゴボウ連作障害の特徴とフェノール性酸がゴボウの初期生育に及ぼす影響	36
1. ゴボウ連作障害の特徴	36
2. フェノール性酸処理濃度が初期生育に及ぼす影響	38
第2節 ゴボウ連作障害軽減のためのフェノール性酸施用法	40
1. <i>p</i> -クマル酸, フェルラ酸の施用回数および併用	40
2. 各種フェノール性酸の効果	43
3. フェノール性酸の施用位置	45
第V章 総合考察	47
第VI章 摘要	50
謝 辞	52
引用文献	52
英文要約	55

第 I 章 序論

1. 研究の背景と目的

多くの畑作物は連作すると生育・収量の低下、品質の悪化をまねくいわゆる連作障害をおこす。それを回避するためには、作物の組合せによる輪作が望ましい（坪ら 1979, 大久保 1976）が、野菜の銘柄産地化や産地間競争の展開により、単一作物の連作を余儀なくされ、連作障害の発生が大きな問題となっている。

現在その対策として、土壌消毒や農薬の多数回使用などによる対症療法的な手段や、作付地の移動などの緊急避難的対策がとられているが、農薬の長期連用は作物への農薬残留、土壌蓄積および大気中への揮散などによる土壌生態系の攪乱と人畜への影響が懸念されている。そこで近年、環境保全型農業が提唱され、自然生態系内でおこる植物と微生物、あるいは植物と植物間の相互関係を利用した環境にやさしい農業技術の開発が望まれている。

茨城県ではゴボウ、スイカ、ハクサイの産地では陸稲やトウモロコシなどのイネ科作物を組入れた 3～4 年輪作を行ない、土壌消毒に頼らずに長く産地を維持している例がある。そこでは経験的に陸稲が連作障害を軽減する効果があることが知られていたが、なぜ効果があるのかについては未だ十分に解明されていない。

野菜の連作障害の原因について農林水産技術会議（1977）や農林水産省野菜試験場（1978）が全国的なアンケート調査を実施した結果によると、病害によるものとするものがもっとも多かった。そこで、著者は陸稲作付が野菜類の連作障害軽減の効果があるのは、①陸稲中のある物質が病原菌以外の土壌微生物を増殖させ、その結果として病原菌に対する拮抗作用を現わす。あるいは、②陸稲中のある物質が野菜類の連作によって増加した土壌病原菌群に対し抗菌作用を有しているためではないかと考えた。

作物の根が分泌する物質や作物体中に含まれる有機物質については多数の報告があるが、これらの物質と特定の連作障害をおこす病原菌との関係についての報告はあまり多くはない。

また、陸稲中に含まれるフェノール性酸は陸稲自体の生育を阻害し、その連作障害（忌地現象）の原因物質と考えられてきた（宗像ら 1959, 鈴木 1972）が、これが

他の作物に対する影響についての研究は少ない。そのため、これらの有機物質を連作障害軽減に積極的に活用しようとした研究はほとんどない。

本研究の目的は、上述の仮説のもとに、陸稲作付けによる野菜類の連作障害軽減の機作を解明し、そこから得られた知見を応用して、農薬の環境負荷を軽減する環境保全型の連作障害軽減技術を開発しようとした。

2. 研究の構成

本研究は大きく 3 つの内容からなっている。

第 1 は陸稲に起因する微生物活性物質の探索である。ここでは野菜連作障害の主要因である土壌病原菌および土壌微生物の増殖に影響を及ぼすと考えられる、陸稲根が分泌する糖とアミノ酸および陸稲と数種他作物の根と茎葉中に含まれる糖、アミノ酸、フェノール性酸の種類と量を検討した。

第 2 は陸稲中に含まれるフェノール性酸類の諸特性の解明である。ここでは、フェノール性酸の、①土壌微生物の増殖および土壌微生物相、土壌糸状菌フロラに及ぼす作用、②土壌病原菌に対する抗菌作用と発病に及ぼす影響、③ゴボウと陸稲に対する生育阻害作用について検討を行った。

第 3 は連作ゴボウに対するフェノール性酸の効果とその適正な施用法に関する実証試験である。前述までの試験結果から陸稲中のフェノール性酸の施用により、連作障害軽減効果が期待されるものと考え、ゴボウの連作圃場を造成し、その連作土壌を利用した室内試験および圃場レベルでのフェノール性酸の施用法について検討を行った。なお、この論文は 1987 年から 1993 年に実施した茨城県バイオテクノロジー研究「根圏有用微生物による土壌活性化技術の開発」を取りまとめたものである。この論文の一部は茨城県農業試験場研究報告（林ら 1990, 1991）、日本土壤肥料学雑誌に報告した（林 1996, 1997 a, 1997 b）。

第 II 章 陸稲に起因する微生物活性物質の探索

植物の根とその周辺の根圏には、非根圏より数倍から数十倍の密度で微生物が生息（松口 1992）、作物根の分泌物と微生物の関わりが作物生育上大きな関心の的になっている。

輪作における陸稲の他作物に対する作用機作について

は不明であるが、著者は、前述のように、陸稲根からの分泌物質あるいは陸稲中のある物質が土壤微生物に関与し、土壤環境を改善することが、陸稲のもつ重要な役割(輪作機能)であると仮定した。

作物根からの分泌物質に関する研究は、数多くなされており、Ravira (1962) は作物と分泌物質を整理して紹介している。しかしながら、陸稲に関する知見は見あたらないので、本章では第1節で陸稲根からの糖、アミノ酸の分泌、第2節で陸稲中に含まれる糖、アミノ酸、フェノール性酸について試験し、陸稲に起因する微生物活性化物質の探索を行った。

第1節 陸稲根から糖およびアミノ酸類の分泌

土壤微生物にとって重要な栄養源である糖、アミノ酸類に注目し、陸稲の根からの分泌について試験を実施した。

1. 明所および暗所条件下における糖およびアミノ酸の分泌

幼苗期の陸稲の根から分泌される糖およびアミノ酸の種類と量、それらが光合成の有無によってどのように影響されるかについて試験した。なお、本試験は、分泌された物質が微生物によって分解されないように、無菌培養条件下で実施した。

1) 材料および方法

(1) 供試陸稲品種と分泌物質の採取方法

陸稲品種はトヨハタモチを供試した。試験管(直径1.5 cm, 長さ18 cm)に、1%寒天液10 mlを加え、オートクレーブで殺菌し、放冷後この培地上に、籾殻を除去して10%次亜塩素酸ナトリウムで消毒した陸稲種子を2粒づつ播種し、シリコン栓をして培養した。陸稲根から分泌された糖・アミノ酸の抽出は、植物体中からの可溶性糖および遊離アミノ酸の抽出法(戸刈ら, 1957)に準じ、80%エタノールで行った。培養1週間後と2週間後、陸稲を根毛ごと静かに抜取った寒天培地に80%エタノールを10 ml加え、振とう後口過した。再度80%エタノール10 mlで抽出し、ロ液を合せた。ロータリーエバポレーターでエタノールを除去したものを、陸稲根からの分泌物質を含む溶液(以下分泌液と呼ぶ)とした。

(2) 試験区の構成

試験区は採取時期と光合成の有無を組み合わせた。分泌液の採取は播種1週間後と2週間後に行った。光合成

の影響を調べるため、2日間30℃の恒温槽で発芽させた後、アルミホイルで覆って遮光した区を暗所栽培、アルミホイルで遮光しない区を明所栽培とし、室内で生育させた。それぞれ、10試験管20株を1試験区とした。

(3) 分析方法

① 糖類の分析

分泌液を陽イオン交換樹脂(アンバーライト I R 120 B H⁺型)、陰イオン交換樹脂(アンバーライト I R A 200 C O³⁻型)を通過させた中性画分を減圧濃縮し、高速液体クロマトグラフ(島津 LC-6 A)で測定した。分析条件等は島津高速液体クロマトグラフ分析法(島津高速液体クロマトグラフ応用データ集 1988)に従った。分析条件は次のとおりである。

検出器: 示差屈折計

キャリアー液: アセトニトリル: 水 (75: 25)

キャリアーの送液条件: 流速 1.0 ml/min

カラム: Zorbax-NH₂ 長さ15 cm, 内径 4.6 mm

カラムオープン温度: 40℃

第2-1図にフラクトース, グルコース, シュクロース, マルトースの標準品のクロマトグラムを示した。図より最初に六炭糖, 二糖類の順に分離, 溶出してくることがわかった。

② アミノ酸類の分析

分泌液を0.2 μmのフィルターを通した後、島津高速液体クロマトグラフアミノ酸分析法に従って(島津高速液体クロマトグラフ取扱説明書 1988)次のとおり行なった。

分析条件

検出器: 蛍光検出器

波長: 励起波長 (Ex) 348 nm 測定波長 (Em) 450 nm

キャリアー液: a 液: pH 3.2 クエン酸緩衝液

b 液: pH 10.0 クエン酸緩衝液

c 液: 0.2 N-NaOH 溶液

キャリアーの送液条件: a 液を15分間流し、15分から35分にかけてb液が16%になるようにグラジュエント送液し、40分まで保つ。40分から50分にかけてb液が100%になるようにグラジュエント送液し、60分までb液100%を保つ。このあとc液に切り替え65分まで流し、a液にもどして1回の分析が終了する。流速は0.3 ml/minで行った。

カラム：強酸性陽イオン交換樹脂 長さ 15 cm

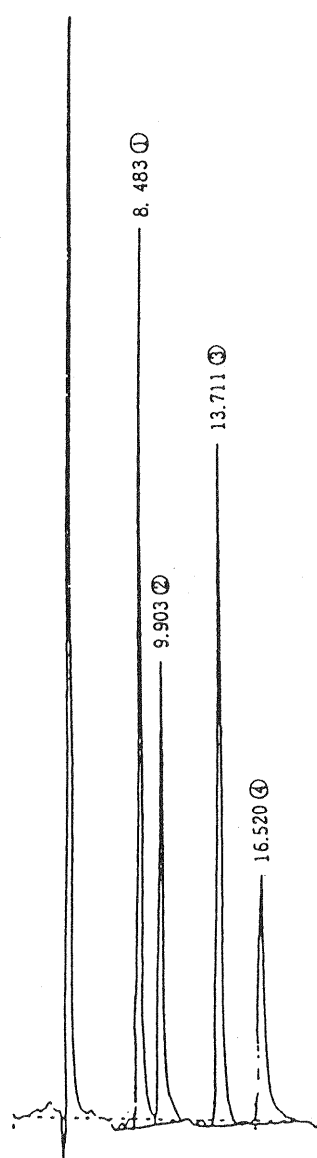
内径 4.0 mm

カラムオープン温度：55℃

蛍光反応試薬：(a) ほう酸 — 炭酸緩衝液

(b) オルトフタルアルデヒド溶液

標準品は和光純薬のアミノ酸混合液H型を用いた。測定の対象にしたアミノ酸はアスパラギン酸、スレオニン、セリン、グルタミン酸、プロリン、グリシン、アラニン、シスチン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、リジン、アルギニンの17種類である。



第2-1図 糖類の標準クロマトグラフ

- ① フラクトース ② グルコース ③ シュクロース
④ マルトース 各 50 μ g

2) 結果

第2-1表に明所、暗所の違いによる陸稲の生育と糖、アミノ酸の分泌量を示した。草丈、根長は1週間後、2週間後とも暗所栽培が明所栽培を上回った。分泌を認めた糖はグルコースだけであった。陸稲1株当たりのグルコース分泌量は播種1週間後の明所では0.18 mg、暗所では0.12 mg、2週間後では明所が0.2 mg、暗所が0.13 mgを示した。2週間の培養期間中に約90%のグルコースが最初の1週間以内に分泌された。

アミノ酸はクロマトグラムに微小なピークが認められたものの明所、暗所栽培とも検出限界以下であった。

3) 考察

陸稲根からの糖類の分泌は播種後速やかに行なわれ、播種後1週間で2週間後に認められるグルコースの約9割を分泌していた。光合成を行わない暗所栽培でもグルコースの分泌が認められたのは、このグルコースは種子中に含まれるでんぷんに由来することを示唆している。光合成によって陸稲体内で新たに合成されたものでなく、胚乳中のでんぷんが自己消化によりグルコースに変化し、呼吸や体組織に利用される以上の余分なグルコースが根から排出されることによっておこると推察された。

根からのグルコース分泌量は、明所栽培に比べて生育量がまさった暗所栽培で少なかった。このことから、生育量とグルコース分泌量に負の相関があることが示唆された。

2. 液肥培地培養条件下における糖およびアミノ酸の分泌

液肥を含む培地で陸稲を培養し、6週間にわたり分泌量を測定した。

1) 材料および方法

(1) 供試陸稲品種および培養方法

品種はトヨハタモチを供試した。大型試験管(直径4 cm、長さ30 cm)に第2-2表の液肥を100 ml加え、寒天1 gを加えた後、オートクレーブで殺菌処理した。冷却後、陸稲種子5粒を播種し、シリコン栓をして、無菌的に室内で生育させた。分泌液の採取は播種2週間後から6週間後まで1週間毎に1区3試験管で行った。

第2-1表 明所, 暗所の違いによる陸稲の生育
および糖, アミノ酸分泌量

処 理	採取時期	草 丈 (cm)	根 長 (cm)	グルコース mg/株	総アミノ酸 μg/株	備 考 調査株数
明 所	1週間	4.89	7.42	0.18	tr**	18
	2週間	13.18	9.60	0.20	tr	19
暗 所	1週間	7.02	9.92	0.12	tr	20
	2週間	13.48	13.48	0.13	tr	20

* 採取時期: は種してから経過週数 (以下同じ)

** tr: 痕跡 (以下同じ)

(2) 培地からの糖・アミノ酸の抽出

抽出は試験1と同様に80%エタノールで行った。一定期間培養後, 陸稲を根毛ごと静かに抜取った寒天培地に80%エタノールを100ml加え, 振とう後口過した。再度80%エタノール100mlで抽出し, 口液を合せた。この抽出操作を3回繰り返す, 口液を合せた後, ロータリーエバポレーターでエタノールを除去したものを, 分泌液とした。

(3) 糖およびアミノ酸の分析方法

試験1で述べた方法に従った。

2) 結果

結果は第2-3表に示した。6週間後の草丈は33.7cm, 根長は13cmを示し, 本葉は4枚展開した。

分泌されたアミノ酸の種類は, 標準試料に含まれる17種類のうちシスチンを除く16種類の分泌が認められ, セリン, グリシン, グルタミン酸, スレオニン, アラニン, アスパラギン酸が多い傾向にあった。培地中に認められた陸稲1株当たりのアミノ酸量は, 4週間後で62.02μgと最も多く, 5週間後には52.61μg, 6週間には44.94μgと低下した。

糖類の分泌はどの採取時期にも認められなかった。

第2-2図にアミノ酸分泌量とアンモニア態窒素の経時変化を示した。陸稲は, アンモニア態窒素を播種2週間後で施用量の40%, 3週間後80%, 4週間後で90%, 6週間後で100%吸収した。アミノ酸は3週間から4週間目にかけて培地中に著しく

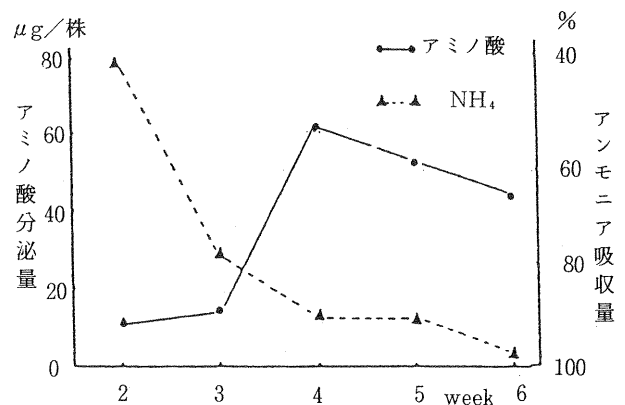
第2-2表 液肥の成分

成 分 名	濃度 (mg/L)
窒素全量	130
内アンモニア性	11.25
硝酸性	111.25
水溶性リン酸	60
水溶性カリ	180
水溶性苦土	37.5
水溶性マンガ	0.75
水溶性ホウ素	0.75
EDTA鉄	1.35
pH	5.4
寒天	10g

増加し, 5週間目と6週間目ではアミノ酸量が減少した。

3) 考察

一般に, 稲が根からアンモニアを吸収すると, 根のグルタミン合成酵素の働きによって速やかにグルタミンのアミド基となって同化され, 同化された窒素の一部は根にとどまり, 残りは地上部に転流し, 生体の構成成分や代謝回転する蛋白などの補給素材として利用される(庄司ら, 1982)とされている。本試験で供試したアンモニア態窒素も陸稲に吸収された後, 速やかに同化されたと推察される。本試験ではアンモニアを播種後2週間から


第2-2図 液肥培地におけるアミノ酸分泌量と
アンモニア吸収量

$$* \text{アンモニア吸収量} = \frac{(A) - \text{培地中アンモニア量}}{\text{培養前アンモニア量}(A)} \times 100$$

第2-3表 液肥培地培養における陸稲の生育および糖、アミノ酸類の分泌

項目	採 取 時 期				
	2週間	3週間	4週間	5週間	6週間
生 草丈 (cm)	21.8	24.4	28.4	33.6	33.7
根長 (cm)	10.1	12.0	12.3	12.8	13.0
育 葉数 (枚)	2.0	2.5	3.0	3.3	4.0
糖 グルコース (mg/株)	ND*	ND	ND	ND	ND
アスパラギン酸	1.38	1.86	5.48	7.78	6.22
スレオニン	0.99	0.83	5.06	5.96	3.97
アセリン	4.27	4.37	14.59	10.51	12.61
グルタミン酸	tr	0.74	7.18	8.52	5.64
プロリン	tr	tr	1.59	1.21	1.15
ミグリシン	2.11	2.10	5.92	3.95	3.25
アラニン	0.65	0.89	3.79	3.40	2.38
シスチン	0	0	0	0	0
ノバリン	tr	0.70	2.05	1.38	1.56
メチオニン	tr	tr	1.12	tr	tr
イソロイシン	tr	tr	3.28	1.04	1.09
酸 ロイシン	tr	tr	2.62	1.21	1.81
チロシン	tr	tr	2.26	1.43	0.13
フェニルアラニン	tr	tr	1.65	1.09	1.37
ヒスチジン	0.81	0.78	3.10	2.05	2.06
リジン	tr	0.73	2.37	0.96	1.71
アルギニン	0	0	tr	4.31	tr
アミノ酸計 (μ g/株)	10.21	13.36	62.06	52.61	44.94

* ND : 検出限界 (0.05 mg/株) 以下

3週間目にかけて施用量の約40%を吸収し、アミノ酸を3週間から4週間目にかけて多く分泌した。このことは、アンモニア態窒素を吸収することによって体内でア

ミノ酸を合成し、過剰なアミノ酸を根外に排出していることを示唆しており、陸稲根から分泌されるアミノ酸は施肥窒素に由来していると推察された。

3. 陸稲の栄養条件と糖およびアミノ酸の分泌

培地中の窒素の有無および形態の違いによる糖、アミノ酸の分泌について試験した。

1) 材料および方法

(1) 供試品種と培養条件

品種はトヨハタモチを供試した。試験2に示した方法と同じ大きさの大型試験管を用い、第2-4表に示した組成のアンモニア態と硝酸態窒素および無窒素の各水耕用培養液（東京大学農学部農芸化学教室、1964）を100 ml加えた寒天培地に陸稲種子を播種し、網室で生育させた。分泌液は播種後2週間から7週間まで1週間毎に採取した。

(2) 分泌物質の抽出および分析方法

試験2で述べた方法に従った。

2) 結果

第2-3図に窒素形態の違いによる陸稲の草丈を示した。草丈の初期生育はアンモニア培地がまき、後半は、硝酸培地がまき。無窒素培地では3週目以降ほとんど草丈は伸長しなかった。

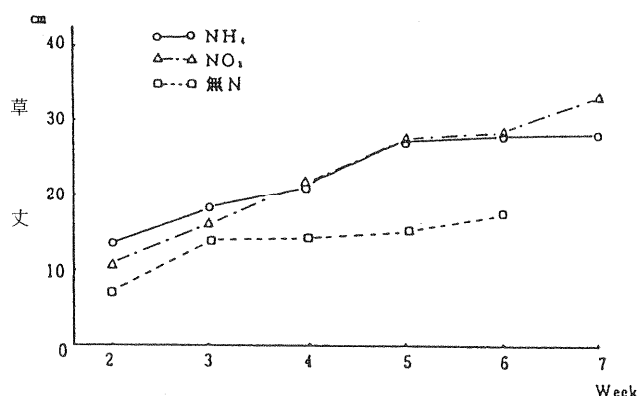
糖類の分泌結果を第2-5表に示した。分泌された糖類の種類はグルコースだけであった。グルコースの分泌は窒素の違いや有無にかかわらず、播種後2週間に最も多く認められ、無窒素培地では0.36 mg、アンモニア培地では0.35 mg、硝酸培地では0.30 mgを示した。しかし3週目以降はすべての培地で経時的に減少し、播種後5週間経過すると検出限界以下になった。第2-4図に培地中の残存窒素量とアミノ酸分泌量を示した。陸稲はアンモニア態窒素を速やかに吸収し、播種後2週間目で40%，6週間目で培地中のほぼ全量を吸収した。これに対し、硝酸態窒素の吸収は緩やかで、播種後2週間目で約30%，全量吸収するのに7週間を要した。

アミノ酸の分泌はアンモニア培地が最も多く、播種後2週間目から3週間目、5週間目から6週間目にかけて増加した。硝酸培地では播種後2週間目から3週間目にかけて多い傾向を示したが、それ以降の増加はゆるやかであった。また、無窒素培地でも少量の分泌が認められた。陸稲の最長根長は第2-5図に示した。硝酸、無窒素培地では主根の伸長は緩やかである

第2-4表 培地組成 (mg/l)

成分	アンモニア培地	硝酸培地	無窒素培地
N	50 (硫酸)	50 (硝酸カリ)	0
P ₂ O ₅	50	50	50
K ₂ O	35	35	35
CaO	15	15	15
MgO	15	15	15

EDTA鉄、硫酸マンガンを各培地に少量添加



第2-3図 培地中の窒素形態の違いによる陸稲の草丈

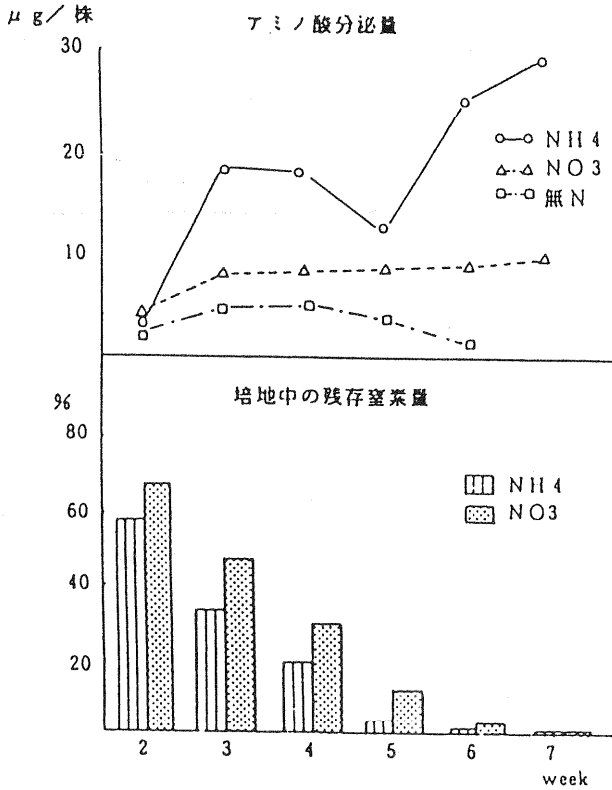
第2-5表 窒素形態の違いによる陸稲根からのグルコースの分泌 (mg/株)

採取時期	アンモニア培地	硝酸培地	無窒素培地
2週間	0.35	0.30	0.36
3週間	0.27	0.14	0.29
4週間	0.07	0.13	0.09
5週間	ND*	ND	ND
6週間	ND	ND	ND
7週間	ND	ND	—**

* ND: 検出限界 (0.05 mg/株) 以下

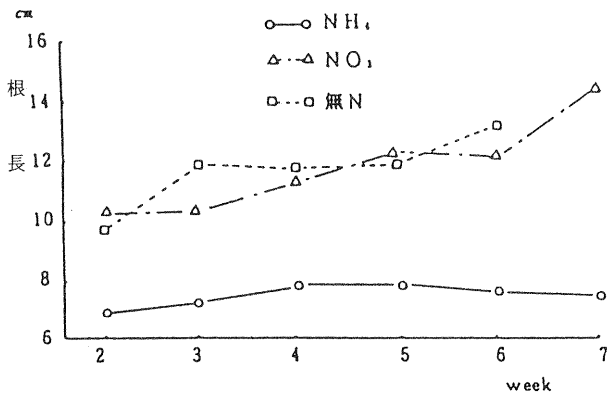
* —: 試験区を設定せず

ものの、側根、根毛が十分発達したのに対し、アンモニア培地では主根は短く、根毛と側根の発育は貧弱であった。



第2-4図 窒素形態の違いによるアミノ酸分泌量と培地中の残存窒素量

$$* \text{培地中の残存窒素量} = \frac{\text{培地中窒素量}}{\text{培養前窒素量}} \times 100$$



第2-5図 培地中の窒素形態の違いによる陸稲の根長

3) 考察

(1) 糖類の分泌について

培地中のグルコースは2週間目をピークにして減少し、5週間目以降では検出されなかった。本試験は種子と培地を殺菌しており、微生物によるグルコースの分解は考えられないことから、培地中からのグルコースの減少は

陸稲による再吸収と推察される。

第2-6図は試験1から3における播種2週間後の分泌グルコース量と草丈を示した。陸稲根からの分泌グルコースと草丈の間には負の相関が認められ、生育量が大いほど、分泌量は少ないことが示唆された。

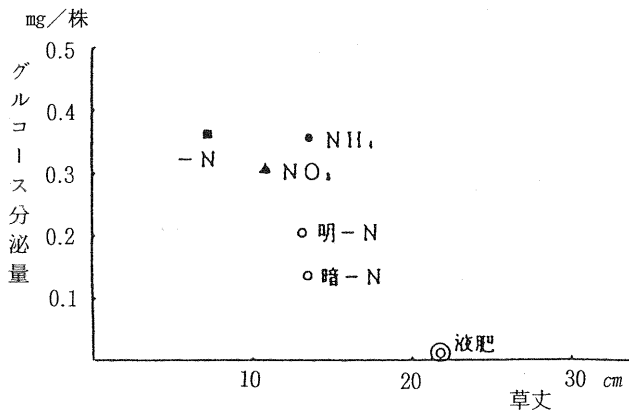
陸稲は播種後、発芽条件が整うと胚乳中のでんぷんを自己消化させてグルコースに変化させ、従属栄養期間中には組織の構成、ATP生成のため使用されるが、必要以上の過剰なグルコースは根外に分泌されると推察される。本試験では、播種2週間後以降からはグルコースの分泌が認められなくなったが、2週目以降からグルコースは光合成によって供給され、組織の構成、ATPの生成、貯蔵に用いられ、生成と消費が一定の平衡状態を保っているためと考えられる。

以上のことから、陸稲根からの糖類の分泌によって土壤微生物が大きく影響を受けることはないと考えられた。

(2) アミノ酸類の分泌について

前記したようにアンモニアからのアミノ酸合成は、グルタミン合成酵素によって速やかにグルタミンのアミド基となって同化される(庄司ら, 1982)。本試験で供試したアンモニア態窒素も陸稲に吸収された後、速やかに同化されたと推察される。硝酸は作物に吸収されてから硝酸還元酵素によって亜硝酸になり、さらに亜硝酸還元酵素によりアンモニアになってからアミノ酸に同化される(堀口, 1982)とされている。このメカニズムの違いが窒素吸収速度や、アミノ酸分泌量の違いをもたらすと考えられる。培地中の窒素形態の違いによるアミノ酸分泌量はアンモニア態 > 硝酸態 > 無窒素の順であり、陸稲の窒素吸収速度はアンモニア態 > 硝酸態であった。窒素吸収とアミノ酸分泌の関係は、急激な窒素吸収がみられた1週間後にアミノ酸分泌量が増加する傾向がみられた。このことは、陸稲は窒素吸収によってアミノ酸を合成し、陸稲にとって過剰なアミノ酸を根から分泌していることを示唆している。

また、アンモニア培地で5週間から6週間目にかけて、培地中の窒素がほとんど吸収されつくしているのにアミノ酸分泌の増加が認められた。平岡ら(1990)は、過剰



第2-6図 2週間時におけるグルコース分泌量と草丈

なアンモニアはリンゴ酸などの有機酸を減少させ、解糖系や代謝系が攪乱された根は生育不良で短く分岐が少なくなることを報告しているが、本試験のアンモニア区の生育状況もこれと一致した。このことから、この時期のアミノ酸分泌はアンモニア過剰吸収により代謝系の阻害が起こったために促進されたものと推察される。

以上のことから、陸稲根からのアミノ酸分泌は、胚乳中の自己消化によるものはほとんどなく、窒素（畑状態では硝酸態窒素）の吸収によって合成された過剰なアミノ酸を排出するためと考えられる。硝酸態窒素から合成されるアミノ酸は、代謝バランスを乱すほどの急激な速度では行われなため、陸稲内でアミノ酸過剰は起こらず、根からの分泌は多くならないと考えられた。陸稲が正常な生育過程を経れば、アミノ酸類の分泌によって土壤微生物相は大幅に改変されることはないと思察された。

第2節 陸稲中に含まれる糖、アミノ酸、フェノール性酸

第2-6表 供試材料の耕種概要

	陸稲	小麦	ゴボウ	トマト
品種名	トヨハタモチ	ニシカゼコムギ	柳川理想	大型瑞光
播種(定植)日	4/22	11/10	5/8	4/15(定植)
収穫日	9/18	5/30	10/26	7/1(収穫最盛期)
栽培規模	1/2000aポット	1/2000aポット	2a圃場	1/2000aポット

陸稲根からの分泌物質、あるいは陸稲中のある物質が土壤微生物に関与し、土壤環境を改善することが輪作における陸稲のもつ重要な機能であると考え、前節において、陸稲根からの糖、アミノ酸の分泌について検討した。その結果、無菌条件下で播種から7週間と限定された条件であったが、糖、アミノ酸の分泌によって根圏微生物相がおおきく改変され、土壤の病虫害に起因する連作障害を軽減すると思われる示唆は得られなかった。

そこで、陸稲の収穫後に土壤にすきこまれる残根、切り株および茎葉中の有機性物質が土壤微生物相に影響を及ぼすのではないかと考え、糖、アミノ酸、フェノール性酸について、その種類と含有量について調査した。また、その比較対象として数種の野菜類と麦等のイネ科作物を併せて調査した。

1. 陸稲その他数種作物に含まれる可溶性糖

収穫期の陸稲の茎葉および根に含まれる可溶性糖の種類と含有量を小麦、トマト、ゴボウと比較した。さらに、生育時期別の茎葉と根に含まれる可溶性糖を同じイネ科の小麦と比較した。

1) 材料および方法

(1) 供試作物と採取部位および採取時期

供試した作物および採取した時期は第2-6表に示した。陸稲、小麦、ピーマン、ゴボウは収穫期の茎葉部と根部、さらに、陸稲と小麦については分けつ最盛期、出穂期、登熟期にそれぞれ茎葉部と根部を採取した。

(2) 供試試料の調製

茎葉は1cm程度に細断し、根部はポット栽培をした陸

稲、小麦、トマトでは根部に付着した土壌を水道水で洗い流したのち、水切りをし、1～2 cmに細断した。ゴボウはトレンチャーで掘り取り、水洗した後、ミキサーで粉碎して分析試料とした。

(3) 分析方法および条件

作物試験法の植物有機成分分析法(戸刈ら, 1957)に準じて可溶性糖の抽出を行った。試料 50 g を取り、80 %エタノール 250 ml を加え、冷却管をつけてマントルヒーターで1時間穏やかに加熱した。冷却後、この上澄み液をろ過したのち、残渣に再び 80 %エタノール 250 ml を加え、同様に加熱したのちろ過した。ロ液をあわせ、ローリーエバポレーターで減圧濃縮してアルコールを除去したのち、遠心分離し、上澄み液を 50 ml とした。この上澄み液の一定量を陽イオン交換樹脂、陰イオン交換樹脂をとおり、非吸着液を糖測定試料とした。糖類の定量の方法、条件等は前節で述べた方法に従った。

2) 結果

(1) 陸稲、小麦、トマト、ゴボウが収穫期の茎葉と根に含む可溶性糖

収穫期の各作物の茎葉および根中に含まれる糖の種類と含有量を第2-7表に示した。イネ科の陸稲および小麦の茎葉中には可溶性糖が新鮮重 100 g 当たり全量で、それぞれ 2,447, 5,708 mg 含まれていた。これに対し、野菜のゴボウとトマトではそれぞれ 428, 1,513 mg であった。一方、根中には、小麦 808, ゴボウ 514, トマト 713 mg であったのに対して、陸稲は 43 mg であり、極めて低濃度であった。糖の種類は陸稲の茎葉ではフラクトース、グルコース、シュクロースが認められた。小麦ではフラクトースとシュクロースが認められたがグルコースは認められなかった。トマトの茎葉ではフラクトース、グルコース、シュクロース、マルトースが認められ、ゴボウの茎葉ではシュクロースが認められなかったが、フラクトース、グルコース、マルトースが認められた。

(2) 陸稲、小麦が生育時期別の茎葉と根に含む可溶性糖

イネ科の陸稲と小麦の生育時期別に茎葉と根中に含まれる可溶性糖を第2-8表に示した。茎葉中に含まれる糖の全量は、陸稲では分けつ最盛期には 749 mg, 出穂期には 2,678 mg, 登熟期には 4,390 mg を示し、子実が成熟

第2-7表 各作物の収穫期における茎葉および根中の可溶性糖 (mg/100 g 新鮮重)

作物名	部位	フラクトース	グルコース	シュクロース	マルトース	糖類計
陸稲	茎葉	628	815	950	0	2,447
	根	15	18	10	0	43
小麦	茎葉	4,975	0	733	0	5,708
	根	388	0	420	0	808
ゴボウ	茎葉	154	215	0	59	428
	根	186	0	328	0	514
トマト	茎葉	550	557	167	239	1,513
	根	212	155	346	0	713

第2-8表 生育時期別の陸稲および小麦の茎葉、根における可溶性糖 (mg/100 g 新鮮重)

生育時期	作物名	部位	フラクトース	グルコース	シュクロース	計	根/茎葉(%)
分けつ最盛期	陸稲	茎葉	52	107	590	749	1.6
		根	0	0	12	12	
	小麦	茎葉	320	482	2,685	3,487	15.3
		根	122	0	413	535	
出穂期	陸稲	茎葉	915	1,055	658	2,678	3.1
		根	42	36	5	83	
	小麦	茎葉	993	829	1,292	3,114	9.4
		根	190	0	104	294	
登熟期	陸稲	茎葉	1,228	1,390	1,772	4,390	3.9
		根	10	0	162	172	
	小麦	茎葉	389	357	1,755	2,501	16.6
		根	128	0	288	416	
収穫期	陸稲	茎葉	682	815	950	2,447	1.8
		根	15	18	10	43	
	小麦	茎葉	4,975	0	733	5,708	14.2
		根	388	0	420	808	

試料採取月日

* 分けつ最盛期	陸稲 (7/1)	小麦 (3/17)
* 出穂期	(8/1)	(4/11)
* 当熟期	(9/1)	(5/6)
* 収穫期	(9/18)	(5/30)

する時期に従って増加した。小麦では分けつ最盛期には 3,487 mg, 出穂期には 3,114 mg, 登熟期には 2,501 mg を示し、茎葉中の糖は子実が成熟する時期に従って減少傾向を示した。糖の種類は、分けつ最盛期、出穂期、登熟期の茎葉中には陸稲、小麦ともフラクトース、グルコース、シュクロースが認められたが、収穫期の小麦には、グルコースが認められなかった。

陸稲根中の糖は、分けつ最盛期には 12 mg, 出穂期に

は83 mg, 登熟期には172 mg, 収穫期には43 mgであった。これは茎葉中糖の1.6 %, 3.1 %, 3.9 %, 1.8 %にすぎない。同様に, 小麦の茎葉と根中の糖割合は15.3 %, 9.4 %, 16.6 %, 14.2 %であり, 陸稲根中の可溶性糖はいずれの時期においても少なかった。

3) 考察

光合成の活発なイネの茎葉中にはシュクロース, グルコース, フラクトースが生成されることが知られている(村山ら, 1961)。本試験において, 収穫期にこれら3種類の糖類が検出された陸稲, トマトでは光合成機能がまだ活発であり, グルコースが認められなかった小麦とシュクロースが認められなかったゴボウでは, 光合成機能が低下していたと考えられる。

生育時期別にみた陸稲茎葉中の可溶性糖は, 登熟期>出穂期>分けつ最盛期の順であり, 子実の成熟時期に従って増加する傾向がみられ, 茎葉から子実への転流が盛んに行われていることが示唆された。根中の可溶性糖はいずれの生育時期においても茎葉からの分配率は極めて低かった。

収穫期の陸稲根中の可溶性糖は, 小麦, ゴボウ, トマトと比べると極めて低濃度であった。吉田ら(1968)は, 5葉期の水稻を用いて, $^{14}\text{CO}_2$ を同化させ, 同化産物の転流をオートラジオグラフによって調査し, ^{14}C の根への分配率は約7 %としている。これには, 少量のアミノ酸, 有機酸の ^{14}C が含まれているとしても, 陸稲における根への糖類分配率は1.6 ~ 3.9 %であり, 水稻よりは小さいと推定された。以上のことから, 陸稲根から土壤中に放出される可溶性糖は他作物と比べて, 少量であることが示唆された。

2. 陸稲その他数種作物に含まれる遊離アミノ酸

収穫期の陸稲の茎葉および根に含まれる遊離アミノ酸の種類と含有量を小麦, トマト, ゴボウのそれと比較した。さらに, 生育時期別の茎葉と根に含まれる遊離アミノ酸を同じイネ科の小麦と比較した。

1) 材料および方法

(1) 供試作物, 採取部位および採取時期

作物および採取した時期は本節1. 1) (1)で供試したものと同一である。

(2) 供試試料の調製

試料は本節1. 1) (2)と同様に調製して分析試料とした。

(3) 分析の前処理および分析方法

試料の前処理は可溶性糖の抽出と同様の方法で行った。試料50 gを取り, 80 %の熱エタノール250 mlで2回抽出した。ロ液をあわせ, 減圧濃縮してアルコールを留去したのち, 遠心分離し, 上澄み液を50 mlとした。この液の1部をとり, ミリポアフィルターでろ過したものを, 高速液体クロマトグラフにより前節で述べた方法によりアミノ酸を定量した。

アスパラギンはクロマトグラム上にスレオニンとセリンのあいだのピークとして表われ, 前節で述べた方法では定性, 定量が困難であったが, ガスクロマトグラフ質量分析計でアスパラギンと同定し, 別途に高速液体クロマトグラフで定量した。

2) 結果

(1) 陸稲, 小麦, トマト, ゴボウが収穫期の茎葉と根に含まれる遊離アミノ酸

収穫期の各作物の茎葉および根に含まれる遊離アミノ酸と量を第2-9表に示した。各作物のアミノ酸の特徴は, 陸稲茎葉ではスレオニンの37.17 mgが最も多く, 以下ヒスチジン, セリン, アルギニン, アラニン, アスパラギン酸, グルタミン酸の順であり, 全量で201.22 mgであった。小麦の茎葉では, すべてのアミノ酸の濃度が低く, もっとも多いアミノ酸はグルタミン酸の2.5 mg, 全アミノ酸量は17.36 mgであった。ゴボウの茎葉ではアスパラギンが17.39 mgと最も多く, 全アミノ酸量は66.84 mgであった。また, トマトの茎葉中では, ヒスチジンが12.96 mgと多いほか, 他はきわめて低濃度であり, 全アミノ酸量は24.43 mgであった。

根中のアミノ酸は, 茎葉で多かった陸稲ではきわめて微量であり, 一方, 茎葉で微量であった小麦に多く認められた。しかし, その全アミノ酸量165.84 mg中アスパラギンは149.75 mg占めており, 他のアミノ酸はほぼ陸稲と同じであった。ゴボウ根中ではアスパラギンが259.3 mg, アルギニン239.89 mg, プロリン51.85 mgと多量に認められ, 全アミノ酸量は630.07 mgであった。また, トマトの根では全アミノ酸量で19.25 mgと少なく,

第2-9表 各作物の収穫期における茎葉および根中の遊離アミノ酸 (mg/100 g 新鮮重)

アミノ酸名	陸 稲		小 麦		ゴ ボ ウ		ト マ ト	
	茎 葉	根	茎 葉	根	茎 葉	根	茎 葉	根
アスパラギン酸	15.97	0	0.93	0.86	4.86	17.46	2.86	0.53
ス レ オ ニ ン	37.16	0.83	1.91	—	—	—	1.07	3.28
セ リ ン	18.60	0.74	1.16	—	4.57	—	1.10	1.52
グルタミン酸	15.08	0	2.50	3.90	6.77	15.45	1.10	2.13
プ ロ リ ン	5.29	0.46	0.52	0	6.04	51.85	1.09	0.92
グ リ シ ン	2.07	0.19	0.23	0.38	0.75	0.49	0.08	0.45
ア ラ ニ ン	18.31	1.60	2.00	2.27	7.93	3.07	0.98	0.58
バ リ ン	8.31	1.29	0.82	1.29	1.99	8.49	0.59	0.59
イ ソ ロ イ シ ン	5.51	3.67	0.59	0.66	0.85	6.36	0.39	0.72
ロ イ シ ン	6.10	0.59	0.79	0.79	2.36	3.21	0.46	0.39
チ ロ シ ン	3.35	0.18	0.72	0	0.91	2.81	0.36	0.18
フェニルアラニン	5.45	0.50	0.74	0	1.82	4.71	0.58	0.58
ヒ ス チ ジ ン	34.84	2.48	2.48	1.40	7.76	10.55	12.96	6.52
リ ジ ン	6.73	0.07	1.02	2.56	1.46	7.24	0.80	0.51
アルギニン	18.45	0	0.95	0	1.38	239.89	0	0.34
アスパラギン	0	0	0	149.75	17.39	258.30	0	0
合 計	201.22	12.61	17.36	165.84	66.84	630.07	24.43	19.25

注) — : 定量不能 0 : 検出限界以下

根にはネコブセンチュウによる根コブが多く観察された。

(2) 陸稲、小麦が生育時期別の茎葉と根に含む遊離アミノ酸

陸稲と小麦の生育時期別の茎葉、根中の遊離アミノ酸の全量を第2-10表に示した。陸稲茎葉では、分けつ最盛期には195 mgであったが、出穂期には294 mg、登熟期には382 mgに増加し、収穫期には201 mgに低下した。陸稲の根にはいずれの時期も遊離アミノ酸は少なく、茎葉と根のアミノ酸の比率は最高で分けつ最盛期の11.8%、最低で登熟期の2.1%であった。また、アスパラギンは陸稲の茎葉および根からすべての時期で検出されなかった。

小麦の遊離アミノ酸の全量は、茎葉では分けつ最盛期が最も多く、そのうちアスパラギンは約4割を占めた。アミノ酸全量は出穂期、登熟期になると減少し、収穫期ではわずか17 mgとなり、アスパラギンも出穂期、登熟期では減少した。小麦の根中には多くのアミノ酸が認められたが、その約9割がアスパラギンであり、これを差引いたアミノ酸量は陸稲とほぼ同程度であった。茎葉と根のアミノ酸比率は、最低は出穂期の49.4%、最高は

第2-10表 生育時期別の陸稲および小麦の茎葉、根における遊離アミノ酸 (mg/100 g 新鮮重)

生育時期	陸 稲			小 麦		
	茎葉	根	根/茎葉(%)	茎葉	根	根/茎葉(%)
分けつ最盛期	195	23	11.8	321 (126)	285 (274)	80.4
出穂期	294	15	5.1	174 (6.3)	86 (70)	49.4
登熟期	382	8	2.1	118 (6.2)	174 (154)	147.5
収穫期	201	13	6.5	17 (0)	166 (150)	976.5

() 内 : アスパラギン量

* : 生育時期と試料採取月日は第2-8表と同じ

収穫期の976.5%であった。

3) 考察

収穫期の陸稲根中の遊離アミノ酸は小麦、ピーマン、トマトの他作物に比べ極めて低濃度であった。小麦根ではグルタミン、ゴボウではアルギニンとアスパラギンが多量成分であった。アスパラギンやグルタミンのアミド態窒素の作物体への集積は、一般的によく知られており、尾崎ら(1951)はアスパラギンの集積は、過剰アンモニア態窒素の貯蔵的役割をはたしているとしている。

王子ら(1974)は、アスパラギンの作物体への集積と

吸収窒素との関係について検討している。水稻にアンモニア態窒素を与えると、根および茎葉にアスパラギンの顕著な蓄積がおこり、キュウリにアンモニア態窒素を与えてもアスパラギンの蓄積がおこらず、大麦の場合はその中間であったことを示し、水稻は好アンモニア植物、キュウリは好硝酸性植物、大麦は中間作物と分類している。これによれば、本試験結果においてアスパラギンの集積が多く認められた小麦とゴボウは好アンモニア性作物であり、アスパラギンが検出されなかった陸稲とトマトは好硝酸性作物であると考えられた。

陸稲は小麦と異なり、土壤中のアンモニア態窒素を過剰に吸収せず、根中にはアスパラギンなどのアミド態窒素を貯蔵しないことが明らかになった。また、陸稲根中には他の作物に比べて遊離アミノ酸量が少ないことから、土壤中の微生物に対して窒素源として遊離アミノ酸やアミド態窒素を供給することは少ないと考えられた。

3. 陸稲その他数種作物に含まれるフェノール性酸

収穫期の陸稲の茎葉および根に含まれるフェノール性酸の種類と含有量を小麦、大麦、トウモロコシ、トマト、ゴボウ、ピーマンと比較した。さらに、陸稲の生育時期別の茎葉と根に含まれるフェノール性酸を明らかにした。

1) 材料および方法

(1) 供試作物および採取時期

供試作物の品種と試料採取時期を第2-11表に示した。陸稲、大麦、小麦、トウモロコシ、ゴボウは農業研究所内の圃場で、トマト、ピーマンは同所内のファイロハウスで栽培した。

(2) 供試試料の調製

ゴボウを除く作物はスコップで根から掘り取り茎葉部

と根部に分け、根を水洗し、ガラス室で3日間乾燥したのち、2~3cmに細断し分析試料とした。ゴボウ根はトレンチャーで掘り取り後、水洗し、ミキサーで粉碎して分析試料とした。

(3) 試験および分析方法

① 試験方法：試料からの抽出方法およびクリンナップ法は草野ら(1974)の方法に準拠した。エステル結合型フェノール性酸を2規定の水酸化ナトリウムで加水分解し、遊離フェノール性酸は直接75%エタノールで抽出した。

すなわち、第2-7図に示したように試料10~20gを共栓三角フラスコにとり、2規定の水酸化ナトリウム溶液を200ml加え、時々振とうしながら一昼夜放置した。これをガラスフィルターでろ過し、残渣を100mlの蒸留水で洗浄し、ロ液を合わせた。ロ液にn-ヘキサン100mlを加え、振とう後ヘキサン層を捨てた。この操作を繰り返した後、6規定の塩酸でpHを3以下に調製し、エチルエーテル100mlを加え振とうした後、分液操作を行いエーテル層を採取した。さらにエチルエーテル100mlを加え、同じ操作を行った後、エチルエーテルをロータリーエバポレーターで除去した。残留物を希水酸化ナトリウム溶液で溶解し、微アルカリ性のまま定容にした。

この一部をミニカラム(セップパックC₁₈)に通し、非吸着液を高速液体クロマトグラフで測定した。なお、75%エタノール抽出法も、抽出溶媒を異にするだけで、ほぼ同様の操作を行った。

② 高速液体クロマトグラフ(HPLC)の測定条件

装置：島津製作所製高速液体クロマトグラフ(LC-6A)

カラム：Zorbax-ODS 長さ 15cm

検出器：紫外分光光度計 波長 280nm

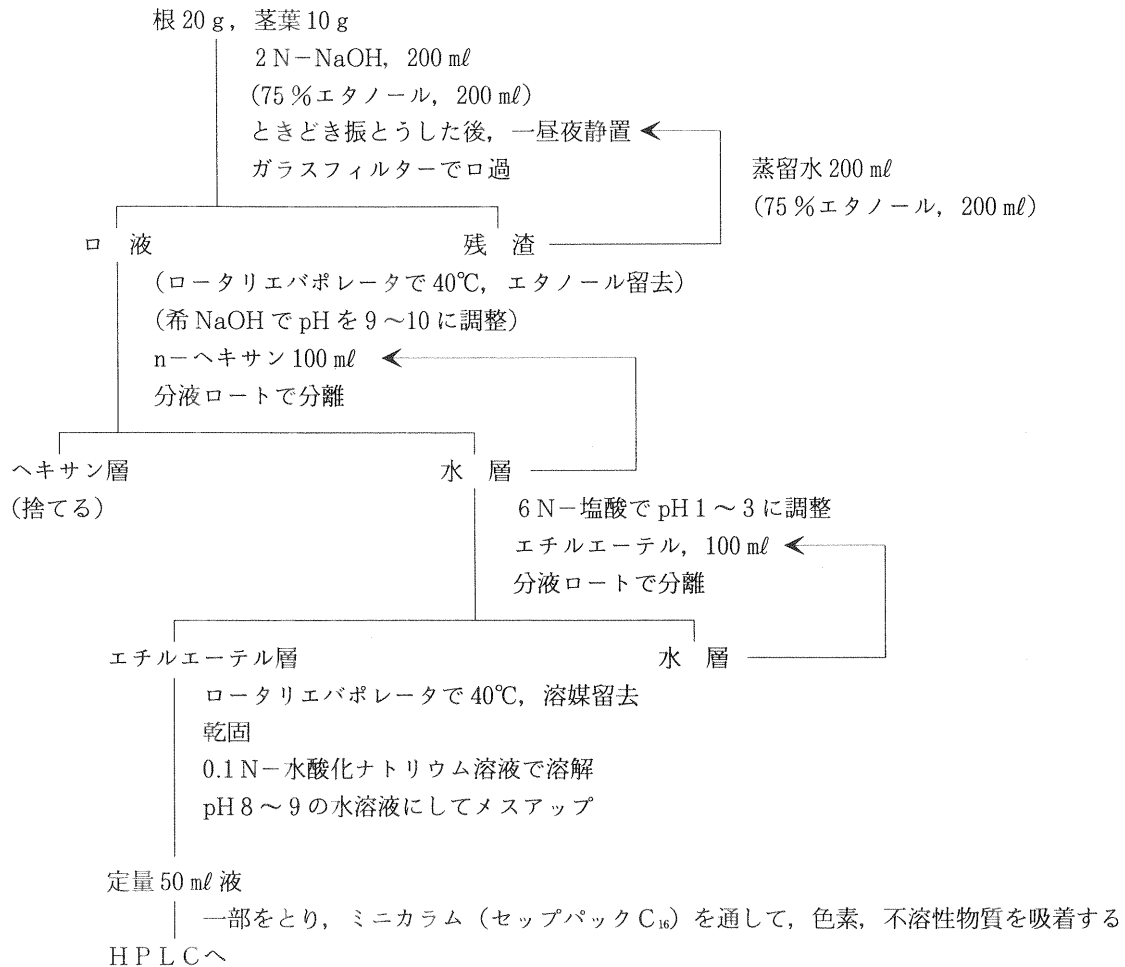
キャリアー液(a)n-ブタノール：メタノール：酢酸：水(1:5:2:92)

(b)n-ブタノール：メタノール：酢酸：水(2.5:12.5:2:83)

流速：1ml/min

第2-11表 供試作物と試料採取時期

作物名	品種	採取月日	採取時期
陸稲	トヨハタモチ	9月18日	収穫時
小麦	ニシカゼコムギ	6月5日	収穫時
大麦	カシマムギ	5月29日	収穫時
トウモロコシ	ハニーバンタム	8月24日	収穫時
ゴボウ	柳川理想	11月28日	収穫時
トマト	大型瑞光	8月1日	収穫末期
ピーマン	土佐グリーン	8月7日	収穫末期



() は, 75 %エタノール抽出法のと加わる操作

第 2-7 図 茎葉・根中フェノール性酸の分離, 抽出法

第 2-8 図は高速液体クロマトグラフィーの分析条件を示した。a 液を 10 分間流し, 以後 30 分まで b 液が 100 % になるようにグラジュエント送液を行ない, 35 分まで b 液を流し, 1 分後に a 液を 100 % にもどし, トータル 45 分間で終了し, 次の測定を連続して行った。

第 2-9 図はフェノール性酸のクロマトグラムを示した。この方法は, Murphy ら (1978) の方法に準じたものであるが, 測定波長を 254 nm から 280 nm に変更した。254 nm では *p*-ヒドロキシ安息香酸 (4-Hydroxy benzoic acid), バニリン酸 (4-Hydroxy-3-methoxy benzoic acid) のピークが大きくなる半面, *p*-クマル酸 (4-Hydroxy cinnamic acid), フェルラ酸 (4-Hydroxy-3-methoxy cinnamic acid) のピークが小

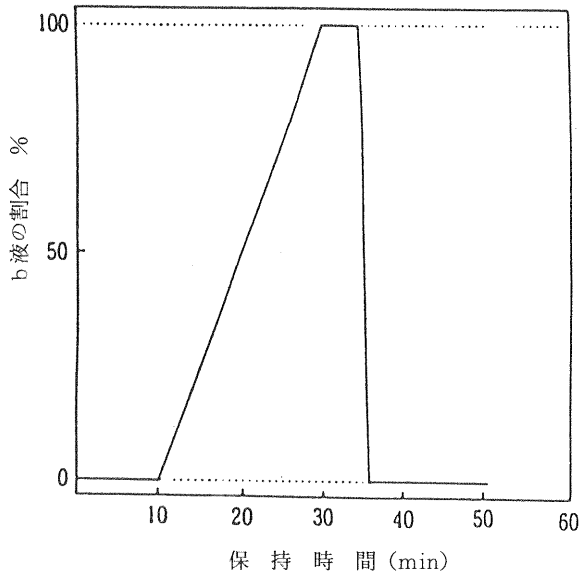
さくなるので, フェノール性酸を一度に分析するには波長 280 nm が適当と判断した。

2) 結果

(1) 陸稲ほか数種作物の収穫期の茎葉と根に含まれるフェノール性酸

第 2-12 表は収穫期の各種作物から抽出された *p*-クマル酸, フェルラ酸の量を示した。なお, これらのフェノール性酸の他にバニリン酸, *p*-ヒドロキシ安息香酸, 安息香酸 (Benzoic Acid), ケイ皮酸 (Cinnamic Acid) が認められた作物もあったが, 前 2 種類より極めて低濃度であったので省略した。

2 規定の水酸化ナトリウムで抽出される *p*-クマル酸, フェルラ酸はイネ科作物の根および茎葉中に極めて多く



第2-8図 高速液体クロマトグラフィーによる
フェノール性酸のグラジエント分析条件

カラム : Zorbax ODS, 4.6 mm ϕ $\times$ 150 mm

a液, n-ブタノール : メタノール : 酢酸 : 水
(1 : 5 : 2 : 92)

b液, n-ブタノール : メタノール : 酢酸 : 水
(2.5 : 12.5 : 2 : 83)

流速 : 1 ml/min

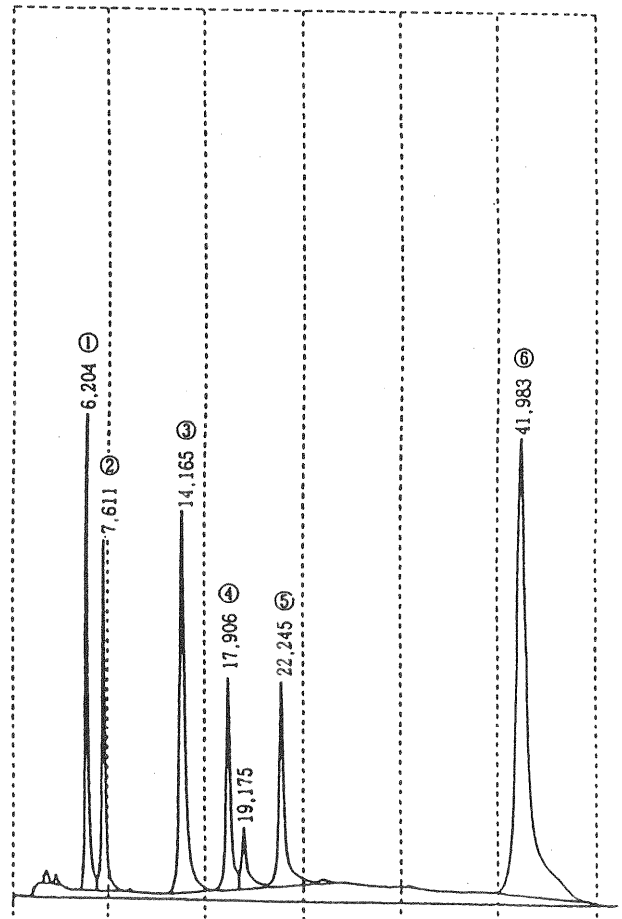
含まれていた。最も多い作物は、トウモロコシの根では乾物1 kg当たりp-クマル酸が22,000 mg、少ない作物でも大麦の根で1,400 mg認められた。フェルラ酸はp-クマル酸より少ないものの、最高はトウモロコシの根で3,500 mg、低いものでも大麦の根から580 mg認められた。

これに対し、野菜類はトマトの根からp-クマル酸が223 mg、フェルラ酸が150 mg検出されたのが最高であり、ピーマン根からp-クマル酸70 mg、フェルラ酸120 mg、ゴボウ根からp-クマル酸130 mg検出されたが、茎葉中からは、いずれの野菜からも検出されなかった。

75%エタノールで抽出されるp-クマル酸、フェルラ酸はイネ科作物からだけ検出され、2規定の水酸化ナトリウムで抽出される量の50分の1から100分の1の濃度であった。

(2) 陸稲の生育時期別の茎葉と根に含まれるフェノール性酸

第2-13表は陸稲中に含まれる、2規定水酸化ナトリウム抽出のp-クマル酸、フェルラ酸の生育時期別の変



第2-9図 フェノール性酸類の標準クロマトグラム
(0.5 μ g)

- ① p-ヒドロキシ安息香酸
- ② バニリン酸
- ③ p-クマル酸
- ④ フェルラ酸
- ⑤ 安息香酸 (2 μ g)
- ⑥ ケイ皮酸

化を示した。茎葉中のp-クマル酸とフェルラ酸は生育の旺盛な最高分けつ期ではそれぞれ310 mg、900 mgと低かったが、穂揃い期には1,900 mg、1,400 mg、収穫期は2,700 mg、1,900 mgに高まった。さらに翌春の刈り株茎葉中にも、それぞれ3,700 mg、800 mg検出された。

根中のp-クマル酸とフェルラ酸は最高分けつ期では、それぞれ3,200 mg、1,800 mg、穂揃い期では3,200 mg、1,600 mg、収穫期では3,500 mg、2,300 mgであり、生育時期による差は少なかった。また、翌年3月圃場に残った残根からもp-クマル酸が1,900 mg、フェルラ酸が730 mg検出された。

第2-12表 陸稲ほか数種作物の収穫期における茎葉および根中の *p*-クマル酸, フェルラ酸 (mg/kg 乾物重)

作物	部位	2N-NaOH抽出		75%エタノール抽出	
		<i>p</i> -クマル酸	フェルラ酸	<i>p</i> -クマル酸	フェルラ酸
陸稲 (トヨハタモチ)	茎葉	2700	1900	12.7	10.8
	根	3500	2300	21.2	24.8
小麦 (ニシカゼ'コムギ')	茎葉	2900	1300	21.0	11.0
	根	3000	720	47.0	24.6
大麦 (カシマムギ')	茎葉	5000	1820	110.0	65.0
	根	1400	580	36.0	34.0
トウモロコシ	茎葉	4100	1700	11.5	13.1
	根	22000	3500	19.5	6.4
ゴボウ	茎葉	0	0	0.0	0.0
	根	130	0	0.0	0.0
トマト	茎葉	0	0	0.0	0.0
	根	223	156	0.0	0.0
ピーマン	茎葉	0	0	0.0	0.0
	根	70	120	0.0	0.0

3) 考察

フェノール性酸は茎葉および根中ともイネ科作物に多く、野菜類では微量であった。草野ら(1974)は、陸稲茎葉中のフェノール性酸をペーパークロマトグラフで定量し、エタノール抽出で *p*-クマル酸 44 mg, フェルラ酸 4 mg, 水酸化ナトリウム加水分解抽出で、*p*-クマル酸 4,165 mg, フェルラ酸 1,792 mg, バニリン酸 133 mg, *p*-ヒドロキシ安息香酸 166 mg と報告している。また、Kuwatukaら(1973)は稲わらをアルカリメタノールで抽出しガスクロマトグラフで分析し、*p*-クマル酸を 2,300

～2,700 mg, フェルラ酸を 1,160～1,430 mg と報告している。定量方法がそれぞれペーパークロマトグラフ(草野), ガスクロマトグラフ(Kuwatukaら), HPLC(著者)と異なったものの、分析結果はいずれもほぼ一致した。

フェノール性酸は、稲わらリグニンのアルカリ加水分解物から *p*-クマル酸, フェルラ酸等が認められ(進藤ら 1978)ており、リグニンの主要な構成物質とされている。本試験でも、75%エタノールで抽出した後の茎葉は、2規定水酸化ナトリウム抽出後の茎葉の形態を比べると、

第2-13表 生育時期を異にした陸稲茎葉および根中の *p*-クマル酸, フェルラ酸 (mg/kg, 乾物重)

採取時期	部位	<i>p</i> -クマル酸	フェルラ酸	採取月日
最高分けつ期	茎葉	310	900	7月27日
	根	3200	1800	
穂揃い期	茎葉	1900	1400	8月18日
	根	3200	1600	
収穫期	茎葉	2700	1900	9月18日
	根	3500	2300	
残茎 (刈り株)	茎葉	3700	800	3月30日
	根	1900	730	

注) 2 規定水酸化ナトリウム抽出

前者の茎はストロー状の形態を維持し、形態は保持されているのに対して、後者の茎はストロー状が押しつぶれ、収縮した状態で、葉はほとんど原型をとどめていなかった。このことから、2 規定の水酸化ナトリウムで抽出されるフェノール性酸は、茎葉組織の強化、維持に関与しているものと推察された。

Sindou ら (1977) は、稲わらを土壤に施用した場合、その腐朽過程において、一方では遊離フェノール性酸を生成し、他方では腐植酸の形成に寄与しているとしている。以上のことから、野菜類の連作障害に対して軽減効果をもつ陸稲などのイネ科作物には (坏ら 1979, 松田 1981), *p*-クマル酸やフェルラ酸などのフェノール性酸が多量に含まれていることが明らかになった。栽培後、圃場に鋤き込まれる陸稲などイネ科作物の残茎や根は、その腐朽過程において、土壤微生物の有機物源として利用されるとともに、遊離のフェノール性酸が放出されることが考えられる。イネ科作物中のフェノール性酸は、土壤中の分解過程で土壤微生物に影響を与え、野菜連作障害軽減に関与していると推察された。

第Ⅲ章 陸稲中に含まれるフェノール性酸の諸特性

陸稲作付が野菜類の連作障害軽減に効果があるのは、

- ① 陸稲中のある物質が病原菌以外の土壤微生物を増殖させ、その結果として微生物間の競合や抗生などによる拮抗作用を現わす。あるいは、② 陸稲中のある物質が野菜類の連作によって増殖した土壤病原菌群に対して殺菌などの抗菌作用を有しているためではないかと考えられる。

そこで、前章では土壤微生物に影響を及ぼすと考えられる陸稲根からの糖、アミノ酸の分泌、および陸稲根と茎葉中に含まれる糖、アミノ酸、フェノール性酸について検討を行った。その結果、陸稲根には可溶性糖や遊離アミノ酸など微生物にとって利用しやすい有機物は小麦、ゴボウ、トマト、ピーマンと比べてきわめて少なかった。しかし、ゴボウ、トマト、ピーマンなどの野菜類では極めて微量であった *p*-クマル酸やフェルラ酸等のフェノール性酸は陸稲中には多量に含まれることを明らかにした。

本章では陸稲中のフェノール性酸類に着目し、それらが土壤微生物の増殖と土壤微生物相に及ぼす影響、およ

び土壌病原菌に対する抗菌作用と作物生育に対する阻害作用などの諸特性を明らかにするため試験を行った。

第1節 陸稲中に含まれるフェノール性酸が土壌微生物の増殖および土壌微生物相に及ぼす影響

ここでは、陸稲中に含まれる主要フェノール性酸である

-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸が土壌微生物の増殖および微生物相に及ぼす影響と

-クマル酸の土壌中での分解について試験した。

1. 土壌微生物の増殖に及ぼす影響

陸稲中に含まれる主要なフェノール性酸である

-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸が土壌微生物の増殖に及ぼす影響を、微生物熱量計を用いて試験した。

1) 材料および方法

(1) 供試土壌

茨城県農業総合センター農業研究所圃場の表層腐植質黒ボク土を、室内で風乾した後砕土し、2 mmのふるいで篩別したものを供試した。この土壌は4年連作ゴボウ栽培跡地土である。供試土壌の理化学性は第3-1表に示した。

(2) 供試フェノール性酸と調製方法

陸稲中の主要フェノール性酸である

-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸の各市販試薬を水酸化カリウム溶液で溶解し、10 g kg⁻¹の中和溶液を作成して供試した。また、10 g kg⁻¹グルコース液を対照の炭素源として供試した。

(3) 土壌微生物増殖の測定法

200 mlの平底ねじ口びんに風乾したゴボウ栽培跡地土を30 gを秤量し、窒素源として100 g kg⁻¹の硫酸アンモニウム溶液を3 ml、10 g kg⁻¹の各フェノール性酸液3 mlを加え、含水比が500 g kg⁻¹になるように調製した。この試料を微生物熱量計TMC-8307/8（日本医化器械製作所製）を用いて測定した。本装置は6個の培養セルと1個の対照セルからなっている。培養セル内の微生物活動によって発生した熱は、セルの底面から熱電圧変換素子を通過して、一定温度に保たれたヒートシンクへ流れる。そのときに変換された熱起電力は、対照との差をとったのち電圧計に入り、記録計に経時変化として記録される。この記録をサーモグラムと呼ぶ。本装置は6点式で、5秒ごとに各セルを切り替えて計測し、1つのセルについて30秒毎の発生熱量の瞬間値に相当する電位差が記録される（新井1993、山野1984）。

この装置を用いて、培養セル内に炭素源無添加、およびグルコース、*p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸をそれぞれ添加した試料をセットして、15℃、20℃、25℃、30℃の各温度で1週間培養した。

2) 結果

(1) 微生物増殖パターン

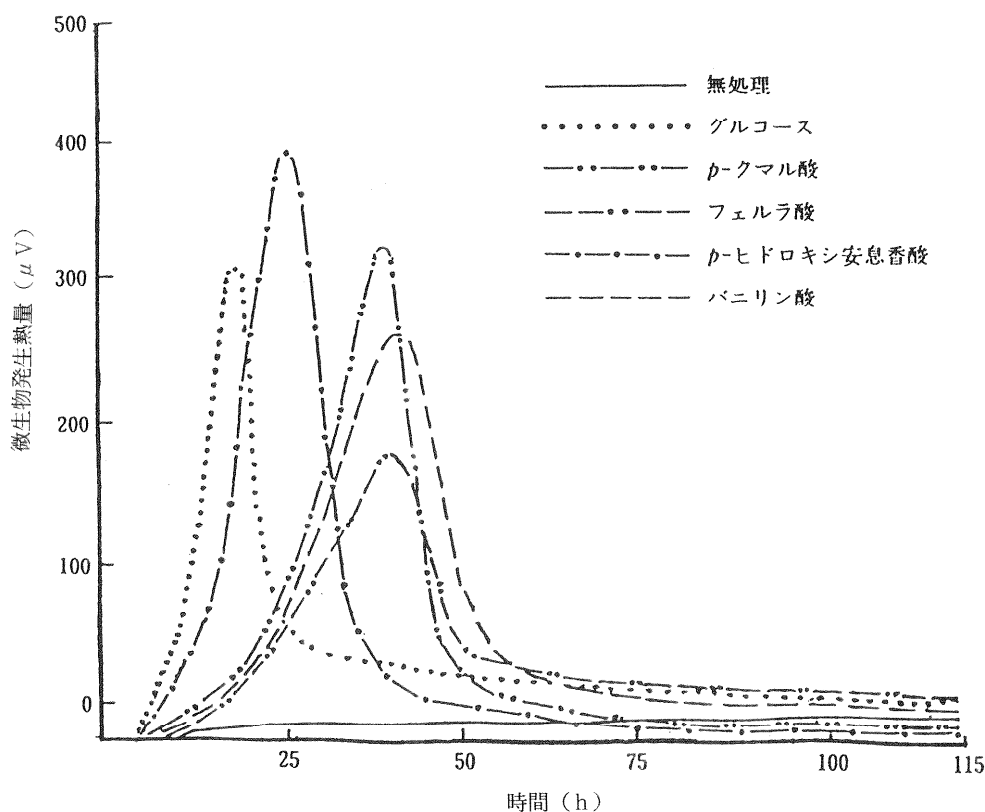
第3-1図はフェノール性酸を土壌に添加し、25℃で培養した微生物熱量計のサーモグラムを示した。

炭素源無添加区では微生物の増殖を示すピークが認められなかった。グルコース区では早期に微生物増殖が始

第3-1表 供試土壌の理化学性

前作	土色	pH	T-C (KCl)	T-N g kg ⁻¹	CEC cmol kg ⁻¹	置換性塩基(g kg ⁻¹)			有効態*リン酸 g kg ⁻¹	リン酸吸収 係数
						CaO	MgO	K ₂ O		
ゴボウ	7.5YR3/3	5.5	34	2.4	15.7	2.20	0.31	0.30	0.113	2,200
陸稲	7.5YR2/1	5.0	54	3.5	18.1	1.14	0.23	0.11	0.175	2,080

* : Truog 法で測定



第3-1図 フェノール性酸添加と土壌バイオマス増殖サーモグラム

まり、約19時間でピークに達した。次いで、*p*-ヒドロキシ安息香酸区で増殖が始まり25時間でピークに、*p*-クマル酸区、フェルラ酸区、バニリン酸区では38～40時間でピークに達した。また、微生物の増殖は約75時間ですべての処理区の増殖曲線がほぼ水平を示し、平衡状態に達した。このことから、フェノール性酸の土壌添加は比較的速やかに土壌微生物を活性化し、75時間(3.1日)程度で微生物の増殖は終了することが示唆された。本試験において、フェノール性酸を土壌に添加することによって、グルコース添加区と同様に熱の発生がみられたことから、フェノール性酸はグルコース同様に微生物増殖効果があることが明らかになった。

(2) 培養温度の影響

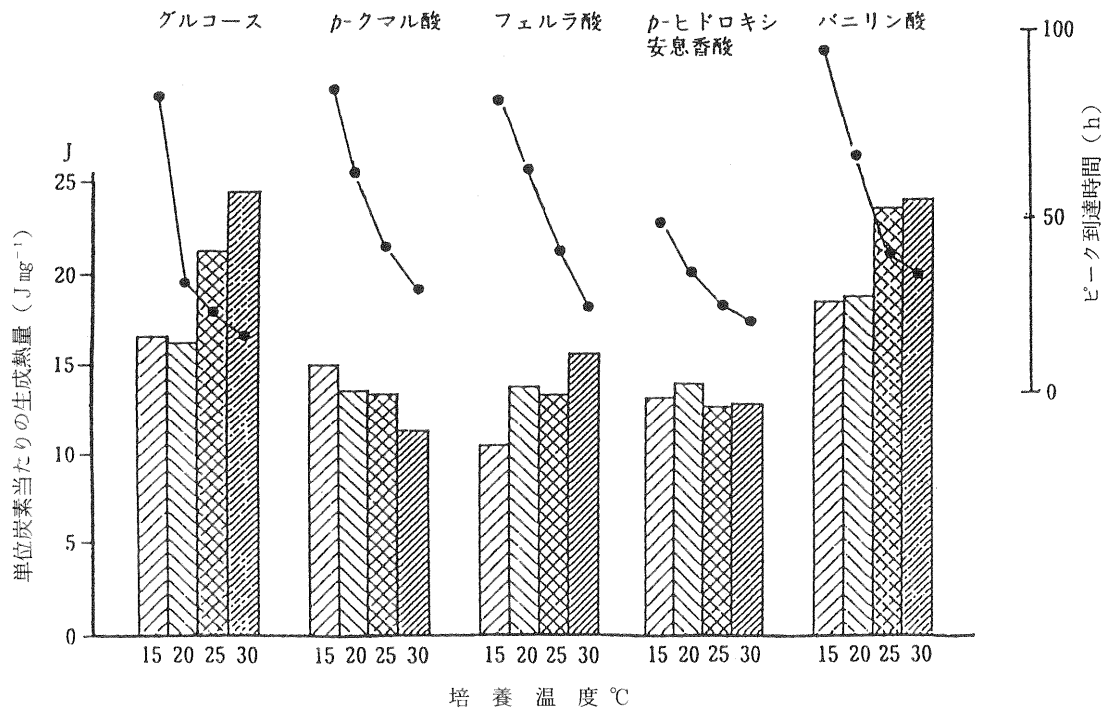
第3-2図は、培養温度の違いがグルコースとフェノール性酸化合物中の炭素1mg当たりの生成熱量と微生物増殖が最も活発になる増殖ピーク到達時間を示した。生成熱量は第3-1図に示したサーモグラムを積分し、エネルギー(ジュール)に変換したものである。なお、単位炭素当たりの生成熱量は次式によって求めた。

$$\text{単位炭素当たりの生成熱量 (J mg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{生成熱量 (J)}}{\text{化合物中の炭素量 (mg)}}$$

微生物の増殖にともなう熱の生成は、無処理区では認められなかったが、その他の処理区ではいずれも認められた。単位炭素当たりの生成熱量はバニリン酸区とグルコース区が高く、*p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸区はやや低い傾向を示した。

培養温度と単位炭素当たりの生成熱量の関係は、グルコース区、フェルラ酸区、バニリン酸区は培養温度を高めると単位炭素当たりの生成熱量は高まる傾向を示したが、*p*-クマル酸区は逆に低下する傾向を示し、*p*-ヒドロキシ安息香酸区は培養温度の違いによる単位炭素当たりの生成熱量の差は小さかった。

培養温度とピーク到達時間との関係では、最も速くピークに到達したのは30℃のグルコース区で、約15時間、最も遅いのは15℃のバニリン酸区で、約100時間であった。20℃では*p*-クマル酸、フェルラ酸、バニリン酸区は約70時間、グルコース、*p*-ヒドロキシ安息香酸区は約30時間であった。25℃以上ではすべての処理区がほ



第3-2図 フェノール性酸と培養温度の違いが微生物生成熱量とピーク到達時間に及ぼす影響

ば50時間以内でピークをむかえ、培養温度を高めると微生物の増殖速度が早まる傾向を示した。

3) 考察

この試験では土壤微生物の増殖を微生物熱量計で判定した。微生物熱量計は細胞が生成する微小熱量を計測して土壤微生物の増殖を判定することができる(山野1984)。土壤微生物の増殖は細胞分裂にともなう細胞数の増加となって現れるため、このとき発生する微小熱量を計測するのである。その特徴は従来用いられてきた土壤くん蒸後炭酸ガス発生量の増加量から測定する方法とは異なり、非破壊的な直接的計測法といえる。また、微生物熱量計の増殖サーモグラムは、微生物増殖曲線の微分型で与えられるという特徴を持っており、増殖途上の変化が鋭敏に観測できる。さらに、ピークに達する時間は微生物の増殖が最大に達する時間とみなすことができる(金野1984)とされている。

第3-1図に示したように、増殖サーモグラムは正規分布を示すものと仮定すると、最も遅いバニリン酸の15℃培養区でも最高ピーク到達時間の2倍の200時間(8.3日)で微生物増殖はほぼ終了するものと考えられる。同様に20℃および25℃下での培養では、増殖

終了はそれぞれ140時間(5.8日)、100時間(4.2日)と短縮されると推定される。

本試験ではグルコースやフェノール性酸の種類によって炭素単位当たりの微生物生成熱量に違いがみられた。Sinndouら(1976, 1977)は土壤中の遊離フェノール性酸は、一部は微生物分解を受け、他方は土壤に吸着されて腐植生成に寄与しているとしている。さらに、フェノール性酸の吸着はその構造により影響され、吸着量は

クマル酸

 > *p*-ヒドロキシ安息香酸 > フェルラ酸 > バニリン酸の傾向があることを示している。本試験で得られた炭素単位の微生物生成熱量は、ほぼこれと逆の順位の傾向がみられることから、微生物の利用できる炭素量が土壤吸着によって減少したためと考えられる。

以上の試験結果から、フェノール性酸の土壤添加は15℃の低温条件から土壤微生物を増殖させ、約1週間以内に微生物増殖は終了することが明らかになった。また、培養温度を変えても単位炭素当たりの生成熱量の差が小さかったことから、フェノール性酸は広い温度条件のもとで、安定的に微生物増殖効果を有していると考えられる。

しかし、フェノール性酸の種類によって増殖速度、最

大ピーク、増殖期間、生成熱量、温度変化に対する変動パターンなどが異なることから、フェノール性酸の種類によって増殖する微生物に違いがあることが示唆された。

2. 土壤微生物相に及ぼす影響

フェノール性酸を土壤に添加すると、微生物増殖による熱生成がみられた。ここでは、増殖する微生物相を明らかにするため、試験を行った。

1) 材料および方法

(1) 供試土壤

茨城県農業総合センター農業研究所圃場の表層腐植質黒ボク土を、室内で風乾した後砕土し、2 mmのふるいで篩別したものを供試した。この土壤は前記試験1で供試した4年連作ゴボウ栽培跡地土壤および陸稲跡地土壤を供試した。陸稲跡地土壤の理化学性は3-1表に示した。

(2) 供試フェノール性酸

本節1. 1) (2)で用いたフェノール性酸を供試した。

(3) 培養方法

200 mlの平底のねじ口びんに風乾土30 gをとり、窒素源として100 g kg⁻¹の硫酸アンモニウム溶液を3 ml, 10 g kg⁻¹の各フェノール性酸液3 mlを加え、含水比が500 g kg⁻¹になるように調製した。これを微生物熱量計の恒温器内で1週間培養した。なお、グルコース液を加え、同様に処理したものを対照とした。

(4) 土壤微生物相の測定方法

培養温度25℃で培養したものを土壤微生物相の測定に供試した。比較として陸稲跡地土壤を同様に処理したものをあわせて供試した。測定方法は希釈平板法であった。培養した土壤を全量採取し、270 mlの殺菌水に懸濁し、逐次希釈したものを用いた。希釈水は土壤粒子の懸濁を良くするために0.5 g kg⁻¹の寒天を加えたものを用いた。糸状菌数の測定はローズベンガル寒天培地（近藤ら1975）、全菌数（細菌類）はエッグアルブミン寒天培地（近藤ら1975）、フザリウム菌数は駒田培地（駒田1971）を用い、糸状菌、フザリウム菌測定には28℃で3日間、全菌数測定は28℃で7日間培養した。培養後コロニー数を計測し、シャーレ5枚の平均値を測定値とした。

2) 結果

第3-2表は陸稲跡地およびゴボウ連作跡地土壤にフェノール性酸を添加して、25℃で1週間培養したのちの土壤微生物相を示した。

(1) 陸稲跡地土壤

ローズベンガル寒天培地で検出される糸状菌数はフェノール性酸の添加区で著しい増加が認められた。すなわち無処理区の糸状菌数 68×10^3 を1としたとき、グルコース区が1.3に対し、*p*-クマル酸区は11.4、*p*-ヒドロキシ安息香酸区とバニリン酸区は9.3、フェルラ酸区は6.3であった。

フザリウム選択培地である駒田培地上でのフザリウム菌数は、無処理区の 19×10^3 を1としたとき、グルコース区の3.0に対し、バニリン酸区は11.5、フェルラ酸区は5.9、*p*-ヒドロキシ安息香酸区は4.5、*p*-クマル酸区は4.4を示し、ローズベンガル培地で検出された糸状菌と同様にフェノール性酸添加によって増加した。

全糸状菌数に占めるフザリウム菌数の割合（以下F率という）を次式によって求めた。

$$F \text{ 率} (\%) = (\text{フザリウム菌数} \div \text{全糸状菌数}) \times 100.$$

F率はグルコースを炭素源とした場合63.3%と最も高く、次いでバニリン酸区37.9%、無処理区27.9%、フェルラ酸区26.2%、*p*-ヒドロキシ安息香酸区12.4%、*p*-クマル酸区10.7%であった。フェノール性酸の種類によって全糸状菌数に占めるフザリウム菌数の割合は異なっていた。

放線菌数は区間差が少なく、フェノール性酸の影響が小さいと推定された。

全菌数（細菌類）はグルコース、フェノール性酸処理区とも増加を示したが、無処理区に比べて3.7倍から6倍の範囲であり、糸状菌数の増加の6.3倍から11.4倍に比べて小さかった。

(2) ゴボウ4年連作跡地土壤

ゴボウ4年連作跡地土壤における無処理区の糸状菌数は 53×10^3 であり、陸稲跡地土壤とほぼ同じであった。無処理区の糸状菌数を1としたとき、グルコース区は2.6、*p*-ヒドロキシ安息香酸区は38.0、*p*-クマル酸区は35.2、フェルラ酸区は16.7、バニリン酸区は10.3と著しく増加した。ゴボウ4年連作跡地の増加割合は、*p*-ヒド

第3-2表 フェノール性酸添加が土壤微生物相に与える影響

土壌 処理	全糸状菌	フザリウム菌数	F率 ^{a)}	放線菌数	全菌数
	× 10 ³	× 10 ³	(%)	× 10 ⁵	× 10 ⁶
陸 無処理	68 ^{b)} (1 ^{c)})	19 (1)	27.9	22	44 (1)
稲 グルコース ^{d)}	90 (1.3)	57 (3.0)	63.3	15	147 (3.3)
跡 p-クマル酸	777 (11.4)	83 (4.4)	10.7	26	180 (4.1)
地 フェルラ酸	431 (6.3)	113 (5.9)	26.2	20	189 (4.3)
土 p-ヒドロキシ安息香酸	636 (9.3)	79 (4.2)	12.4	15	262 (6.0)
バニリン酸	634 (9.3)	218 (11.5)	37.9	22	161 (3.7)

ゴ 無処理	53 (1)	4 (1)	7.5	4	42 (1)
ボ グルコース ^{d)}	138 (2.6)	35 (8.8)	25.4	42	117 (2.8)
ウ p-クマル酸	1857 (35.2)	231 (57.8)	12.4	4	147 (3.5)
連 フェルラ酸	882 (16.7)	216 (54.0)	24.5	4	260 (6.2)
作 p-ヒドロキシ安息香酸	2008 (38.0)	114 (28.5)	5.7	4	394 (9.4)
土 バニリン酸	541 (10.3)	187 (46.8)	34.6	4	444 (11.6)

a): F率 (フザリウム菌率) = (フザリウム菌数 ÷ 糸状菌数) × 100

b): 乾土 1 g 当たりの菌数

c): 無処理区を1としたときの倍数

d): 対象に用いた炭素源。

ロキシ安息香酸区とp-クマル酸区が陸稲跡地よりも大きかった。

フザリウム菌数も糸状菌数と同様、フェノール性酸処理により著しい増加を示したが、F率はバニリン酸区とフェルラ酸区が高く、p-クマル酸区とp-ヒドロキシ安息香酸区は低い傾向を示した。

放線菌数は、陸稲跡地同様フェノール性酸処理による影響は認められず、全菌数もグルコース、フェノール性酸処理とも増加の傾向が認められるものの、糸状菌に比べ増加の程度は小さかった。

3) 考察

土壌に有機物や土壤微生物の栄養基質を加えることによって土壤微生物が増殖することは良く知られている。堀ら (1980) は完熟堆肥と未分解有機物では微生物の増殖に大きな差があり、完熟堆肥の施用では、菌密度の変

化はないが、未分解有機物施用では、数十～数百倍に菌密度が高まるとしている。また、下長根 (1992) はカニ殻、乾燥豚糞、コーヒー粕、モミガラなどの各種有機物を施用して、土壤微生物相の差異について検討している。これによれば、細菌を増殖させる効果の高いものは乾燥豚糞で、カニ殻と乾燥豚糞は放線菌を増殖させ、コーヒー粕は糸状菌の増殖効果の高いことを報告しており、有機物の種類によって増殖する微生物相に差があることを明らかにしている。

本試験結果では、フェノール性酸は未分解有機物のように土壤微生物を増加させる効果が大きいことが明らかになった。最も増殖効果の高い微生物相は糸状菌類、次いで細菌類であり、放線菌類の増殖効果は認められなかった。また、土壤病原菌に及ぼすフェノール性酸の影響をみるためにフザリウム菌数を測定したが、糸状菌同様に

増加したことから、フザリウム菌に対するフェノール性酸の選択的な増殖抑制効果はみられなかった。一方、*p*-クマル酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸を土壤に添加すると、グルコース添加区など他の処理区を下回る低いF率を示した。このことは*p*-クマル酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸は、フザリウム菌以外の糸状菌の増殖に対してより選択的に寄与し、それがF率を相対的に低下させたと考えられる。

以上のことは、陸稲栽培跡地およびゴボウ連作土壤とも共通的に認められたことから、フェノール性酸施用による土壤微生物増殖効果は土壤中の一般的な微生物反応であることが示唆された。

3. 土壤糸状菌フロラに及ぼす影響

フェノール性酸が糸状菌の増殖に効果があることが認められたので、フェノール性酸が糸状菌フロラに及ぼす影響を明らかにするため、培養温度を変えて試験を行った。

1) 材料および方法

(1) 供試土壤

茨城県農業総合センター農業研究所圃場の表層腐植質黒ボク土を、室内で風乾した後碎土し、2mmのふるいで篩別したものを供試した。ここでは連作ゴボウ栽培跡地土壤を供試した。

(2) 供試フェノール性酸

本節1. 1) (2)と同じフェノール性酸を供試した。

(3) 培養方法

本節2. 1) (3)と同様に培養した。

(4) 土壤糸状菌の同定試料と方法

培養温度が土壤糸状菌フロラに及ぼす影響を詳しく見るために、微生物熱量計で高温条件(30℃)と低温条件(20℃)で培養した試料を供試した。糸状菌の同定は、ローズベンガル寒天培地上で培養した糸状菌コロニーを白金線で釣り上げ、PDA (potato dextrose agar) 培地に移して培養したのち、肉眼で菌叢の外観観察を行った。さらに、この菌叢を切り取り、顕微鏡で分生子柄、分生胞子の形態観察を行い、Barnettら(1972)のイラスト、渡邊(1993)の写真版を参考にして糸状菌種を同定した。

2) 結果

(1) 糸状菌に与える培養温度の影響

ゴボウ連作土壤に各種フェノール性酸を添加し、20

℃と30℃で1週間培養した後、土壤中の糸状菌とフザリウム菌を計測した結果を第3-3表に示した。*p*-クマル酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸の添加区では、培養温度を20℃から30℃に上げることにより糸状菌数が著しく増加した。また、フザリウム菌数も増加する傾向が見られた。これに対し、フェルラ酸とグルコース添加区の場合は、培養温度が高いと糸状菌数、フザリウム菌数とも減少し、バニリン酸添加区および無処理区は培養温度による影響は少なかった。20℃のF率はバニリン酸>フェルラ酸>グルコース>*p*-クマル酸>無処理>*p*-ヒドロキシ安息香酸区の順であったが、30℃ではフェルラ酸>バニリン酸>グルコース>無処理>*p*-ヒドロキシ安息香酸>*p*-クマル酸区の順になった。F率は培養温度にかかわらず、フェルラ酸とバニリン酸では高く、*p*-クマル酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸は低い傾向が認められた。

(2) 土壤糸状菌フロラの影響

第3-4表は糸状菌を同定した結果を示した。無処理区のペニシリウム属は20℃、30℃培養とも全コロニー数のうち61~63%を示した。また、グルコース区でも無処理区とほぼ同じ割合でペニシリウム属が検出された。これに対して、*p*-クマル酸添加区ではペニシリウム属の比率は20℃で86.4%、30℃で85.2%を占め、*p*-ヒドロキシ安息香酸添加区でも、20℃で100%、30℃で96.2%を占めた。一方、バニリン酸区とフェルラ酸区ではペニシリウム属の割合が無処理区よりやや低く、フザリウム属の割合は無処理区より高かった。

また、肉眼および顕微鏡の観察で、全糸状菌数に占めるフザリウム菌数の割合は、*p*-クマル酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸区で低かった。この結果は、試験2で実施したローズベンガル寒天培地と駒田培地を用いて算出したF率の傾向と一致した。

その他の糸状菌として、*Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, *Rhizopus* 等が検出されたが、未同定糸状菌類も多く検出された。

第3-5表に駒田培地上でのフザリウム属菌の同定を行った結果を示した。同定された菌種は、*F.oxysporum* と *F.solani* の2種類であった。これらの検出割合は、

第3-3表 フェノール性酸と培養温度が土壤糸状菌およびフザリウム菌数に及ぼす影響

処理	培養温度 ℃	糸状菌 $\times 10^3$	フザリウム $\times 10^3$	F率 ^{a)} (%)
無処理	20	46 ^{b)}	4 ^{b)}	8.7
	30	42	4	9.5
グルコース ^{c)}	20	240	48	20.0
	30	186	30	16.1
<i>p</i> -クマル酸	20	1760	160	9.1
	30	4660	222	4.7
フェルラ酸	20	480	111	22.9
	30	324	86	26.5
<i>p</i> -ヒドロキシ安息香酸	20	1540	77	5.0
	30	4040	208	5.1
バニリン酸	20	990	265	27.8
	30	1060	246	23.2

a): F率 (フザリウム菌率) = (フザリウム菌数 ÷ 糸状菌数) $\times 100$

b): 乾土 1 g 当たりの菌数

c): 対照に用いた炭素源。

無処理区で 94.4 % が *F.oxysporum*, 5.6 % が *F.solani* であり, グルコース区ではすべて *F.oxysporum* であった。これに対して, フェノール性酸添加区は *F.solani* の検出割合が増加した。

3) 考察

フェノール性酸を土壤に添加すると糸状菌が増殖し, とくにペニシリウム属の増加が著しかったことから, これらのフェノール性酸はペニシリウム属を選択的に増殖させる作用を持っていることが示唆された。藤井ら (1970) は, 本実験と同様に風乾土を供試し, 一定期間培養したのち土壤糸状菌の同定を行って, ペニシリウムは 28.7 % から 73.4 % を占める優占菌種で, フザリウムは 0 から 12.7 % を占めるという報告をしている。また, Parkinson (1965) は菌糸状態の糸状菌を洗い流す洗浄法と希釈平板法とを用いて糸状菌の種類と菌数を比較し, 平板法を用いるとペニシリウムが優占することを明らかにしている。石沢ら (1958) は土壤微生物の詳細かつ広

範な研究を行ない, 添加する有機物の種類と平板上に生育する糸状菌の種類については, グルコースやペプトンではペニシリウム属, 稲わら, アルファルファでは白色系のかび, 堆肥では *Mucor* 属が多くみられ, 添加する有機物の種類によって増殖する糸状菌種が異なることを報告している。

本試験でも, 風乾土を用いて希釈平板法による測定を行ったところ, ペニシリウム属が 50 % 以上を占めた。また, *p*-クマル酸や *p*-ヒドロキシ安息香酸の施用により, ペニシリウム属が 85 % 以上に高まることが明らかになった。

Dobbs ら (1953) は自然土壤は孢子の発芽または菌糸の生育を阻止する作用を有することを明らかにし, これを一般に土壤の静菌作用 (Soil fungistasis) と呼んでいる。この作用は土壤殺菌で消失し, 次いで土壤微生物懸濁液を加えると回復し, さらに, この静菌作用を回復した土壤にグルコースなどの養分を加えると静菌作用

第3-4表 各種フェノール性酸添加における土壌糸状菌のフロラ

区 名	培養 温度	採取 コロニー数	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	その他 ^{a)}	未同定
<i>p</i> -クマル酸	20	44	38(86.4)	4(9.1)	Asp ¹⁾ 1	1
	30	54	46(85.2)	2(3.7)	Paec ²⁾ 2, Tric ³⁾ 1	3
フェルラ酸	20	24	14(58.3)	5(20.8)	Asp1	4
	30	40	19(47.9)	7(17.5)	Tric3	11
<i>p</i> -ヒドロキシ安息香酸	20	39	39(100)	0(0)		0
	30	52	50(96.2)	1(2.0)		1
バニリン酸	20	34	20(58.8)	10(29.4)		4
	30	41	21(51.2)	13(31.7)		7
グルコース	20	13	8(61.5)	2(15.4)	Tric1, Rizp ⁴⁾ 1	1
	30	40	24(60.0)	6(15.0)	Tric3, paec1	6
無処理	20	22	14(63.3)	1(7.1)	Asp1, Paec1,	5
	30	36	22(61.1)	4(11.1)	Asp1, Paec3	6

Asp¹⁾ = *Aspergillus*, Paec²⁾ = *Paecilomyces*, Tric³⁾ = *Trichoderma*, Rhizp⁴⁾ = *Rhizopus*

(): 分離コロニーに対する割合

第3-5表 駒田培地使用によるフザリウム属菌の同定

区 名	測定数	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>
<i>p</i> -クマル酸	110	91 (82.7)	19(17.3)
フェルラ酸	43	38 (88.4)	5(11.6)
<i>p</i> -ヒドロキシ安息香酸	104	85 (81.7)	19(18.3)
バニリン酸	123	88 (71.5)	35(28.5)
グルコース	15	15(100)	0 (0)
無処理	18	17 (94.4)	1 (5.6)

(): 全フザリウム菌数に対する割合。

は消去されることなどから見て、土壌静菌作用は土壌中の微生物に由来する現象である (Lockwood 1964) としている。また、そのメカニズムは、胞子の発芽に必要な物質がすでに活性を持つ他の微生物に利用されて欠乏するためであり、あるいはほかの微生物の生産する発芽阻害物質の存在による (松尾ら1980) と考えられている。

本試験結果から、*p*-クマル酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸を土壌に添加すると糸状菌が増殖し、とくにペニシリウ

ム属の増加が著しかった。このような植物病原性を持たないペニシリウム属が優占することは、微生物間の競争によってフザリウム菌などの土壌病原菌の増殖を抑制し、また、ペニシリウム属菌の産生する抗生物質によって土壌病原菌を抑圧し、野菜連作障害の主要因である土壌病害を軽減する可能性を示唆していると考えられる。

4. *p*-クマル酸の土壌中での分解

土壌中におけるフェノール性酸の分解が微生物によって起こることを明らかにするため、*p*-クマル酸を用いて土壌中の分解試験を行った。

1) 材料および方法

(1) 供試土壌

茨城県農業総合センター農業研究所内圃場の表層腐植質黒ボク土を供試した。

(2) 処理及び調査方法

200 mlの平底のねじ口びんに風乾土 30 gをとり、窒素源として 100 g kg⁻¹の硫酸アンモニウム溶液を 3 ml, 10

g kg⁻¹の各フェノール性酸液 3 mlを加え、含水比が 500g kg⁻¹になるように調製した。この一方をオートクレーブで殺菌し、他方を殺菌せずに、30℃の恒温器内で3週間培養し、1週間おきに経時的にp-クマル酸の残存率を調査した。p-クマル酸の抽出方法は草野ら(1974)の方法により、また分析は第2章で述べた方法によった。

2) 結果

殺菌処理土と無殺菌土におけるp-クマル酸の残存割合を第3-6表に示した。殺菌処理土では1週間から3週間までp-クマル酸の減少は見られなかった。無殺菌土の場合、1週間後ではp-クマル酸がわずかに認められたが、2週間以降は検出されなかった。

3) 考察

フェノール性酸の土壌中での消長について、草野ら(1974)はp-クマル酸は4日で90%以上分解されることを明らかにし、Martinら(1976)はバニリン酸は1週間で82%分解し、フェルラ酸も60%程度分解することを報告しており、比較的速やかに分解することが知られ

第3-6表 p-クマル酸の土壌中での経時変化

処理	経過日数による残存率*		
	7日	14日	21日
無殺菌	12 %	0	0
殺菌	98	83	100

* : 残存率は(残存量÷添加量)×100で求めた。

ている。本試験においても、無殺菌土では、添加したp-クマル酸は2週間目以降化学分析で検出されなかった。このことはp-クマル酸が微生物によってすべて分解・消失したか、あるいは他の化合物に変化したものと考えられる。後者の場合、微生物分解を受ける過程で時間の経過とともに中間生成物を経て、単純な化合物に変化していくと考えられる。

第2節 ゴボウ苗立枯病菌およびゴボウ萎ちょう病菌に対するフェノール性酸の抗菌作用と発病に及ぼす影響

前節では陸稲中に含まれるフェノール性酸類が土壌微生物相および微生物活性に及ぼす影響について試験を行い、p-クマル酸とp-ヒドロキシ安息香酸はペニシリウム属を活性化し、フザリウム属などの土壌病原菌密度を相対的に低下させることを明らかにした。

ここでは、陸稲中に含まれるフェノール性酸がゴボウの連作障害の原因とされるゴボウ苗立枯病菌とゴボウ萎ちょう病菌の土壌病原菌に対する抗菌作用とその発病に及ぼす影響を明らかにするために試験を行った。

1. ゴボウ苗立枯病菌およびゴボウ萎ちょう病菌に対する抗菌活性

ゴボウ苗立枯病菌およびゴボウ萎ちょう病菌に対するフェノール性酸の抗菌活性について、既知の抗菌性化合物を対照として試験した。

1) 材料および方法

(1) 供試菌株

茨城県総合農業センター農業研究所病虫研究室で分離した、ゴボウ苗立枯病菌：*Rhizoctonia solani* AG-4 R 63菌株、ゴボウ萎ちょう病菌：*Fusarium oxysporum* f. sp. *arctii* 菌株を供試した。

(2) 供試フェノール性酸および対照に用いた抗菌化合物

① 陸稲中に含まれるフェノール性酸：市販試薬のp-クマル酸、フェルラ酸、p-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸を水酸化カリウム液で溶解した後、pH 7に調製した中和溶液。

② 植物中に含まれ、すでに抗菌活性が認められている抗菌性化合物(芦田ら1959, 堀口1982)：ケイ皮酸、安息香酸、クマリン(Coumarin)、ウンベリフェロン(4-Hydroxy coumarin)を水酸化カリウム液で溶解した後、pH 7に調製した中和溶液。

(3) 抗菌性の検定方法

抗菌性の検定は、抗菌活性測定に用いられている寒天平板法(飯田ら1971)によって行った。直径90mmの

シャーレにオートクレーブで滅菌したPDA (Potato dextrose agar) 18 mlと、各フェノール性酸および抗菌性化合物溶液の10 g kg⁻¹、および1 g kg⁻¹液をミリボアフィルターを通して2 ml加えてよく混ぜあわせ、1,000 mg L⁻¹および100 mg L⁻¹のフェノール性酸および抗菌性化合物添加培地を作成した。一方、直径90 mmのPDA培地の入ったシャーレの中央に供試菌株の*R.solani* および *F.oxysporum* を移植し、*R.solani* は28℃の恒温器内で3日間、*F.oxysporum* は6日間培養した。培養後、菌叢の先端部分を7 mmのコルクボーラーで打ち抜き、フェノール性酸および抗菌性化合物添加培地の中央に移植して、抗菌性検定を行った。

(4) 調査方法

菌叢ディスクを移植後、*R.solani* では28℃で3日間、*F.oxysporum* では28℃で7日間培養した。培養後、コロニーの直径を測定し、コロニーの直径から菌叢ディスクの直径をひいた値を菌叢の生育とした。なお、各処理5枚のシャーレを用い、平均値をとった。抗菌活性の判定は無処理区の菌糸伸長を100としたとき、80以下を活性有りとした。

3) 結果

第3-7表はフェノール性酸と抗菌性化合物がゴボウ苗立枯病菌 *R.solani* とゴボウ萎ちょう病菌 *F.oxysporum* f. sp. *arctii* の菌糸伸長に及ぼす影響を示した。

(1) *R.solani* に対する抗菌活性

無処理区の *R.solani* の菌糸伸長は48.4 mmであった。無処理区の菌糸伸長を100としたとき、1,000 mg L⁻¹の *p*-クマル酸区とフェルラ酸区ではそれぞれ79.3, 56.6を示し、抗菌活性が認められた。しかし、バニリン酸と *p*-ヒドロキシ安息香酸1,000 mg L⁻¹区では80以上を示し、抗菌活性は認められなかった。100 mg L⁻¹の濃度ではすべてのフェノール性酸区で80以上を示し、抗菌活性は認められなかった。

これに対して、抗菌性化合物のケイ皮酸1,000 mg L⁻¹区では菌叢ディスク上の菌糸が溶菌された。また、

1,000 mg L⁻¹ウンベリフェロン区では10.3, 安息香酸区は54.5を示し、抗菌活性が認められた。100 mg L⁻¹の濃度ではケイ皮酸区は49.5, クマリン区56.2, ウンベリフェロン区は75.6を示し、抗菌活性が認められたが、安息香酸区は94.6を示し、抗菌活性は認められなかった。

以上のことから、*R.solani* に対する陸稲中に含まれるフェノール性酸の抗菌活性は1,000 mg L⁻¹の *p*-クマル酸とフェルラ酸で認められたが、抗菌性化合物の効果よりも劣る傾向を示した。

(2) *F.oxysporum* に対する抗菌活性

F.oxysporum を移植した無処理区の菌糸伸長は53.4 mmであった。写真3-1に示したように *p*-クマル酸1,000 mg L⁻¹区では菌叢ディスク上の菌糸が溶菌され、菌糸伸長はまったく認められなかった。このほか、無処理区の菌糸伸長を100としたとき、フェルラ酸1,000 mg L⁻¹区が68.5を示し、抗菌活性が認められたが、バニリン酸と *p*-ヒドロキシ安息香酸1,000 mg L⁻¹区は80以上を示し、抗菌活性は認められなかった。また、100 mg L⁻¹の濃度では1,000 mg L⁻¹ *p*-クマル酸区で認められたような菌叢ディスクの溶菌は見られず、他のフェノール性酸もすべて80以上の値を示し、抗菌活性は認められなかった。

抗菌性化合物のウンベリフェロン1,000 mg L⁻¹区は8.2を示し、菌糸の伸長を強く抑制した。安息香酸とケイ皮酸1,000 mg L⁻¹区はそれぞれ80以上を示し、抗菌活性が認められなかった。ウンベリフェロン100 mg L⁻¹区は85.4を示し、1,000 mg L⁻¹区で認められた抗菌活性はなくなった。100 mg L⁻¹クマリン区は79.4を示し、弱い抗菌活性が認められたが、その他の抗菌性化合物100 mg L⁻¹区では抗菌活性が認められなかった。

以上のことから *F.oxysporum* に対する抗菌活性は、1,000 mg L⁻¹の濃度では *p*-クマル酸は抗菌性物質のウンベリフェロンと同等、フェルラ酸は安息香酸を上回ることを示された。

第3-7表 陸稲中に含まれるフェノール性酸および抗菌および抗菌性物質が *R.solani* および *F.oxysporum* の菌糸伸長に及ぼす影響

区	濃度	<i>R. solani</i>		<i>F. oxysporum</i>	
		菌糸伸長	指数	菌糸伸長	指数
	mgL ⁻¹	mm		mm	
無処理	—	48.4	100	53.4	100

陸フ	<i>p</i> -クマル酸	1 0 0 0	38.4**	79.3	0.0
稲エ		1 0 0	48.4	100.0	52.4
中ノ	フェルラ酸	1 0 0 0	27.4**	56.6	36.6**
に		1 0 0	42.6	88.0	47.2**
含ル					
ま性	<i>p</i> -HBA ^{a)}	1 0 0 0	50.7	104.7	54.2
れ酸		1 0 0	50.0	103.3	54.4
る					
	バニリン酸	1 0 0 0	48.6	100.4	46.6**
		1 0 0	48.8	100.8	54.4

抗	ケイ皮酸	1 0 0 0	0.0	0.0	53.4
菌		1 0 0	22.2**	45.9	50.0
性					
物	安息香酸	1 0 0 0	26.4**	54.5	43.8**
質		1 0 0	45.8	94.6	47.6**

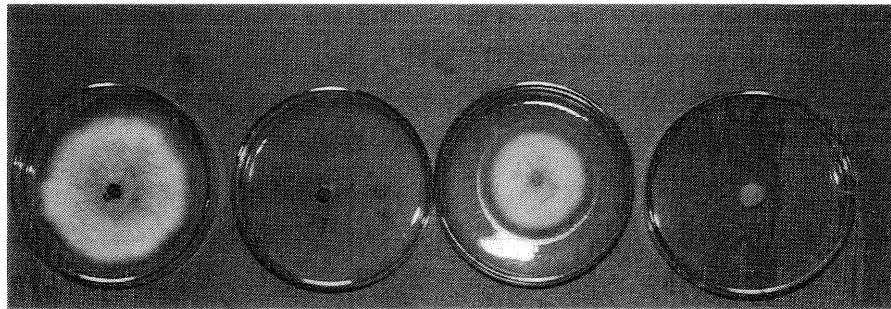
	ウンベリフェロン	1 0 0 0	5.0**	10.3	4.4**
		1 0 0	36.6**	75.6	45.6**

	クマリン	1 0 0 0 ^{b)}	—	—	—
		1 0 0	27.2**	56.2	42.4**

a) : *p*-HBA : *p*-ヒドロキシ安息香酸b) : クマリン 1,000 mg L⁻¹区はアルカリ水溶液に溶解しないため、実験無し。

* : 危険率 5 % で有意差あり。

** : 危険率 1 % で有意差あり



無処理 1,000 mg L⁻¹ 1,000 mg L⁻¹ 1,000 mg L⁻¹
p-クマル酸 フェラル酸 ウンベリフェロン

写真3-1 フェノール性酸の *Fusarium oxysporum* に対する抗菌活性

4) 考察

植物が病原菌に感染すると感染部周辺にポリフェノール類やクロロゲン酸、リグニンなどのフェノール化合物が集積して病原菌の広がりを抑制するように、フェノール化合物が病害抵抗性に関与していると言われている (Nicholsonら 1992)。また、陸稲中にはほとんど認められなかった安息香酸、サリチル酸、ケイ皮酸などのフェノール性酸は殺菌および防黴剤として使用されており (堀口 1982)、抗菌活性を有していることはよく知られている。

Dabler ら (1969) は *p*-クマル酸、フェラル酸、バニリン酸、クロロゲン酸、カフェー酸を供試して糸状菌の *Diplodia zeae* の発芽に及ぼす影響を液体培養法で検討し、これらすべてのフェノール性酸は 500 mg L⁻¹ で孢子の発芽を阻害し、とくに、フェラル酸は 100 mg L⁻¹ で 100 % 発芽を阻害したと報告している。

一般的に室内における抗菌活性の検定には *in vitro* の抗菌力として、直接病原菌体に作用させて孢子発芽、菌糸の伸長および増殖などを判定し、殺菌率、生育阻止率、溶菌率などを調べる方法が取られている (深見ら 1981)。本試験の抗菌活性の有無は上記とは異なり、菌糸の伸長によって判定した。

その結果、すでに抗菌活性が認められているケイ皮酸は *R. solani* に対して 1,000 mg L⁻¹ で溶菌作用を示したが、*F. oxysporum* に対しては溶菌および菌糸伸長抑制作用を示さなかった。ウンベリフェロンは両菌に対して菌糸伸長を強く抑制し、安息香酸も弱いながら両菌に対

し菌糸伸長抑制効果を示した。

陸稲中に含まれるフェノール性酸類のうち、*p*-クマル酸は 1,000 mg L⁻¹ で *F. oxysporum* の菌叢ディスクを溶菌した。フェラル酸は 1,000 mg L⁻¹ で *F. oxysporum* と *R. solani* の菌糸伸長を抑制した。これらのことから、*p*-クマル酸、フェラル酸は抗菌活性を持つことが認められた。しかし、*p*-ヒドロキシ安息香酸とバニリン酸は 1,000 mg L⁻¹ で両菌に対する菌糸伸長抑制がほとんど認められなかったことから、両菌に対する抗菌活性はないと思われる。

以上のことから、フェノール性酸は化合物の違いによって溶菌、菌糸伸長抑制、孢子の発芽抑制などの抗菌作用が異なり、濃度、糸状菌種の違いによって抗菌作用を示さないなど、反応に違いがあることが示唆された。

2. ゴボウ苗立枯病の発病に及ぼす影響

ゴボウ苗立枯病菌に対して、*p*-クマル酸とフェラル酸は 1,000 mg L⁻¹ の濃度で抗菌活性がみられた。そこで、フェノール性酸がゴボウ苗立枯病の発病に及ぼす影響を明らかにするため、ゴボウ苗立枯病菌を接種した人工罹病土を作成し、ゴボウ苗立枯病の発病に及ぼす影響について試験した。

1) 材料および方法

(1) 供試菌株

ゴボウ苗立枯病菌: *Rhizoctonia solani* AG-4 R63 菌株を用いた。

(2) 病原菌の培養と人工罹病土の作成方法

パーミュキュライト 700 g とフスマ 300 g と 1 % ポリ

ペプトン液 1 l を加えて混合した後、オートクレーブで殺菌処理し、*R.solani* AG-4 群菌を接種して 30℃ で 2 週間培養した。一方、ゴボウ作付けの来歴のない茨城県農業総合センター農業研究所内の圃場から採取した黒ボク土を風乾し、この風乾土 1 kg に対して培養フスマ菌体 5 g を混和して、プラスチック製ポット（表面積 50 cm²、高さ 25 cm）に充填した。

(3) 供試フェノール性酸および処理方法

市販試薬の *p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸を水酸化カリウム溶液で溶解し、pH 7 に調製した。この溶液をそれぞれ 500 mg L⁻¹、1,000 mg L⁻¹、2,000 mg L⁻¹ の濃度に調製し、それぞれ 500 ml をゴボウ苗立枯病菌を接種したポットの土壌表面から灌注し、風乾土 1 kg 当たり 250 mg、500 mg、1,000 mg を添加した。

(4) 播種および管理方法

菌株接種土壌を充填したポットにフェノール性酸を灌注後、2 日間室内に放置し、ゴボウ種子を 10 粒播種し、室内で生育させた。また、フェノール性酸がゴボウの発芽や初期生育に影響を及ぼすことが懸念されるため、フェノール性酸が分解していると思われる処理 26 日後にゴボウ 10 粒を再び播種した。なお、1 週間に一度ポットの全重を計り、蒸発や蒸散によって水分が減少している分を補給した。

(5) 調査および発病の判定

播種 1 週間後に発芽率、3 週間後に発病株を調査した。さらに、フェノール性酸処理 26 日後に、前記の発芽ゴボウを抜き取り、ゴボウ種子 10 粒を再び播種し、19 日後に発病株および草丈、根長を調査した。ゴボウ苗立枯病菌による立枯病の判定は不発芽および発芽後の立枯れを発病株とし、発病株率を（不発芽＋発芽後苗立枯れ株数）÷播種粒数×100 で算出した。

2) 結果

結果は第 3－8 表に示した。1 回目播種区において、菌を接種しない無処理区 1 のゴボウの発芽率は 90 % であった。これに対して菌を接種し、フェノール性酸無処理区 3 は 10 % の発芽率を示し、病原菌による強い発芽阻害が認められた。一方、フェノール性酸を処理した場合、フェルラ酸 1,000 mg kg⁻¹ 区では菌を接種しても、発芽率

90 % を示し、それ以外の区では 10～60 % の発芽率を示した。このことから、処理濃度と発芽率との間に一定の傾向はみられなかった。1 回目の発病株率の調査では、発芽したゴボウはすべての区で立枯れ症状を示さなかったことから、発病株率はすべて不発芽のものであった。

発芽ゴボウを抜き取り、26 日後に再播種した 2 回目播種の場合も、菌株を接種した無処理区 3 では発芽率 0 % を示し、発芽阻害が継続して認められた。一方、フェノール性酸処理を行った場合、1 回目播種に比べて、*p*-ヒドロキシ安息香酸 250 mg kg⁻¹ 区を除き発芽率は高く、*p*-クマル酸区と *p*-ヒドロキシ安息香酸区では 500 mg kg⁻¹ 以上で、フェルラ酸区は 1,000 mg kg⁻¹ で発芽率は 100 % を示した。2 回目播種でも発芽した苗は苗立枯れ症状を示さず、苗立枯れの病徴は不発芽として現れた。

ゴボウの生育は、1 回目と 2 回目に播種した 2 回播種の菌を接種しない無処理区 1 は、発芽率が高かったにもかかわらず、草丈と根長は著しく抑制された。ゴボウの 2 回連続作付けによって初期生育が阻害されたと考えられる。これに対して、各フェノール性酸処理区は 1 回播種の無処理区 2 における草丈・根長とほぼ同等の生育を示した。

以上のようにフェルラ酸 1,000 mg kg⁻¹ 区を除き、フェノール性酸の灌注処理は処理 2 日後にゴボウを播種すると発芽率は無処理区をやや上回る程度であったが、26 日後に再播種するとフェノール性酸処理区では発芽率は著しく高まり、草丈や根長などの生育も正常であった。

3) 考察

1 回目播種の場合、菌株を接種した無処理区 3 とフェノール性酸処理区に不発芽が多く認められた。この不発芽の原因として ① フェノール性酸の化学毒性による発芽阻害、② フェノール性酸の施用による微生物相の変化によると考えられる。沢田（1969）、松田ら（1976）は未分解な新鮮有機物施用によってピシウム菌やタネバエによる発芽障害を報告している。また、③ *R.solani* 菌の影響によることなどが考えられる。

供試フェノール性酸のうち、フェルラ酸と *p*-クマル酸は 1,000 mg L⁻¹ で *R.solani* 菌に対して抗菌活性を持っている。この *R.solani* 菌に起因すると思われる不発芽の抑制、ゴボウ苗立枯病の軽減効果はフェノール性酸の

第3-8表 ゴボウ苗立枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) 接種土へのフェノール性酸処理がゴボウの発病および初期生育に及ぼす影響

菌株接種 の有無	フェノール 性酸処理	処理量 ^{a)} (mg kg ⁻¹)	1回目播種 ^{b)}		2回目播種 ^{c)}			
			発芽率(%)	発病株率(%)	発芽率(%)	発病株率(%)	草丈(cm)	根長(cm)
無	無処理 1	—	90	—	90	—	3.7	2.8
無	無処理 2	—	—	—	90	—	6.2	12.9
有	無処理 3	—	10	90	0	100	—	—
有	<i>p</i> -クマル酸	250	20	80	40	60	8.5	29.0
有		500	20	80	100	0	7.2	12.4
有		1000	10	90	100	0	6.5	15.0
有	フェルラ酸	250	10	90	60	40	7.7	20.5
有		500	20	80	80	20	7.6	16.2
有		1000	90	10	100	0	5.9	10.6
有	<i>p</i> -HBA ^{d)}	250	60	40	40	40	7.0	10.3
有		500	10	90	100	0	6.3	14.8
有		1000	50	50	100	0	6.4	10.8

a) : 風乾土 1 kg に対する mg

b) : 菌接種後各フェノール性酸液を注ぎ込み, 2 日後に接種

c) : 1 回目の発芽ゴボウを抜き取り, フェノール性酸処理 26 日後に再播種

d) : *p*-HBA = *p*-ヒドロキシ安息香酸

抗菌活性が一部寄与していると推察される。

一方, *p*-クマル酸や抗菌活性の認められなかった *p*-ヒドロキシ安息香酸は 1 回目播種で処理効果が認められなかったが, 2 回目播種では処理効果が現れた。松田ら (1976) は, 易分解性有機物の施用によってキュウリつる割れ病が軽減されることを明らかにした。すなわち, 有機物施用後 5 ~ 15 日頃までは土壌の静菌作用が低下して分生孢子や厚膜孢子の発芽率は高まるが, 15 日以上経過すると, 土壌の静菌作用が高まり, 孢子の発芽率は低下する。そのため, 有機物施用後 15 日以上経過したのちにキュウリを播種すると無施用より発病は少なく, 生育

も良好になると報告している。

p-クマル酸, *p*-ヒドロキシ安息香酸の場合も, 易分解性有機物と同様に施用後一定期間おいて土壌の静菌作用が高まってくるものと考えられる。前節で明らかにしたように, *p*-クマル酸, *p*-ヒドロキシ安息香酸の土壌施用は土壌糸状菌の *Penicillium* 属菌を増殖させる効果が認められた。病原性をもたない *Penicillium* 属菌の急激な増殖は *R. solani* 菌との競合や拮抗が起こると推察される。*R. solani* に対して抗菌活性をもたない *p*-ヒドロキシ安息香酸処理が, 26 日後の 2 回目播種に効果が認められたのは, *Penicillium* 属菌などの土壌微生物が更に増殖

して、病原菌との競合や拮抗作用が高まったためと考えられる。また、発芽阻害の軽減効果が1回目に認められず、2回目に認められた p -クマル酸の効果も、同様な効果が高まったためと推察される。

これに対して、フェルラ酸 $1,000 \text{ mg kg}^{-1}$ 処理区は1回目播種でも発芽率を高め、ゴボウ苗立枯病を軽減した。フェルラ酸は p -クマル酸より *R.solani* に対する抗菌活性が高いこと、また、 p -クマル酸、 p -ヒドロキシ安息香酸ほど *Penicillium* 属の選択的増殖効果が強くないことから、フェルラ酸によるゴボウ苗立枯病に対する軽減効果はフェルラ酸自身の抗菌作用によるものと考えられる。また、2回目播種では、1回目では効果が認められなかった 250 mg kg^{-1} 処理区も効果が認められたことから、フェルラ酸は土壤微生物との競合、拮抗作用とも関連していると思われる。

以上のことから、 p -クマル酸、フェルラ酸、 p -ヒドロキシ安息香酸のフェノール性酸は施用してから一定期間後に種子を播種すれば、*R.solani* 菌に起因する苗立枯病を軽減できると考えられた。

3. ゴボウ萎ちょう病の発病に及ぼす影響

ゴボウ萎ちょう病菌に対して、 p -クマル酸とフェルラ酸は $1,000 \text{ mg L}^{-1}$ の濃度で抗菌活性がみられた。そこで、フェノール性酸がゴボウ萎ちょう病の発病に及ぼす影響を明らかにするため、ゴボウ萎ちょう病菌を接種した人工罹病土を作成し、ゴボウ萎ちょう病の発病に及ぼす影響について試験した。

1) 材料および方法

(1) 供試菌株

ゴボウ萎ちょう病菌：*Fusarium oxysporum* f.sp. *arctii* 菌株を用いた。

(2) 病原菌の培養と人工罹病土の作成方法

ゴボウ萎ちょう病菌の培養と罹病土の作成：ジャガイモ煎汁培地（PS培地）に *F.oxysporum* f.sp. *arctii* 菌を添加し、1週間振とう培養して増殖させた培養液 5 ml を前述した風乾土 1 kg に混和し、前述のプラスチック製ポットに充填した。

(3) 供試フェノール性酸および処理方法

市販試薬の p -クマル酸、フェルラ酸、 p -ヒドロキシ安

息香酸を水酸化カリウム溶液で溶解し、 $\text{pH } 7$ に調製した。この溶液をそれぞれ 500 mg L^{-1} 、 $1,000 \text{ mg L}^{-1}$ 、 $2,000 \text{ mg L}^{-1}$ の濃度に調製し、それぞれ 500 ml をゴボウ萎ちょう病菌を接種したポットの土壌表面から灌注し、風乾土 1 kg 当たり 250 mg 、 500 mg 、 $1,000 \text{ mg}$ を添加した。

(4) 播種および管理方法

菌株接種土壌を充填したポットにフェノール性酸を灌注後、2日間室内に放置し、ゴボウ種子を10粒播種し、室内で生育させた。また、フェノール性酸がゴボウの発芽や初期生育に影響を及ぼすことが懸念されるため、フェノール性酸が分解していると思われる処理26日後にゴボウ10粒を再び播種した。なお、1週間に一度ポットの全重を計り、蒸発や蒸散によって水分が減少している分を補給した。

(5) 調査および発病の判定

ゴボウ萎ちょう病：播種後7日目に発芽率を、14日目、17日目と21日目に萎ちょう病の発病調査を行なった。発病の判定は葉が黄変して垂れ下がり、地面に接した株とし、発病株率は（発病株数）÷（発芽株数）×100で算出した。

2) 結果

結果は第3～9表に示した。菌を接種しない無処理区1の発芽率は90%を示し、21日間の栽培期間中に発病した株は認められなかった。一方、菌のみを接種した無処理区2は播種7日後の発芽率は90%であったが、14日後にはすべての株が発病した。また、本試験で行った各試験区の発芽率はすべて80%以上であった。

p -クマル酸処理区の発病株率は14日後に 250 mg kg^{-1} 区で60%、 500 mg kg^{-1} 区で40%、 $1,000 \text{ mg kg}^{-1}$ 区で11%を示し、処理濃度が高まるにつれて発病株率は減少した。しかし、発病株率は日数の経過とともに増加し、21日後にはすべての株が発病した。

フェルラ酸処理区では処理濃度の違いによる発病株率の差は認められなかった。また、発病株率は日数の経過とともに増加し、 p -クマル酸処理区と同様に21日後にはすべての株が発病した。

p -ヒドロキシ安息香酸処理区では播種14日後、処理濃度が高いほど発病株率が低い傾向を示した。しかし、

第3-9表 ゴボウ萎ちょう病菌 (*F.oxysporum* f. sp. *arctii*) 接種土へのフェノール性酸処理がゴボウ萎ちょう病の発病に及ぼす影響

菌株接種 の有無	フェノール性 酸処理	処理量 ^{a)} (mg kg ⁻¹)	7日後の 発芽率 (%)	経過日数と発病株率 (%)		
				14日	17日	21日
無	無処理 1	—	90	0	0	0
有	無処理 2	—	90	100	100	100
有	p-クマル酸	250	100	60	100	100
有		500	100	40	90	100
有		1000	90	11	67	100
有	フェルラ酸	250	90	56	89	100
有		500	100	60	70	100
有		1000	80	50	88	100
有	p-ヒドロキシ	250	90	56	100	100
有	安息香酸	500	90	44	100	100
有		1000	100	30	60	100

a) : 風乾土 1 kg に対する mg

発病株率は日数の経過とともに増加し、p-クマル酸やフェルラ酸処理区と同様に 21 日後にはすべての株が発病した。

なお、苗立枯病菌接種試験と同様に第2回目の播種を行い、発病軽減効果を検討したが1回目の結果とほぼ同様の傾向であった。

3) 考察

本試験結果から、ゴボウ萎ちょう病に対するフェノール性酸処理は、発病が遅延することは認められたが発病を回避することはできなかった。

フェノール性酸の土壌施用は *R.solani* 菌に起因するゴボウ苗立枯病に効果が認められたのに対し、p-クマル酸、フェルラ酸は *F.oxysporum* に対しては抗菌活性を有しているにもかかわらずゴボウ萎ちょう病菌接種土へのフェノール性酸処理では効果が認められなかった。

ゴボウ萎ちょう病接種試験では播種7日後には発芽が

認められた。これはフェノール性酸処理9日目に当たり、前節で述べたようにフェノール性酸がほぼ分解する時期である。この時期からゴボウ根から糖、アミノ酸類の分泌が起こり、*F.oxysporum* 菌はこれに反応して耐久体から胞子が発芽し、増殖すると考えられる。すなわち、抗菌活性をもつp-クマル酸、フェルラ酸が分解されて抗菌活性が弱まる時期に *F.oxysporum* の増殖が開始されるためにゴボウ萎ちょう病に対する効果が弱かったものと推察された。

第3節 陸稲およびゴボウに対するフェノール性酸の生育阻害作用

従来から、フェノール性酸は作物の生育を阻害することが報告されているが、水耕栽培やロ紙片上で実施された例が多い。ここでは陸稲及びゴボウに対する生育阻害

作用について、寒天培地を用いて無菌的に栽培し、他の生育阻害物質を対照に用いて検討した。

1. 陸稲に対する生育阻害作用

p-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸の陸稲に対する生育阻害作用を既知の生育阻害物質、ケイ皮酸、安息香酸、クマリン、ウンベリフェロンと比較した。

1) 材料および方法

(1) 供試品種

トヨハタモチ

(2) 供試フェノール性酸と生育阻害化合物

① フェノール性酸：*p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸を水酸化カリウム液で溶解した中和溶液。

② 生育阻害化合物：すでに植物に対する生育阻害作用（芦田ら 1959, 深見ら 1981）が認められているフェノール性酸で、陸稲中にはほとんど含まれないケイ皮酸、安息香酸、およびラクトン化合物であるクマリン、ウンベリフェロンを水酸化カリウム液で溶解した中和溶液。

(3) 栽培方法

陸稲：10 g kg⁻¹素寒天液 9 ml を直径 1.8 cm、高さ 18 cm の試験管にとり、水酸化カリウムで溶解、中和した上記のフェノール性酸液を 1 ml 加えて、10～200 mg L⁻¹ の濃度になるようにした後、オートクレーブして滅菌した。放冷後、初殻を除き、次亜塩素酸ナトリウム液で消毒した陸稲種子をフェノール性酸入り寒天培地上に 2 粒のせ、アルミキャップでおおい、30℃の恒温器内で無菌的に 1 週間生育させた。

(4) 生育阻害程度の判定

フェノール性酸入り寒天培地から発芽した陸稲を根ごと静かにピンセットで抜き取り、最長根長と草丈を測定した。調査は 10 試験管 20 株を用い雑菌で汚染されたものは除いた平均値を無処理区の生育を 100 とした指数で表し、80 以下を生育阻害とした。

2) 結果

フェノール性酸および生育阻害物質の濃度が陸稲の根長と草丈に及ぼす影響は第 3－10 表に示した。

フェノール性酸が無処理区と比べて 80 % 以下に根長

を阻害する濃度は、*p*-クマル酸では 75 mg L⁻¹以上、フェルラ酸では 100 mg L⁻¹以上、*p*-ヒドロキシ安息香酸とバニリン酸では 200 mg L⁻¹以上であった。

草丈に対する影響は根の場合ほど大きくなく、80 % 以下に阻害する濃度は *p*-クマル酸とフェルラ酸では 200 mg L⁻¹から、*p*-ヒドロキシ安息香酸とバニリン酸では 200 mg L⁻¹でも阻害されなかった。

これに対して生育阻害物質では、根長が 80 % 以下に阻害される濃度は安息香酸とウンベリフェロンでは 5 mg L⁻¹以上、クマリンでは 10 mg L⁻¹、ケイ皮酸では 25 mg L⁻¹以上であった。

草丈はクマリンが 10 mg L⁻¹、ケイ皮酸とウンベリフェロンが 25 mg L⁻¹、安息香酸では 50 mg L⁻¹以上で 80 % 以下に阻害された。

3) 考察

フェノール性酸やフェノール化合物の植物に対する害作用はよく知られている（草野ら 1974, 瀧島 1965, Wang ら 1967）。草野ら（1974）は陸稲の芽生え期における試験で、*p*-クマル酸とフェルラ酸は 400 mg L⁻¹で根の伸長を抑制し、地上部では 50～200 mg L⁻¹で伸長を阻害するとしている。また、Wang ら（1967）はサトウキビを使った水耕試験で、生育が無処理の 80 % 以下になるフェノール性酸濃度は、*p*-クマル酸で 50 mg L⁻¹、フェルラ酸 50 mg L⁻¹、*p*-ヒドロキシ安息香酸 75 mg L⁻¹、バニリン酸では 50 mg L⁻¹と報告している。

本試験結果では草野らの試験結果より低濃度で阻害が認められている。このことは、草野らの試験では、フェノール性酸をエーテル溶解し、ロ紙に吸着させ溶媒を室温で蒸発させた後、水を加えて播種する方法を用い、しかも開放系で行ったことによる差と考えられる。この方法では、微生物分解による濃度低下およびフェノール性酸の水への溶解度が十分かどうか、また、フェノール性酸溶解による培地の pH 低下も懸念される。これに対して、本試験の場合には殺菌処理したため、微生物分解による濃度低下は考えられない。またフェノール性酸の水酸化カリウム中和塩を使用したため、溶解度は 100 % であり、培地中の pH 低下も起こらない。

一方、Wang らの試験結果は供試作物にサトウキビを

第3-10表 フェノール性酸の濃度が陸稲の根長と草丈に及ぼす影響

区名	測定部位	濃 度 (mg L ⁻¹)						
		5	10	25	50	75	100	200
陸 稲	<i>p</i> -クマル酸 根長	108 ^{b)}	109	100	106	79	63	0
	草丈	108	111	102	95	90	89	50
中 に 含 ル	フェルラ酸 根長	112	114	114	114	104	63	0
	草丈	104	108	108	103	101	86	60
ま 性 れ 酸 る	<i>p</i> -HBA ^{a)} 根長	112	101	105	102	105	96	78
	草丈	93	96	101	100	97	94	90
	バニリン酸 根長	98	115	107	95	97	100	80
	草丈	111	117	123	110	121	133	91
対 照	ケイ皮酸 根長	81	95	68	27	18	8	0
	草丈	103	109	77	77	70	64	40
	安息香酸 根長	52	72	59	30	28	19	10
	草丈	77	95	98	52	61	50	54
	ウンベリフェロン 根長	67	31	10	-	-	-	-
	草丈	93	85	40	-	-	-	-
	クマリン 根長	83	45	8	-	-	-	-
	草丈	89	76	38	-	-	-	-

無処理区の根長 11.9 cm 無処理区の草丈 9.35 cm

a): *p*-ヒドロキシ安息香酸

b): 無処理区に対する指数

-: 試験区を指定せず

用い、水耕条件という違いがあるものの、本試験結果はこれに近い値を得た。

以上のようにフェノール性酸は陸稲の生育を阻害するが、その程度は既知の生育阻害物質に比べて弱かった。

2. ゴボウに対する生育阻害作用

p-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸のゴボウに対する生育阻害作用を既知の生育阻害物質、ケイ皮酸、安息香酸と比較した。

1) 材料および方法

(1) 供試品種

柳川理想

(2) 供試フェノール性酸と生育阻害化合物

① フェノール性酸: *p*-クマル酸, フェルラ酸, *p*-ヒドロキシ安息香酸, バニリン酸を水酸化カリウム液で溶解した中和溶液。

② 生育阻害化合物: すでに植物に対する生育阻害作用 (芦田ら 1959, 深見ら 1981) が認められているフェノール性酸で, 陸稲中にはほとんど含まれないケイ皮酸, 安息香酸を水酸化カリウム液で溶解した中和溶液。

(3) 栽培方法

直径 4 cm, 高さ 30 cm の大型試験管 (ケルテック分解チューブ) に上記の各種フェノール性酸を添加し, 100 ml にメスアップして 10 ~ 200 mg L⁻¹ の濃度になるよう

にした後, 寒天粉末 1 g を加えて, オートクレーブで殺菌した。放冷後, このフェノール性酸入り寒天培地上にゴボウ種子 7 粒のせ, シリコン栓をして無菌的に室内で 10 日間生育させた。

(4) 生育阻害程度の判定

フェノール性酸入り寒天培地から発芽したゴボウを静かにピンセットで抜き取り, 最長根長と草丈を測定した。2 試験管 14 株の平均値を無処理区の生育を 100 した指数で表した。陸稲の場合と同様, 80 以下を生育阻害とした。

2) 結果

第 3 - 11 表はフェノール性酸入り寒天培地で培養した場合, フェノール性酸の濃度がゴボウの根長と草丈に及ぼす影響を示した。

第 3 - 11 表 フェノール性酸の濃度がゴボウの根長と草丈に及ぼす影響

区	測定部位	濃 度 (mg L ⁻¹)					
		10	25	50	75	100	200
陸 稲	<i>p</i> -クマル酸 根長	86 ^{b)}	74	58	44	30	5
	草丈	110	102	106	88	83	42
中 ノ	フェルラ酸 根長	106	110	96	85	80	41
	草丈	104	111	97	97	90	56
に 含 ル	<i>p</i> -HBA ^{a)} 根長	105	97	86	70	54	48
	草丈	113	99	105	88	87	94
ま 性	バニリン酸 根長	88	68	62	52	51	58
	草丈	96	105	102	100	92	97
れ 酸	ケイ皮酸 根長	31	18	14	11	4	0
	草丈	77	83	71	61	44	41
る	安息香酸 根長	61	45	24	19	7	0
	草丈	82	87	64	75	49	53

無処理区の根長 6.7 cm, 草丈 4.0 cm

a): *p*-ヒドロキシ安息香酸

b): 無処理区に対する指数

無処理区を100としたとき、80以下に根長を阻害する濃度は、*p*-クマル酸は25 mg L⁻¹以上、フェルラ酸は200 mg L⁻¹以上、*p*-ヒドロキシ安息香酸は75 mg L⁻¹以上、バニリン酸では25 mg L⁻¹以上、生育阻害物質のケイ皮酸と安息香酸は10 mg L⁻¹以上であった。草丈に対する影響は根の場合ほど大きくなく、無処理区と比べて80以下になる濃度は、*p*-クマル酸およびフェルラ酸では200 mg L⁻¹以上であったが、*p*-ヒドロキシ安息香酸とバニリン酸では200 mg L⁻¹でも阻害されなかった。ケイ皮酸は10 mg L⁻¹以上、安息香酸は50 mg L⁻¹以上であった。このように陸稲中にはほとんど含まれないケイ皮酸と安息香酸は陸稲中に含まれるフェノール性酸に比べてゴボウの草丈、根長を強く阻害した。

3) 考察

陸稲などのイネ科作物はフェノール性酸を合成する代謝系をもち、成熟期には茎葉や根に多量に含有する。これに対して、ゴボウは根中にわずかに含まれるものの、茎葉には含有しない。このことから、フェノール性酸に対する感受性はゴボウの方が陸稲より大きいと考えられた。本試験結果から、ゴボウの根長がフェノール性酸によって無処理区の80%以下に阻害されるのは、25～200 mg L⁻¹以上の濃度で10日間直接接触する場合によっておこることが示された。

第IV章 陸稲中に含まれるフェノール性酸によるゴボウ連作障害の軽減

前章で、陸稲中に含まれるフェノール性酸が土壤微生物に及ぼす影響、土壤病原菌とその発病に及ぼす影響および作物に対する生育阻害作用について試験した。その結果、陸稲に含まれるフェノール性酸は土壤微生物を増殖させ、特に、*p*-クマル酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸は土壤糸状菌のペニシリウム属菌を選択的に増殖させること、さらに、*p*-クマル酸とフェルラ酸は土壤病原菌のゴボウ苗立枯病菌 (*R.solani*) とゴボウ萎ちょう病菌 (*Fusarium oxysporum* f.sp.*arctii*) に対して抗菌活性をもつことを明らかにした。しかし、他方では、これらフェノール性酸は高濃度では陸稲根やゴボウ根の伸長を阻害することを明らかにした。

本県のゴボウ産地では、古くから輪作作物として陸稲が作付けされている。このことは、陸稲中に含まれるの

フェノール性酸がゴボウ連作障害軽減に寄与しているためではないかと考えた。

そこで、この章では、ゴボウ連作圃場を造成し、ゴボウ連作障害の特徴を明らかにしようとした。さらに、この連作圃場を用いて、陸稲中に含まれるフェノール性酸を供試し、ゴボウ連作障害軽減方法について試験を行った。

第1節 ゴボウ連作障害の特徴とフェノール性酸がゴボウの初期生育に及ぼす影響

茨城県農業試験場(現茨城県農業総合センター農業研究所)内圃場にゴボウ連作圃場を造成した。そこで、連作障害発生の特徴と連作圃場の土壌を供試し、フェノール性酸の効果について室内試験を行った。

1. ゴボウ連作障害の特徴

ここではゴボウ連作圃場を造成し、本県火山灰土におけるゴボウ連作障害の特徴を明らかにするため試験した。

1) 材料および方法

(1) 試験圃場およびゴボウ連作圃場の造成

試験圃場は茨城県農業総合センター農業研究所内の圃場で、土壌は腐植層20～30 cm、以下黒褐色の漸移層、赤褐色層が現れる表層腐植質黒ボク土であり、本県における典型的な火山灰土壌である。この圃場において、第4-1表に示すゴボウ連作圃場の造成を計画し、1990年にはゴボウ初作から4年連作までの圃場を造成した。圃場面積はA圃場が10×10 mの100 m²、BからD圃場は巾5×10 mの50 m²である。この圃場の1作目播種前にトレンチャーで60 cm間隔、深さ1 mの事前掘りを行

第4-1表 ゴボウ連作圃場の造成

圃場番号	作付回数	作付年度				
		1990年	1987	1988	1989	1990
A	4		○	○	○	○
B	3		—	○	○	○
C	2		—	—	○	○
D	1		—	—	—	○

○: 作付け有り

—: 裸地

ない、その上にゴボウを播種した。2作目以降はゴボウ掘り取り溝跡に播種した。本試験は1990年に1年から4年連作A～D圃場で行った。

(2) 耕種概要

ゴボウの栽培は茨城県耕種基準に準じた。供試品種として柳川理想を用い、播種は1990年4月19日に畦幅60 cm、株間10 cmにして行なった。施肥は基肥窒素(N) 70 kg ha^{-1} 、りん酸(P_2O_5) 150 kg ha^{-1} 、カリ(K_2O) 70 kg ha^{-1} 、第1回追肥は5月20日に窒素 70 kg ha^{-1} 、カリ 60 kg ha^{-1} 、第2回追肥は6月19日に1回追肥と同量行なった。このほか播種時には除草剤の散布、また、適時アブラムシ防除の薬剤散布を行い、掘り取りは12月18日に行った。

(3) 調査時期および方法

地上部の調査は生育最盛期の7月23日に1区あたり10個体の草丈および最大葉の縦長、横長を測定し、平均値を求めた。また、最大葉の(縦長×横長)÷2でも

とめた値を便宜的に葉面積とした。

地下部の調査は収穫期の12月18日にトレンチャーで掘り取り、各区とも任意の2カ所の各1 m間の全量について根重および根長を測定し、平均値を求めた。

2) 結果

第4-2表はゴボウ播種95日後の地上部の生育を草丈、最大葉の大きさで示した。

初作区の草丈を100としたとき、2年連作区では72、3年連作区では49、4年連作区では38を示し、連作年数を重ねることによって草丈は抑制された。葉面積も初作区を100としたとき、2年連作区では63、3年連作区では34、4年連作区では19を示し、連作年数を重ねることによって草丈同様に抑制された。

初作区は良好な生育であったが(写真2, 上左), 4年連作区では不発芽、立枯れによる欠株が多く見られた(写真2, 上右)。

第4-2表 ゴボウ連作年数がゴボウの生育に及ぼす影響

区名	連作回数	最長草丈 cm	同指数	横葉長 cm	縦葉長 cm	葉面積* cm ²	同指数
初 作	1	54.1	100	24.8	24.8	302.6	100
2年連作	2	39.0	72	20.2	18.8	189.9	63
3年連作	3	26.4	49	15.2	13.6	103.4	34
4年連作	4	20.5	38	11.4	10.0	57.0	19

* 葉面積=横葉長×縦葉長÷2

第4-3表は収穫時に調査した地下部の生育を根重および根長で示した。初作区の根重を100としたとき、2年連作区では57、3年連作区では34、4年連作区では27を示し、連作年数を重ねることによって根重は減少した。根長も初作を100としたとき、2年連作区では69、3年連作区では37、4年連作区では24を示し、根の伸長が阻害された。

初作区の根は障害が認められなかったが(写真2, 下左), 3年以上連作すると主根の先端は途中で褐変、壊死状態になり、そこからわずかの側根がでるものや、

第4-3表 ゴボウ連作年数がゴボウの根重・根長に及ぼす影響

区名	連作回数	根重* kg	同指数	根長 cm	同指数
初 作	1	4.4	100	91.9	100
2年連作	2	2.5	57	63.1	69
3年連作	3	1.5	34	33.7	37
4年連作	4	1.2	27	21.6	24

* 1 mの2カ所の全根重量

根全体が褐変して短根となるものが大部分をしめ、商品価値のあるゴボウは皆無であった(写真2, 下右)。

3) 考察

ゴボウの連作障害について、松原ら(1957)はゴボウを連作すると2年目から地上部の最大葉長、最大葉幅が小さくなり、地下部は根長は短く、根重は減少すると報告している。また、佐藤(1966)はキタネグサレセンチュウが多く生息する連作圃場のゴボウは根部の表皮がサメハダ状となり、亀裂を生じ、15 cm前後の短根になっている。尾崎ら(1979)はゴボウ連作圃場から病原菌の検出を行ない、*Rhizoctonia solani* 2群-2型によってゴボウの根部が黒褐変する症状(ヤケ症)は発生し、*R. solani* 4群によって発芽阻害および発芽後苗立枯れを強くひき起こすと報告している。

本試験においても、2年以上の連作では初作に比べて地上部の生育は松原ら(1957)が報告したように草丈、葉面積が小さくなり、地下部の生育は根長は短く、根重は減少した。3年連作ではさらにこれらの生育は抑制され、4年連作になると尾崎ら(1979)が報告した *R. solani* 4群によると思われる不発芽、苗立枯れ、*R. solani* 2群-2型によると思われる根の黒変(ヤケ症)が多くなった。さらに佐藤ら(1966)が明らかにしたキタネグサレセンチュウによるとみられる短根、亀裂など障害の発生が多くなり、連作年数が多くなると症状がひどくなることを認めた。

2. ゴボウ連作土への各種フェノール性酸処理がゴボウの初期生育に及ぼす影響

4年連作圃場土壌を供試し、陸稲中に含まれるフェノール性酸を施用してゴボウの初期生育に及ぼす影響について試験した。

1) 材料および方法

(1) 供試土壌

4年連作ゴボウ栽培跡地(A圃場)土壌を採土し、室内で風乾したのち、2 mmの篩でふるったものを供試した。

(2) 供試フェノール性酸と濃度

市販試薬の

-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸および安息香酸をそれぞれ10, 100, 1,000, 10,000 mg L⁻¹になるように水酸化カリウム溶液

で溶解し、中和した溶液を供試した。

(3) 試験方法

表面積50 cm²、高さ13 cmのプラスチック容器の低部に小穴を開けたのち、アルミホイルで覆った小ポットを作成し、上記の風乾土を400 g充填した。これに水200 mlを加えて含水比を500 g kg⁻¹にしたのち、各濃度のフェノール性酸液を20 ml土壌表面から注ぎ、それぞれ0.2, 2.0, 20, 200 mg添加した。これにゴボウ種子10粒を播種し、室内で生育させた。また、1週間に一度ポットの全重を計り、蒸発や蒸散による水分の減少を補給した。

(4) 調査方法

播種21日後に外観上健全な生存株数および草丈を調査したのち、ポットを静かに空けて根長を計るとともに根の状態を観察した。

2) 結果

第4-4表はゴボウ4年連作圃場から採取した土壌に10~10,000 mg L⁻¹の各種フェノール性酸を処理した場合、ゴボウ播種21日後の発芽、草丈、根長を示した。

無処理区における21日後の生存株率は40%であった。残りは不発芽および立枯れ症状を呈して枯死した。枯死を免れた株の草丈は4.9 cm、根長は8.3 cmを示し、主根には褐変斑点がみられ、根毛は少なく、根の発育は貧弱であった。*p*-クマル酸処理の影響を全体の平均値で見ると、生存株率は90%、草丈が5.8 cm、根長が11.3 cmを示し、無処理区と比べて生育は良好であった。処理濃度の影響は10 mg L⁻¹、100 mg L⁻¹、1,000 mg L⁻¹区とも生存株率、草丈、根長には大きな差はなかった。10,000 mg L⁻¹区では他の処理区より根の伸長が抑制され、主根および根毛の先端に褐変がみられた。この症状は主根と根毛の先端のみが褐変し、無処理区の主根上にみられた褐変とは違っていた。

フェルラ酸処理区全体の平均値は

-クマル酸同様に無処理区と比べて生存株率、草丈、根長ともまさった。10 mg L⁻¹区では生存株率が無処理区をやや上回ったが、草丈、根長は無処理区とほぼ同等であり、根の主根には無処理区と同様な褐変症状が認められた。100 mg L⁻¹、1,000 mg L⁻¹、10,000 mg L⁻¹区は生存株率、草丈、根長とも無処理区を上回り、根に褐変等の障害も認められな

第4-4表 ゴボウ4年連作土への各種フェノール性酸処理がゴボウ初期生育に及ぼす影響

区名	処理濃度 mgL ⁻¹	残存株率 %	草丈 cm	根長 cm	外観上の特徴
無処理	—	40	4.9	8.3	主根に褐変多、根毛少
<i>p</i> -クマル酸	10	90	5.8	11.7	
	100	80	5.5	11.9	
	1,000	90	5.7	11.1	
	10,000	100	6.1	10.3	主根、根毛の先端褐変
区平均		90	5.8	11.3	
フェルラ酸	10	70	5.0	7.9	主根に褐変斑点
	100	90	6.0	11.9	
	1,000	90	5.8	11.3	
	10,000	100	6.7	12.1	
区平均		88	5.9	10.8	
<i>p</i> -HBA*	10	70	5.9	12.1	
	100	80	5.4	12.0	
	1,000	100	5.6	13.4	
	10,000	80	5.6	11.0	主根、根毛の先端褐変
区平均		83	5.6	12.1	
バニリン酸	10	40	5.5	11.1	主根に褐変斑点
	100	60	5.8	12.3	主根に褐変斑点
	1,000	100	5.5	11.2	主根に褐変斑点
	10,000	80	6.5	14.2	主根に褐変斑点
酸区平均		70	5.8	12.2	
安息香酸	10	50	5.0	14.2	
	100	70	5.1	11.7	
	1,000	50	5.5	13.1	
	10,000	30	5.3	11.0	主根が褐変、根の中途壊死
区平均		50	5.2	12.5	

**p*-HBA : *p*-ヒドロキシ安息香酸

かった。

p-ヒドロキシ安息香酸処理区はすべての処理濃度で生存株率、草丈、根長とも無処理区を上回った。なかでも1,000 mg L⁻¹区が生存株率と根長で最もまさっていた。10,000 mg L⁻¹区は根長が他の処理区より劣り、主根と

根毛の先端に*p*-クマル酸 10,000 mg L⁻¹区同様の褐変が認められた。

バニリン酸処理区全体の平均値は生存株率、草丈、根長とも無処理区を上回った。しかし、生存株率は*p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸区より劣り、

すべての処理区に無処理区に類似した主根上の褐変斑点が認められた。

安息香酸処理区では全体の平均値は生存株率、草丈とも無処理区とほぼ同等であった。10,000 mg L⁻¹区では主根と根毛は褐変し、中途から壊死していた。これは安息香酸の高濃度による薬害と推定された。

3) 考察

ゴボウ4年連作土における初期生育に及ぼすフェノール性酸の影響は、不発芽と苗立枯れの軽減と根、草丈の伸長効果および高濃度処理では生育阻害作用があることが示された。不発芽と苗立枯れの軽減の面からみて、生存株率90%以上を示し、草丈や根の伸長を良好にするフェノール性酸処理濃度は*p*-クマル酸の1,000 mg L⁻¹、フェルラ酸の100 mg L⁻¹以上、*p*-ヒドロキシ安息香酸の1,000 mg L⁻¹であった。バニリン酸はいずれの処理濃度でも根に病斑が認められ、安息香酸は効果が劣った。

一方、生育阻害作用は*p*-クマル酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸および安息香酸では10,000 mg L⁻¹で主根および根毛の先端が褐変し、他の処理濃度より根の伸長が抑制された。これらは無処理区でみられた症状とは異なり、フェノール性酸の高濃度処理による薬害と推察された。土壌処理では播種時にそれらを1,000 mg L⁻¹以下の濃度で施用する場合、ゴボウに対する生育阻害が少ないことが示された。

これらのことから、ゴボウの連作圃場にこれらのフェノール性酸を施用する場合は*p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸の1,000 mg L⁻¹が適当と考えられた。

第2節 ゴボウ連作障害軽減のためのフェノール性酸施用法

前節で、3年以上ゴボウを連作すると、苗立期には苗立枯れを起こし、繁茂期では草丈は抑制され、葉の大きさが小さくなること、収穫期の根は黒変(ヤケ症)が多く、短根、亀裂など障害の発生が多くなることを明らかにした。さらに、4年連作跡地土を用いた各種フェノール性酸がゴボウの初期生育に及ぼす影響をみると、苗立枯れの軽減や根の伸長促進などの効果がみられた。しかし、高濃度処理では生育阻害がみられ、フェノール性酸の施用によってゴボウ連作障害軽減の可能性を示すもの

の、一方ではフェノール性酸による生育阻害の危険も示唆している。

そこで、ここでは連作ゴボウ栽培に対する効果的かつ適正なフェノール性酸の施用法を明らかにするため、以下の試験を行った。

① 施用回数と併用効果、② フェノール性酸の種類と効果、③ 施用位置

1. *p*-クマル酸、フェルラ酸の施用回数および併用

前節において、1000 mg L⁻¹の*p*-クマル酸とフェルラ酸の播種時施用は連作ゴボウの初期生育に対して効果が認められた。ここでは、連作障害の発生が著しい4年連作圃場を用い、1000 mg L⁻¹の*p*-クマル酸とフェルラ酸の施用回数および併用効果について試験した。

1) 材料および方法

(1) 試験圃場および耕種概要

本試験はゴボウ4年連作A圃場で、1区面積3.3 m × 3 mの10 m²で行った。ゴボウの栽培は茨城県耕種基準に準じ、前節の試験1と同様に行った。

(2) *p*-クマル酸、フェルラ酸の処理方法

市販試薬(和光純薬製)の*p*-クマル酸、フェルラ酸を水酸化カリウム溶液で溶解、中和して1,000 mg L⁻¹溶液を作成し、この液を1ヘクタール当たり3,000 ℓをジョロで灌漑した。1回目処理は播種1日後に播種畦上、2回目処理は播種30日後に株元、3回目処理は播種60日後に株元に行った。

(3) 試験区の構成

試験区の構成は第4-5表に示した。施用時期と回数は*p*-クマル酸、フェルラ酸について播種1日後1回処理と、播種1日後と播種1カ月後の2回処理および前記の処理後さらに1カ月後処理の3回処理区を設置した。

また、*p*-クマル酸とフェルラ酸の相互作用を明らかにするため、*p*-クマル酸とフェルラ酸の併用処理区を同様に設置した。

(4) 調査方法

地上部の生育調査は播種95日後の7月23日に1区当たり10個体の草丈および最大葉の縦長と横長を測定した。なお、葉面積の指標として便宜的に最大葉の(縦長 × 横長) ÷ 2で求めた値を用いた。地下部の調査は収穫

第4-5表 *p*-クマル酸とフェルラ酸の施用回数試験区の内容 (1990)

圃場	連作数	処理内容	処理時期
A	4年連作	無処理	
B	3年連作	無処理	
C	2年連作	無処理	
D	初作	無処理	
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸 1 回散布	播種 1 日後
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸 2 回散布	播種 1 日後 + 30 日後
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸 3 回散布	播種 1 日後 + 30 日後 + 60 日後
A	4年連作	フェルラ酸 1 回散布	播種 1 日後
A	4年連作	フェルラ酸 2 回散布	播種 1 日後 + 30 日後
A	4年連作	フェルラ酸 3 回散布	播種 1 日後 + 30 日後 + 60 日後
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸 + フェルラ酸 1 回散布	播種 1 日後
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸 + フェルラ酸 2 回散布	播種 1 日後 + 30 日後
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸 + フェルラ酸 3 回散布	播種 1 日後 + 30 日後 + 60 日後

時期に任意の2カ所、各畦1m間の全量について根重、根長を測定した。

2) 結果

第4-6表は4年連作圃場に*p*-クマル酸、フェルラ酸を処理したゴボウ播種後95日目の地上部の生育を草丈、最大葉の大きさで示した。

無処理区の草丈を100としたとき、*p*-クマル酸1回区では209、2回区では176、3回区では163を示した。フェルラ酸1回区では158、2回区では227、3回区では131を示した。*p*-クマル酸とフェルラ酸の併用処理は1回区では148、2回区では174、3回区では131を示し、*p*-クマル酸、フェルラ酸および併用処理区は無処理区の1.31～2.27倍であった。しかし、*p*-クマル酸とフェルラ酸の併用処理区は、*p*-クマル酸1回区およびフェルラ酸2回区の単用処理区より劣った。処理回数は*p*-クマル酸処理は1回区がまさり、フェルラ酸と併用処理は2回区がまさった。

葉面積は草丈と同様の傾向を示した。

第1節の写真2で示したように、4年連作無処理区で

は不発芽、立枯れによる欠株多くみられたが、*p*-クマル酸、フェルラ酸およびその併用処理区では不発芽、立枯れによる欠株はほとんど認められなかった(写真3, 上)。

第4-7表は収穫時に調査した地下部の生育を根重および根長で示した。無処理区の根重を100としたとき、*p*-クマル酸1回区では268、2回区では157、3回区では126を示した。フェルラ酸1回区では153、2回区では319、3回区では154を示し、*p*-クマル酸、フェルラ酸処理区は無処理区の3.19～1.26倍の根重であった。併用処理では1回区は147、2回区は225を示し、無処理区を上回ったが、3回区は78を示し、無処理区に劣った。併用処理は*p*-クマル酸、フェルラ酸の単用処理に比べると劣った。処理回数は*p*-クマル酸は1回区、フェルラ酸と併用処理は2回区がまさった。

根長に及ぼす*p*-クマル酸、フェルラ酸の影響は根重と同様の傾向を示した。*p*-クマル酸、フェルラ酸処理区では無処理区と比べて根長が伸長し、根重が増加したが、もっとも効果の高かった*p*-クマル酸1回処理区やフェルラ酸2回処理区でも先切れ短根、褐変、岐根等の障害が

第4-6表 ゴボウ連作土へのp-クマル酸、フェルラ酸の施用回数が
ゴボウ地上部生育に及ぼす影響

圃場	連作数	処理	草丈 cm	指数	葉面積 ^{a)} cm ²	指数
A	4年連作	無	20.5	100	57	100
A	4年連作	p-クマル酸1回	42.9**	209	236**	414
A	4年連作	p-クマル酸2回	36.1**	176	200**	351
A	4年連作	p-クマル酸3回	33.5**	163	161**	282
A	4年連作	フェルラ酸 1回	32.4**	158	150**	263
A	4年連作	フェルラ酸 2回	46.5**	227	254**	446
A	4年連作	フェルラ酸 3回	26.8**	131	99*	174
A	4年連作	併用 ^{b)} 1回	30.3**	148	188**	330
A	4年連作	併用 2回	35.6**	174	195**	342
A	4年連作	併用 3回	26.8**	131	105*	184
(比較)						
D	初 作	無	54.1**	264	303**	532
C	2年連作	無	39.0**	190	190**	333
B	3年連作	無	26.4**	129	103*	181

a : 葉面積は(横葉長×縦葉長÷2)で算出した。

b : 併用はp-クマル酸とフェルラ酸を併用処理した。

* : 5%危険率で有意差あり。

** : 1%危険率で有意差あり。

認められた(写真3, 下)。

3) 考察

ゴボウ連作障害の原因について、松原ら(1957)はネマトーダが幼植物時代に寄生すると岐根になる率が高く、これらはD. D処理により軽減されることから、ネマトーダによるとしている。また、佐藤(1967)は岐根や短根、褐変腐敗症状はカタネグサレセンチュウとフザリウム菌やリゾクトニア菌の相互作用と推察している。尾崎ら(1979)は *R. solani* 菌によるヤケ症や苗立枯れをあげている。このほか、下長根(1982)は *Fusarium* 菌によっておこる萎ちょう病、*Pythium* 菌によっておこる根腐れ病をあげるなど、ゴボウ連作障害はこれらが複雑

にからみあって生じるものと考えられる。

本試験結果から、4年連作ゴボウ畑に1,000 mg L⁻¹のp-クマル酸、フェルラ酸を灌注処理すると、初作区には及ばないものの、草丈、葉面積でみた地上部生育および根重、根長でみた地下部の生育は無処理区を大幅に上回った。しかし、フェノール性酸によるゴボウ連作障害軽減効果は施用回数や単用、併用により異なり、また、初作ゴボウの収量、品質までには至らなかった。p-クマル酸の地上部および地下部の生育に対する効果は播種時の1回処理が高かったのに対して、2回、3回処理の効果は劣った。これに対してフェルラ酸は播種時の1回処理より2回処理の効果が大きく、また両者の併用の相乗効果

第4-7表 ゴボウ連作土への*p*-クマル酸、フェルラ酸の施用回数がゴボウ地下部生育に及ぼす影響

圃場	連作数	処理	根重 ^{b)} kg	指数	根長 cm	指数
A	4年連作	無	1.18	100	21.6	100
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸1回	3.16	268	45.6**	211
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸2回	2.07	175	29.3	136
A	4年連作	<i>p</i> -クマル酸3回	1.49	126	32.2*	149
A	4年連作	フェルラ酸 1回	1.81	153	32.4	150
A	4年連作	フェルラ酸 2回	3.77	319	59.7**	276
A	4年連作	フェルラ酸 3回	1.82	154	37.7*	175
A	4年連作	併用 ^{a)} 1回	1.73	147	24.9	115
A	4年連作	併用 2回	2.66	225	35.7*	165
A	4年連作	併用 3回	0.92	78	33.2	153
(比較)						
D	初 作	無	4.40	373	91.9**	425
C	2年連作	無	2.52	214	63.1**	292
B	3年連作	無	1.47	125	33.7	156

a : 併用は*p*-クマル酸とフェルラ酸を併用処理した。

b : 全根重は1畦1m, 任意の2カ所から掘り取った全根重量, 差の検定なし。

* : 5%危険率で有意差あり。

** : 1%危険率で有意差有り。

は認められず、むしろ相殺効果が認められた。

前章で明らかにしたように、フェノール性酸は25～200 mg L⁻¹以上の濃度で10日間直接ゴボウ根に接触すると根の伸長を阻害する。また、フェノール性酸は土壌中では約1週間ではば分解することが明らかになっている(草野ら1974, Martinら1976)。茨城県においては4月中旬に播種したゴボウは約2週間で発芽するので、播種時に1,000 mg L⁻¹のフェノール性酸を施用した場合、2週間後の発芽期にはゴボウに対するフェノール性酸の直接的な接触害は少ないものと考えられる。2回目の施用は播種30日後に行ったが、これはゴボウ根部伸長盛

期に相当する(本田ら1974)。この時期1,000 mg L⁻¹のフェノール性酸の施用は、直接根に接触すると生育阻害を示すと推察される。2回施用で効果の高まったフェルラ酸は、連作による生育阻害要因を取り除く作用がゴボウに対する生育阻害作用を上回り、逆に、2回、3回施用で効果が低下した*p*-クマル酸の場合は、生育阻害作用がより強く現れたものと考えられる。また、*p*-クマル酸とフェルラ酸の併用がそれぞれの単用より効果が劣ったのは、施用量が増加し、生育阻害作用が強まったと考えられる。

このように、発芽以後に施用した場合は、作物に対する阻害作用と微生物への抗菌作用や拮抗作用などの正負の作用が考えられ、その施用効果は両者の強弱の結果として発現するものと推察された。

以上のことから、連作障害の発生が激しい4年連作圃場に*p*-クマル酸、フェルラ酸を灌注処理すると、発芽阻害や発芽後苗立枯れは軽減され、草丈、葉面積、根重、根長とも無処理区に比べてまさることが明らかになった。このことから、1,000 mg L⁻¹*p*-クマル酸の播種時1回と1,000 mg L⁻¹フェルラ酸の播種時および播種30日後の土壌施用はゴボウ連作障害を軽減することが示唆された。

2. 各種フェノール性酸の効果

前節の試験では*p*-クマル酸、フェルラ酸およびその併用について施用回数を変えて試験した。その結果、これらフェノール性酸は初期生育を改善し、それに伴って地下部生育がかなり良好となることが認められた。しかし、根部の伸長、肥大には問題が残った。そこで本試験では*p*-クマル酸、フェルラ酸以外に陸稲中に認められたフェノール性酸を供試し、とくに地下部生育の効果を検討した。

1) 材料および方法

(1) 供試圃場および栽培法

供試圃場はA圃場で1991年に5年連作条件で実施し

た。施肥、栽培管理は茨城県耕種基準に準じた。品種は柳川理想を用い、播種は4月17日、収穫は12月6日である。

(2) 供試フェノール性酸

試験1で用いた p -クマル酸、フェルラ酸のほか、 p -ヒドロキシ安息香酸、バニリン酸、安息香酸を加えた。

(3) 試験区の構成および施用方法

試験区は第4-8表のように設けた。また、本試験ではとくに地下部の生育改善を図るためにフェノール性酸を土壤中に深く注入する方法を用いた。すなわち4年連作圃場のうね跡に播種2週間前に検土杖で深さ50cmの小穴を50cm間隔であけ、水酸化カリウムで中和溶解した各フェノール性酸 $1,000\text{ mg L}^{-1}$ 液を200ml注入した。

なお、試験1においてA圃場に苗立枯れによる欠株が多くみられ、本試験に対する影響が懸念さるので欠株による影響を排除した状態でフェノール性酸の効果を判定するため、前節のポット試験で苗立枯病防除に効果が認められた $1,000\text{ mg L}^{-1}$ の p -ヒドロキシ安息香酸のアルカリ中和液を1ヘクタール当たり3,000 ℓ を播種時に初作区を除く全区に播種畦上に灌注した。

(4) 調査方法

生育調査は播種91日後の7月19日、掘り取り日が12月6日以外は試験1と同じである。

2) 結果

(1) 地上部の生育

ゴボウの生育概況は第4-9表に示した。草丈は、初作区がもっともまさり、次いで2年連作区であった。3年および4年連作区では5年連作無処理区をわずかに上回る程度であった。フェノール性酸処理による草丈は、もっとも低いのは p -クマル酸区の51.8cm、もっとも高いのは安息香酸の57.6cmであり、フェノール性酸の種類による差は小さかった。葉面積も草丈とほぼ同様の傾向であった。また、1990年の試験にみられた無処理区での未発芽や立枯れによる欠株はほとんど認められなかった。

(2) 地下部の生育

収穫時の根重および根長は第4-10表に示した。根重は初作区>2年連作区>3年連作区>4年連作区>

第4-8表 各種フェノール性酸効果試験区の内容 (1991)

圃場	連作年数	播種時の p -ヒドロキシ安息香酸処理	播種2週間前の土中注入処理
A	5年	有	無
B	4年	有	無
C	3年	有	無
D	2年	有	無
E	初作	無	無

A	5年	有	p -クマル酸
A	5年	有	フェルラ酸
A	5年	有	p -ヒドロキシ安息香酸
A	5年	有	バニリン酸
A	5年	有	安息香酸

第4-9表 各種フェノール性酸の土中注入が連作ゴボウの地上部生育に及ぼす影響

圃場	連作年数	処理	草丈 cm	指数	葉面積 ^{a)} cm ²	指数
A	5年	無	52.9	100	294	100
B	4年	無	56.5	107	374	127
C	3年	無	55.6	105	338	115
D	2年	無	65.4**	124	526**	179
E	初作	無	77.1**	146	614**	209

A	5年	p -クマル酸	51.8	98	298	101
A	5年	フェルラ酸	53.0	100	330	112
A	5年	p -HBA ^{b)}	54.2	102	287	98
A	5年	バニリン酸	56.5	107	359	122
A	5年	安息香酸	57.6	109	380	129

a : 葉面積は(横葉長×縦葉長÷2)で算出した。

b : p -ヒドロキシ安息香酸

* : 5%危険率で有意差あり。

** : 1%危険率で有意差あり。

5年連作区の順であり、連作年数を重ねることにより根重が低下した。また根長も根重同様に連作年数が多くなるにつれて著しく根の伸張が阻害された。3年連作以上になると、先切れ短根、褐変、岐根等の障害が著しく認められた。

5年連作無処理区の根重を100とすると、*p*-クマル酸区では355、フェルラ酸区では230を示した。その他の処理区も140～215を示し、5年連作無処理区を上回った。根長もすべての処理区で無処理を上回った。根長は *p*-クマル酸 > フェルラ酸 > バニリン酸 > 安息香酸 > *p*-ヒドロキシ安息香酸の順であった。

3) 考察

地上部の生育は、5年連作無処理区と各種フェノール性酸処理区との差が小さかった。本試験では欠株の発生が供試したフェノール性酸の効果判定に影響することを

第4-10表 各種フェノール性酸の土中注入が連作ゴボウの地下部生育に及ぼす影響

圃場	連作年数	処理	根重 ^{b)} kg	指数	根長 cm	指数
A	5年	無	1.00	100	28.8	100
B	4年	無	2.75	275	45.9*	159
C	3年	無	2.10	210	38.2	132
D	2年	無	4.60	460	84.2**	292
E	初作	無	5.20	520	70.8**	246
A	5年	<i>p</i> -クマル酸	3.55	355	52.8**	183
A	5年	フェルラ酸	2.30	230	44.2*	153
A	5年	<i>p</i> -HBA ^{a)}	1.50	150	32.5	113
A	5年	バニリン酸	1.40	140	39.8*	138
A	5年	安息香酸	2.15	215	36.9	128

a : *p*-ヒドロキシ安息香酸

b : 全根重は1畦1m、任意の2カ所から掘り取った全根重量、差の検定なし。

* : 5%危険率で有意差あり。

** : 1%危険率で有意差あり。

懸念して、全区に*p*-ヒドロキシ安息香酸を散布した。

そのため、ゴボウの出芽・苗立ち期の生育を良好にし、生育差を少なくしたと思われる。また、供試したフェノール性酸処理を深さ50cmの土壤中に注入したため、ゴボウの根がフェノール性酸の施用位置に到達するまでに期間を要し、効果の発現が遅れたと考えられる。

これに対して地下部の生育は差がみられた。根重、根長ともフェノール性酸処理区はすべて無処理区を上回り、地下部の生育改善効果を認めた。その効果は *p*-クマル酸 > フェルラ酸 > バニリン酸 ≒ 安息香酸 > *p*-ヒドロキシ安息香酸の順であり、これは陸稲中にはほとんど含まれない安息香酸を除き、第2章で報告した陸稲根中のフェノール性酸の含有量の順位とほぼ同じであった。

以上のことから、フェノール性酸による連作ゴボウ根の生育改善は、*p*-クマル酸とフェルラ酸の効果がまさり、バニリン酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸の効果は前記の2フェノール性酸より劣ることが示された。

3. フェノール性酸の施用位置

試験1で土壌表面の灌注処理による*p*-クマル酸とフェルラ酸の施用回数について、試験2では播種2週間前、各種フェノール性酸の土壌注入処理が連作ゴボウの生育に及ぼす影響について検討した。その結果、地上部および地下部の生育改善に効果が認められたものの、初作に比べて根の伸長、肥大が不十分であった。そこで本試験では*p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸を土壌表面および土壌中に処理して、地下部の生育に対する効果を検討した。

1) 材料および方法

(1) 供試圃場および栽培法

供試圃場はD圃場で1992年に3年連作条件で実施した。施肥、栽培管理は茨城県耕種基準に準じた。品種は柳川理想を用い、播種は4月17日、収穫は11月27日である。

(2) 供試フェノール性酸

p-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸のそれぞれ水酸化カリウム溶液で溶解した中和溶液。

(3) 試験方法および試験区

本試験ではとくに地下部の生育を良好にすることを目

的として、ゴボウの生育段階を考慮してフェノール性酸を土壌表面処理と土壌中に注入する方法を組み合わせた。すなわち播種時には播種畦上に、播種2週間後の発芽・苗立ち期には株元に上記の $1,000\text{ mg L}^{-1}$ 液を1ヘクタール当たり $3,000\text{ l}$ をジョロで灌注した。その後第4-1図で示した塩ビ管をゴボウの株元に50 cm間隔で埋め込み、各フェノール性酸を2週間間隔で1穴当たり 200 ml を3回注入した。表面処理区は土壌表面に2週間間隔で3回灌注処理を行った。

試験区は1区 12 m^2 、上記の3フェノール性酸と土中注入処理と表面処理を組み合わせた。

(4) 調査方法

生育調査はの7月30日、掘り取り日が11月27日以外は試験1と同じである。

2) 結果

結果は第4-11表に示した。草丈は3年連作無処理区を100としたとき、*p*-クマル酸処理では表面処理区は116、土中処理区は169を示し、土中処理が表面処理を上回った。フェルラ酸処理では表面処理区は162、土中処理は115を示し、*p*-クマル酸処理とは逆に表面処理区が上回った。*p*-ヒドロキシ安息香酸処理では表面処理区

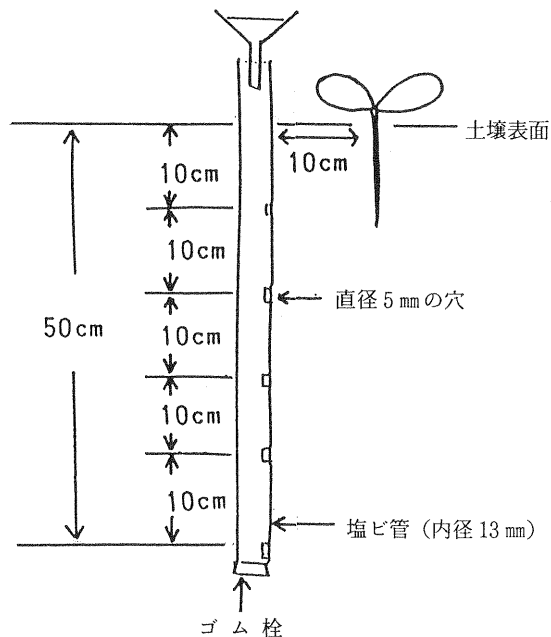
は136、土中処理区は122を示し、表面処理区が土中処理区をやや上回ったものの、その差は小さかった。葉面積も草丈とほぼ同様の傾向であった。

根重は3年連作無処理区を100としたとき、*p*-クマル酸処理では表面処理区は154、土中処理区は191を示し、土中処理区が表面処理区を上回った。フェルラ酸処理では表面処理区は200、土中処理区は191を示し、表面処理区が土中処理区をわずかに上回った。*p*-ヒドロキシ安息香酸処理では表面処理区、土中処理区とも118を示し、無処理区を上回ったが他の処理区より劣った。根長も根重とほぼ同様の傾向であった。

3) 考察

農薬による土壌病害防除の場合は施用位置により、著しく防除効果が異なる。土壌中の有機物を利用するリゾクトニアやピシウム菌などの土壌生息型菌は、有機物が比較的豊富な土壌表層に生息し、根系に生息し休眠胞子から作物根の分泌物によって発芽するフザリウム菌などは土壌の比較的深い場所にも生存することが知られている。土壌表層部をおもな活動の場とするハクサイネコブ病やリゾクトニア菌による各種野菜の病害などは、粒剤による土壌混和や水和剤の灌注処理によって効率的に防除できるが、比較的深い土壌中にも存在できるフザリウム菌やバーテシウム菌等による病害の防除は表層だけの殺菌では不十分なことが知られている(松田1977)。

フェノール性酸処理の場合でも、土壌表面からの灌注処理は土壌表面に生息する土壌微生物にしか影響を及ぼさないため、その効果が劣ったということも考えられる。*p*-クマル酸では土中注入処理が土壌表面処理を上回った。これは*p*-クマル酸が土壌表面のみならず土壌中の比較的深い場所に生存する病原菌に対しても有効であることを示唆している。一方、フェルラ酸処理では逆に表面処理が土中注入処理を上回った。このことからフェルラ酸は主として土壌表面で生存して活動する病原菌に対して効果があると推定される。また、施用方法による差が認められなかった*p*-ヒドロキシ安息香酸は、播種前と播種時の表面処理では効果があるが、それ以後の処理は表面および土中ともに効果がなかったものと推定される。本試験結果から、*p*-クマル酸は処理位置を土壌表面と土中



第4-1図 フェノール性酸の土中注入位置と方法

第4-11表 フェノール性酸の施用位置がゴボウの生育に及ぼす影響

圃場	連作 年数	フェノール 性酸処理	処理位置	草丈 cm	指数	葉面積 ^{a)} cm ²	指数	根重 ^{b)} kg	指数	根長 cm	指数
D	3年	無	—	32.2	100	123	100	1.1	100	21.3	100
F	初作	無	—	43.6	135	187	152	2.7	245	67.5	317
D	3年	<i>p</i> -クマル酸	表面	37.2	116	142	115	1.6	154	28.9	136
D	3年	<i>p</i> -クマル酸	土中	54.5	169	316	257	2.1	191	35.3	166
D	3年	フェルラ酸	表面	48.8	162	239	194	2.2	200	39.2	184
D	3年	フェルラ酸	土中	37.0	115	142	115	2.1	191	34.8	163
D	3年	<i>p</i> -HBA ^{c)}	表面	43.8	136	166	135	1.3	118	28.5	134
D	3年	<i>p</i> -HBA	土中	39.4	122	169	137	1.3	118	36.3	170

a : 葉面積は(横葉長×縦葉長÷2)で算出した。

b : 全根重は1畦1m, 任意の2カ所から掘り取った全根重量, 差の検定なし。

c : *P*-ヒドロキシ安息香酸

注入を組み合わせることによって, 地下部生育の改善効果は認められた。フェルラ酸は表面処理が効果が高く, *p*-ヒドロキシ安息香酸は播種時以前の表面処理に効果がみられるなど, フェノール性酸の種類によって効果の発現様式が異なることが示唆された。

なお, 本試験では各区とも表面施用および土中施用, 合計5回施用している。したがって前記施用回数試験の結果から考えて, *p*-クマル酸は2回目以降, 他は3回目以降の施用はかえって生育阻害をもたらしたと考えられる。それにもかかわらず, *p*-クマル酸の土中施用が効果があったのは, 表面施用は株もとに施用するので根に対する阻害作用があるが, 土中施用の場合は株間に注入するので, 直ちに根に接触することが少ないため, 阻害作用が軽減されたためと考えられる。

しかし, これらの処理を行っても初作区に比べて地上部, 地下部とも及ばなかった。これはゴボウの連作障害は下長根(1982), 佐藤(1967)が述べているようにリゾクトニア, フザリウム, ピシウム菌などの土壤病原菌と線虫によって複合的に引き起こされるため, 本試験で用いたフェノール性酸では, これら両者を同時に防除す

る効果が十分でなかったものと推察される。

本章の試験結果から, フェノール性酸の施用法として次のような方法が適当と考える。*p*-クマル酸またはフェルラ酸1,000 mg L⁻¹液を1ヘクタールあたり3,000 lを施用し, *p*-クマル酸の場合は播種直前から播種時に1回, 表面施用する。さらに必要な場合には播種30日後に土中注入する。フェルラ酸の場合は播種直前から播種時および播種後30日の2回, 表面施用を行う。

第V章 総 合 考 察

陸稲を輪作作物として作付けることにより, 野菜等の連作障害が軽減されることに着目して, この機作を明らかにするために本研究を行った。茨城県での野菜連作障害はクロルピクリン剤などの土壤消毒剤によって回避および軽減される例が多くみられるため, 連作障害の発生や消長には土壤微生物の関与が示唆されていた(坪ら1979, 下長根1992)。そこで, 陸稲作付が土壤微生物に影響を及ぼすと考えられる陸稲根からの分泌物質および陸稲中の有機化合物の検索を行い, 陸稲の根には野菜類と比べて可溶性糖, 遊離アミノ酸が少なく, フェノール

性酸が多量に含まれていることを明らかにした。

そこで、陸稲根中に含まれるフェノール性酸に着目し、その作用機作を明らかにするため、① フェノール性酸が土壤微生物の増殖および土壤微生物相に及ぼす影響、② フェノール性酸の土壤病原菌に対する抗菌作用、③ ゴボウおよび陸稲に対する生育阻害作用について試験を実施し、フェノール性酸は土壤微生物を増殖させて土壤微生物相を変えること、また、リゾクトニア菌やフザリウム菌などの土壤病原菌に対して抗菌活性を示すこと、さらに、高濃度ではゴボウや陸稲に対する生育阻害作用があることを明らかにした。

そこで、本県のゴボウ産地では古くからゴボウナガイモー陸稲の輪作が行われてきたので、フェノール性酸によってゴボウ連作障害が軽減されるものと考え、ゴボウ連作圃場を造成し、ゴボウ連作障害の特徴を明らかにするとともに、その施用法について検討を行った。その結果、フェノール性酸にはゴボウ連作障害軽減効果が認められ、とくに *R.solani* 菌によって生じるゴボウ苗立枯病を防除できることを明らかにした。

ここでは、陸稲作付が野菜類の土壤病害に起因する連作障害軽減効果の機作について考察を加えるとともに、フェノール性酸による連作障害軽減技術の可能性と意義について考察する。

1. 陸稲輪作による野菜類連作障害軽減効果の機作について

連作障害は古くは“忌地”と呼ばれ、その原因として① 作物が生産する毒物質による自家中毒、② 病害虫、③ 土壤の悪化などが議論されてきた（農林水産技術会議事務局1977、農林水産省野菜試験場1978、鈴木1972、瀧島1965）。しかし、最近の分析化学や植物病理学の進歩によって、土壤中の微量成分の解明や未知の病原菌の同定が可能になったことなどから、連作障害の主要原因がセンチュウ害を含む病害によるものとする考えが主流になってきた。

本試験においても、ゴボウ連作によってゴボウ苗立枯病やゴボウ萎ちょう病による欠株、センチュウ害とみられる短根や岐根が生じ、生育は抑制され、収量の低下と品質の悪化が認められた。これらのことから、ゴボウの連作障害は主にセンチュウや土壤病害によって引き起こ

されることが明らかになった。

連作は同一作物の連続作付によって同一栄養基質（残根や茎葉）が土壤に残されるため、それを栄養源とする土壤微生物群の増殖が推測される。この土壤微生物相の偏りが土壤病虫害の発生に関与していると考えられる。第2章2節で明らかにしたように、野菜類は陸稲より明らかに可溶性糖と遊離アミノ酸量が多かった。これら野菜等の作付跡地には糖やアミノ酸を豊富に含んだ茎葉と残根が残り、これらを好む微生物群が増殖すると推定される。この同一栄養源の供給による同一微生物群の増殖というサイクルが繰り返され、病原菌密度が高まるとともに、発病条件も一致して連作障害は発生すると考えられる。

陸稲作付による連作障害軽減効果は、異種作物の作付けによって同一栄養源による同一微生物群の増殖サイクルを断ち切ることのほかに、陸稲に含まれる有機物の特性にあることが推定される。すなわち、陸稲作付け跡地の残根は可溶性糖と遊離アミノ酸が極めて少なく、フェノール性酸が多いという特徴をもち、このことは野菜跡地の土壤微生物相とは異なる微生物相の増殖を促すことが予想される。

野菜の連作障害の主要因である土壤病害は、有機物等の施用によって軽減される例が多くみられる（松田1981）。下長根（1992）は乾燥豚糞の多量施用によってキュウリつる割れ病が軽減されることを明らかにし、その機作は乾燥豚糞の施用によって土壤中の細菌数が著しく増加し、それがフザリウム菌の活動を抑制し、発病軽減につながったと推察している。堀ら（1980）は、未分解有機物の多量施用によってトマトの褐色根腐れ病の発病を軽減した。その作用機作は未分解有機物が土壤微生物の菌密度を高め、病原菌と増殖した菌との競合作用の結果ではないかと推定している。これらは土壤微生物の増殖によって土壤微生物相が変化したため、病原菌の活動が抑制されたためと考えられる。

また、Mitchellら（1962, 1963）が行ったカニ殻を利用したインゲン根腐病の軽減は、カニ殻に含まれるキチン質が放線菌の増殖を促し、フザリウム菌の相対的密度を低下させ、それによって発病を減少させたと報告し

ている。これらの例は、カニ殻中のキチン質のような有機物資材中の特定物質が特定の微生物群を増殖し、溶菌や抗生作用によって病原微生物の増殖や活動を抑制するものと考えられている。

本試験でもフェノール性酸を土壤施用すると、土壤微生物が増殖した。とりわけ土壤糸状菌の増殖が著しく、*p*-ヒドロキシ安息香酸と*p*-クマル酸はペニシリウム属菌を選択的に増殖させ、フザリウム属の相対的密度を低下させた。また、フェノール性酸は窒素化合物を含まず、しかもグルコース同様に分解され易く、微生物の炭素源となりうる有機物であった。このため、フェノール性酸は窒素化合物と糖類の要求性の強いリゾクトニア菌やピシウム菌などの土壤生息型土壤病原菌以外の非病原性微生物、例えばペニシリウム菌を増殖させることによって病原菌密度を低下させるのに役立つものと考えられた。

また、フェノール性酸類には安息香酸やケイ皮酸、サリチル酸などにみられるように抗菌活性を有する化合物が多くみられる。陸稲中の主要フェノール性酸である*p*-クマル酸とフェルラ酸は、既に抗菌性物質として利用されている安息香酸やケイ皮酸ほど抗菌活性は強くないが、*R. solani* や *F. oxysporum* などの病原性糸状菌に対して、溶菌作用や菌糸伸長抑制効果を有することが明らかになった。

一方、安息香酸やケイ皮酸などのフェノール性酸類は植物に対して生育を阻害することも認められている（瀧島 1965）。*p*-クマル酸とフェルラ酸もゴボウや陸稲に生育阻害作用が認められたが、安息香酸やケイ皮酸の生育阻害作用よりも弱かった。

陸稲中のフェノール性酸はアルカリ加水分解によって数千 mg L^{-1} 、また、エタノールによって数十 mg L^{-1} 抽出されることから、作物体中ではその多くがエステル結合によって重合していると考えられている。このエステル結合した陸稲中のフェノール性酸は腐朽過程で徐々に遊離してくることが推察される。進藤ら（1976, 1977）は、稲わらリグニン中のフェノール重合体はその腐朽過程で一部は遊離フェノール性酸に、他は腐植酸形成に貢献していることを明らかにしている。また、草野ら（1974）や Martin ら（1976）は*p*-クマル酸やフェル

ラ酸は土壤中では速やかに分解されると報告している。

これらの既往の研究および本試験結果から、陸稲の腐朽過程で生成される遊離フェノール性酸が土壤病原菌に対して部分殺菌、菌糸伸長抑制や胞子の発芽阻害などの抗菌作用を示すことによって病原菌密度の低下などに寄与したのち、速やかに分解されるので、作物に対して阻害作用は大きくないと推察された。

これらのことを総合的に考えると、陸稲中のフェノール性酸は2つの作用を有し、このことが野菜類の連作障害を軽減していると考えられる。すなわち ① グルコースや遊離アミノ酸を好む野菜型土壤微生物相をフェノール性酸によって増殖するイネ科型土壤微生物相に変え、野菜病原性微生物の蔓延を阻止すること、② 病原性微生物に対する抗菌作用によって、その増殖を抑制し、結果として作物の病害を軽減すると推察された。

2. フェノール性酸による野菜類連作障害軽減技術について

陸稲輪作による野菜連作障害の軽減効果が陸稲中に含まれるフェノール性酸によるものであるとすれば、フェノール性酸を利用すれば陸稲作付けと同様の連作障害軽減効果が現れるものと期待できる。そこで、連作ゴボウを供試してフェノール性酸利用による連作障害軽減技術について検討を行った。

ゴボウの連作障害にみられるゴボウの苗立枯れ病に対して*p*-クマル酸およびフェルラ酸の灌注処理は防除効果が認められた。この機作はゴボウの播種期に*p*-クマル酸およびフェルラ酸の中和水溶液を土壤に灌注処理すると、土壤微生物の急激な増殖が起こり、土壤病原菌に対して栄養基質の競合や微生物間の拮抗、抗生などによって病原菌の活動が抑制されるものと推察された。このことは、*p*-クマル酸およびフェルラ酸の土壤施用は土壤の静菌作用を高める効果を有していることを示唆している。この現象は *R. solani* AG-4 型によるゴボウ苗立枯れ病に限るものではなく、他の病害についても軽減効果を期待しうるものである。

病害虫の防除効果を高めるには、病原菌の生態的特性を考慮した施用法が重要である。松田ら（1976）は土壤伝染性病原菌を生活史から、次の3群に大別している。

① あぶらな科作物の根こぶ病菌のように生きた植物根

を生活の場とし、土壌では休眠体として生存している純寄生型。② フザリウム菌などのように、土壌中では根から分泌される物質とくに、糖類、アミノ酸類など、または新鮮な有機物を栄養源にして一時的に増殖し、比較的短時日の間に耐久体を形成して静止状態になり、根圏を生活の場とする根系生息型。③ ピシウム菌、リゾクトニア菌、白紋羽病菌、紫紋羽病菌などのように、土壌の有機物を利用して増殖し、自力による行動範囲および寄生範囲が広い土壌生息型。土壌中の有機物を利用するリゾクトニアやピシウム菌などの土壌生息型菌は、有機物が比較的豊富な土壌表層に生息し、根系に生息し休眠孢子から作物根の分泌物質によって発芽するフザリウム菌などは土壌の比較的深い場所にも生存することが知られている。

本試験結果から、ゴボウ連作障害軽減のための p -クマル酸およびフェルラ酸の施用法について考察すると、以下のとおりである。

施用時期は、ゴボウが発芽する前にフェノール性酸が生育障害を引き起こす濃度以下になる時期、すなわち、ゴボウが発芽する1~2週間前の播種時が適当と考えられた。フェルラ酸はゴボウに対する生育障害作用が他のフェノール性酸より弱いため、発芽後(播種30日後)も直接作物体に触れないような施用法、株元や畦間の灌注処理は有効である。施用量は $1,000 \text{ mg L}^{-1}$ を1ヘクタール当たり3,000 Lの土壌灌注が適当であった。これは、一般的な農薬の使用倍率、使用量とほぼ同等である。

施用位置は、土壌表面からの灌注処理で十分と考えられる。土壌病原菌は土壌有機物に富む土壌表面に生息することが多い。フザリウム属などの比較的土中でも生存可能な菌に対する効果を狙う場合は、施用後にロータリー耕をし、フェノール性酸を10 cm程度土壌と混和すると良いと思われる。

しかし、いずれの処理をおこなっても、初作よりは収量・品質とも劣る。これは下長根(1982)、佐藤(1967)が述べているようにゴボウの連作障害はリゾクトニア、フザリウム菌などの土壌病原菌とセンチュウによって複合的に引き起こされるため、本試験で用いたフェノール性酸ではこれら両者を同時に防除する効果が十分でなかつ

たためと考えられる。フェノール性酸の農業利用を考える場合、土壌病原菌の生態に適合した効果的施用方法が今後の研究課題と思われる。

3. フェノール性酸利用の意義

最近、農薬等の合成化学薬剤等の多量施用の反省から、環境保全型農業への移行が提唱されている。また、有用微生物や拮抗微生物の活動を活発にして、土壌中の病原菌の生存や活動を制御しようとする生物防除技術が注目をあつめている。これは ① 化学合成農薬に対する環境汚染や健康被害への危惧、② 土壌病原菌は土壌中に生存するため、施用した農薬が土壌に吸着されたり、不活性化され効果が発揮されにくく、新しい防除技術が望まれていること、③ 農薬は短期間に耐性菌が出現することが多く、新農薬が短期間に無効になることなどから、自然生態系と調和した新しい農業技術を開発しようとする潮流から生まれたものと考えられる。

本試験に供試した p -クマル酸やフェルラ酸はイネ科作物に多く含まれているように自然界に多量に存在する化合物であり、しかも微生物によって速やかに分解されたため、健康被害や環境への負荷は比較的少ないと考えられる。

本研究で試みたフェノール性酸によるゴボウ連作障害軽減技術の開発は環境保全型農業や生物防除技術の目的と一致しており、ここで明らかにした陸稲輪作による連作障害軽減の作用機作とそれを応用したフェノール性酸の利用技術は環境保全型農業に寄与できるものと確信する。

第VI章 摘 要

陸稲輪作が野菜類の連作障害軽減効果(陸稲の輪作効果)を持つことは一般的に知られているが、その機作については十分解明されていない。そこで本研究では陸稲の輪作効果の機作に関する研究とその応用によるゴボウ連作障害軽減技術に関する研究を1987年から1993年までの7年間実施した。その結果、次のような知見を得た。

1. 陸稲根からの分泌物質および陸稲中の有機化合物の検索

(1) 陸稲根が分泌した糖はグルコースだけであり、播種から2週間以内に多く認められた。この分泌は光合成

や窒素肥料の形態などの影響は小さく、陸稲の生育量と負の関係が認められた。

(2) 陸稲が分泌したアミノ酸の種類は測定対象の17種類のうち16種類であり、多種類のアミノ酸が認められた。アミノ酸の分泌は無肥料では痕跡程度であったが、窒素肥料の施用によって増加した。また、アンモニア態窒素は硝酸態窒素より分泌量を増加させた。

(3) 収穫期の陸稲根中の可溶性糖は小麦、ゴボウ、トマトと比べて極めて低濃度であった。また、生育時期別の根中濃度も小麦と比べるといずれの時期も低かった。

(4) 収穫期の陸稲根中の遊離アミノ酸は可溶性糖と同様に小麦、ゴボウ、トマトと比べて極めて低濃度であった。また、生育時期別の根中濃度も小麦と比べるといずれの時期とも極めて低かった。

(5) 収穫期の陸稲根には、*p*-クマル酸、フェルラ酸が多量に含まれていた。このフェノール性酸はトウモロコシ、小麦、大麦などのイネ科作物に多く、トマト、ゴボウ、ピーマンなどの野菜類では少なかった。

2. 陸稲中に含まれるフェノール性酸の諸特性の解明

(1) フェノール性酸の土壌添加は、比較的速やかに土壌微生物を増殖させ、25℃培養では約75時間で微生物の増殖は終了した。

(2) フェノール性酸を土壌に添加すると、著しく糸状菌、細菌類が増加した。放線菌は増殖しなかった。

(3) フェノール性酸添加によって増殖する糸状菌の菌種は、ペニシリウム属が多く、*p*-クマル酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸では85%以上を占めた。

(4) フェノール性酸の *R.solani* に対する抗菌活性は、1,000 mg L⁻¹の*p*-クマル酸とフェルラ酸に認められた。バニリン酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸では認められなかった。

(5) *F.oxysporum* に対する抗菌活性は、1,000 mg L⁻¹の*p*-クマル酸、1,000 mg L⁻¹のフェルラ酸で認めたが、バニリン酸と*p*-ヒドロキシ安息香酸では認められなかった。

(6) フェノール性酸によるゴボウ苗立枯病の発病軽減効果は、施用後26日後に播種すると、*p*-クマル酸、フェルラ酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸の500 mg kg⁻¹から1,000

mg kg⁻¹の処理で認められた。

(7) フェノール性酸がゴボウの根長を阻害する濃度は、*p*-クマル酸は25 mg L⁻¹以上、フェルラ酸は200 mg L⁻¹以上、*p*-ヒドロキシ安息香酸は75 mg L⁻¹以上、バニリン酸は25 mg L⁻¹以上であった。ゴボウの草丈に対する影響は根の場合ほど大きくなく、*p*-クマル酸、フェルラ酸で200 mg L⁻¹から、*p*-ヒドロキシ安息香酸とバニリン酸では200 mg L⁻¹でも阻害されなかった。

3. フェノール性酸によるゴボウ連作障害軽減

(1) ゴボウの連作障害は出芽・幼苗期の障害として出芽阻害や出芽後の苗立枯れ、地上部生育障害は草丈と葉面積の減少、地下部生育障害は根長の低下、根の伸長阻害(岐根)、根の黒変(ヤケ症)の発生等が認められた。

(2) ゴボウ連作土におけるゴボウの初期生育に及ぼすフェノール性酸の影響は、発芽阻害の軽減、草丈および根長生育の改善と生育阻害が認められた。改善効果の高いフェノール性酸処理は*p*-クマル酸の1,000 mg L⁻¹、フェルラ酸の1,000 mg L⁻¹、10,000 mg L⁻¹、*p*-ヒドロキシ安息香酸の1,000 mg L⁻¹であった。生育阻害は、*p*-クマル酸、*p*-ヒドロキシ安息香酸、安息香酸それぞれ10,000 mg L⁻¹で薬害と思われる症状が認められた。

(3) *p*-クマル酸およびフェルラ酸を4年連作ゴボウ畑に灌注処理すると無処理区に比べて草丈などの地上部の生育および根重などの地下部の生育に連作障害軽減効果が認められたが、初作ほどではなかった。

(4) 土壌表面からの灌注回数は、*p*-クマル酸1回処理とフェルラ酸2回処理がすぐれた。*p*-クマル酸とフェルラ酸の併用区は単用区よりも劣った。

(5) 施用位置による効果は、*p*-クマル酸は土中注入処理によって地上部および地下部の生育が土壌表面処理を上回ったがフェルラ酸は*p*-クマル酸とは逆に表面処理が土中注入処理を上回った。*p*-ヒドロキシ安息香酸は土壌表面と土中注入処理の処理間差は小さかった。

以上のことから陸稲の輪作効果は陸稲中のフェノール性酸が土壌病原菌に対して抗菌作用を有することおよび土壌微生物相を変えることと推定した。また、連作ゴボウに陸稲中の主要フェノール性酸である*p*-クマル酸、フェルラ酸を施用することによって、連作障害が軽減された。

謝 辞

本論文をとりまとめるに当たっては千葉大学園芸学部教授高崎康夫博士、同伊東正博士、同高橋英吉博士、同平野和彌博士には懇切な御指導と御校閲を賜った。また、東北大学農学部羽柴輝良博士には本研究を実施するに当たって適切な御指導と御助言を受け、また、ご懇切な御校閲を賜った。さらに、元茨城県農業試験場長石川昌男博士には、この論文の作成にあたって、貴重な御助言と御援助を賜った。

本研究を実施するに当たっては、元茨城県農業試験場長松田明博士、前茨城県農業総合センター農業研究所長平山力氏、同前生物工学研究所長大沢勝次博士、同農業研究所土壌肥料研究室長小川吉雄博士、同園芸研究所土壌肥料研究室長小山田勉氏、茨城県工業技術センター食品加工部長橋本俊郎氏には適切な御指導と御助言を賜った。本論文の執筆に際しては、茨城県農業総合センター農業研究所長阿部祥治氏、同前作物研究室長奥津喜章氏には御便宜を賜り、また、茨城県農林水産部技監兼農政企画課長本田宏一氏には終始暖かい励ましの言葉をかけていただいた。

なお、本研究は茨城県農業総合センター農業研究所環境研究室の室員の方々、同庶務課の峰島一成氏、宇留野千香子女史、横山良裕氏、同病虫研究室の渡辺健博士、友常年江主任、茨城県農業総合センター生物工学研究所生物防除研究室の室員の方々の多大なる御協力のおかげで遂行できた。

これらの方々に心から感謝する。

文 献

坏存・秋山実・谷芳明・小松徹夫・下長根鴻・尾崎克己・島田裕之・梶田貞義・本田宏一, 1979. 果葉菜連作畑における連作害回避技術としての普通作の導入, 茨城農試研報, 20, 147 - 175

新井重光, 1993. 微生物利用土壌改良資材の効果判定技術の開発, 研究成果 282, P 16, 農林水産技術会議事務局

芦田譲治・加藤次郎, 1959. 生化学講座 9 植物の生化学

学 4章植物ホルモン 共立出版 209 - 251

Barnett, H.L. and Barry B. Hunter, 1972. Illustrated Genera of Imperfect fungi, Macmillan Publishing Company, New York

Dabler, J.M., Pappelis, A.J. and BeMiller, J.N., 1969. Effect of Phenolic Acids and Corn Extract upon Spore Germination of *Diplodia zeae*, Phytopathology, 59, 1098 - 1101

Dobbs, C.G. and Hinson, W.H, 1953. A widespread fungistasis in soil, Nature, 172, 197 - 199

藤井国博・小林達治・高橋英一・鈴木達彦・松口龍彦・蘭道生・田辺市郎, 1970. 土壌微生物の変動と土壌中の物質代謝に関する研究 (第2報), いなわら施用土壌における微生物の変動について, 土肥誌, 41, 323 - 327

深見順一・上杉康彦・石塚皓造・富沢長次郎編, 1981. 農薬実験法 2, 殺菌剤編, 2章抗菌活性測定法, ソフトサイエンス社, 38 - 51

林 幹夫・平山力, 1990. 陸稲輪作による連作障害軽減効果の機作に関する研究, 第1報 陸稲幼苗期における根からの糖, アミノ酸類の分泌, 茨城農試研報, 30, 75 - 82

林 幹夫・小山田勉, 1991. 陸稲輪作による連作障害軽減効果の機作に関する研究, 第2報 陸稲中に含まれる糖, アミノ酸, フェノール性酸, 茨城農試研報, 31 141 - 150

林 幹夫, 1996. フェノール性酸が土壌微生物の増殖および土壌微生物相に及ぼす影響, 土肥誌, 67 384 - 391

林 幹夫, 1997 a. フェノール性酸のゴボウ苗立枯病菌, ゴボウ萎ちょう病菌に対する抗菌活性とその発病に及ぼす影響, 土肥誌, 68 116 - 122

林 幹夫, 1997 b. フェノール性酸によるゴボウ連作障害の軽減, 土肥誌, 68 123 - 130

平岡潔志・米山忠克, 1990. 窒素, リン, カリウムの過剰と生理機能, 土肥誌, 61, 315 - 322

本田宏一・石川実・石川昌男, 1974. ゴボウの栽培法に関する研究, 第1報 ゴボウの生育過程と養分吸収

- について, 茨城農試研報, 15 105 - 112
- 堀口博, 1982. 防菌防黴の化学, 三共出版, 148 - 150
- 堀口毅, 1984. 作物米養・肥料学, 文永堂, 82 - 83
- 堀兼明・村松安男・森田儔, 1980. 園芸作物培地の生産力と土壤微生物に関する研究 (第4報), 各種有機物施用がトマトの褐色根腐病と土壤微生物相に及ぼす影響, 静岡農試研報, 25, 26 - 34
- 飯田格・上遠章・佐藤六郎・山崎輝男編, 1971. 現代農業講座Ⅱ, 農業の効力検定法, 朝倉書店, 1 - 35
- 石沢修一・鈴木達彦・甲田知則・佐藤修, 1958. 土壤微生物とその作用に関する研究 農技研報告 B 8 号 1 - 185
- 駒田旦, 1971. 野菜のフザリウム病菌 *Fusarium oxysporum* の土壤中における活性評価技術に関する研究, 東海近畿農業試験場報告, 29, 132 - 268
- 近藤熙・加藤邦彦, 1975. 土壤微生物実験法, P. 21 - 24, 養賢堂
- 金野隆光, 1984. 土壤微生物活性測定への微小熱量計の応用 土壤バイオマス - 土壤生物の量と代謝 - 日本土壤肥料学会編 博友社
- 草野秀・小川和夫, 1974. 作物体に含まれるフェノール性酸について, 土肥誌, 45, 29 - 36
- Kuwatuka, S. and Sindou, H., 1973. Behavior of Phenolic Substances in the Decaying Process of Plant. I. Identification and Quantitative Determination of Phenolic Acids in Rice Straw and Its Decayed Product by Gas Chromatography. Soil. Sci. Plant Nutr, 19, 219 - 227
- Lockwood, J.L., 1964. Soil fungistasis, Ann. Rev. Phytopathology, 2, 341 - 362
- 松田明, 1981. 土壤伝染病の生態的防除手段としての輪作と有機物施用, 植物防疫, 35, 3 号, 108 - 114
- 松田明, 1977. 野菜の土壤病害, 農文協, P73 - 74
- 松田明・尾崎克己・下長根鴻, 1976. 有機物および消石灰施用土壤の静菌作用の変動とキュウリつる割病発生からみた有機物の施用法について, 茨城農試研報, 17, 83 - 96
- 松田明・尾崎克己・下長根鴻, 1977. 畑土壤病害に対する有機物と消石灰の効果 (1), 農及園, 52, 3 号, 433 - 436
- Martin, J. P. and Haider, K., 1976. Decomposition of Specifically Carbon - 1,4- labeled Ferulic acid : Free and Linked into Model Humic Acid-type Polymers. Soil Sci. Soc. AM. J., 40, 377 - 380
- 松原茂樹・沢地信康, 1957. 根菜類の連作に関する研究 (第1報), 園学雑, 26, 3 号 141 - 148
- 松口龍彦, 1992. 土壤病害と土壤管理, 農業技術大系 5, 農文協
- 松尾卓見・駒田旦・松田明編, 1980. 作物のフザリウム病, P109 - 111, 全国農村教育協会
- Mitchell, R. and Alexander, M., 1962. Microbiological processes associated with the use of chitin for biological control. Proc. Soil Sci. Amer. 26, 556 - 558
- Mitchell, R., 1963. Addition of fungal cell-wall components to soil for biological disease control. Phytopathology, 53, 1068 - 1071
- 宗像桂・山田哲也, 1959. 植物の自家生育阻害物質に関する研究, 1. 陸稲連作による自家生育阻害物質について (予報), 農及園, 34, 1117 - 1118
- 村山登・塚原貞雄・大島正男, 1961. 水稻の登熟過程における物質の動態に関する研究 (第5報), ¹⁴Cによる光合成産物の形態と移行の追跡, 土肥誌, 32, 256 - 260
- Murphy, J. and Stutte, C.A., 1978. Analysis for Substituted Benzoic and Cinnamic Acids Using High-pressure Liquid Chromatography. Analytical Biochemistry, 86, 220 - 228
- Nicholson, R.L. and Hammerschmidt, R., 1992. Phenolic Compounds and Their Role in Disease Resistance, Ann. Rev. Phytopathol, 30, 369 - 389
- 農林水産技術会議事務局編, 1977. 連作障害要因に関する研究, 研究成果 98
- 農林水産省野菜試験場, 1978. 野菜における連作障害の

現況 研究資料5号

- 生越明, 1975. 土壤微生物実験法, P 86 - 90, 養賢堂
- 大久保隆弘, 1976. 作物輪作技術論 農文協 P 81 - 104
- 王子善清・伊沢悟郎, 1974. インタクト植物による無機窒素の吸収ならびに同化に関する研究 (第4報), $\text{NH}_4\text{-N}$ および $\text{NO}_3\text{-N}$ の利用性における水稲とキュウリの差異, 特にその代謝的背景, 土肥誌, 45, 341 - 351
- 尾崎克巳・松田明・下長根鴻, 1979. ごぼう黒あざ病について, 茨城農試研報, 20, 31 - 41
- 尾崎清・森山真明, 1951. 水稲の窒素代謝に関する研究 (Ⅲ), Amino 酸およびAmides について (その1), 土肥誌, 22, 323 - 327
- Parkinson, D., 1965. In Plant Microbes Relationships, 69, C S A V, Prague
- Rovira, A.D., 1962. Plant-root exudates in relation to the rhizosphere microflora, Soil and Fertilizers, 25, 167 - 172
- 佐藤昭美, 1966. ゴボウのキタネグサレセンチュウ防除上の問題点, 北日本病虫研報, 17, p99
- 佐藤昭美, 1967. キタネグサレセンチュウによるゴボウの害徴と糸状菌の関係について, 北日本病虫研報, 18, p126
- 沢田泰男, 1969. 緑肥の分解に伴う畑作物の生育阻害に関する研究 北海道農試報告, 76, 1 - 62
- 島津高速液体クロマトグラフ応用データ集, 1988. 食品分野への応用, 糖
- 島津高速液体クロマトグラフ取扱説明書, 1988. LC-6A アミノ酸分析システム
- 下長根鴻, 1992. 土壤中におけるフザリウム菌の生態ならびに輪作と有機物施用によるキュウリつる割れ病の防除, 茨城農試特別研報, 6, 1 - 115
- 下長根鴻, 1982. ゴボウ連作障害 (ヤケ症) とその防除対策, 農業技術, 37, 9号, 18 - 22
- 進藤晴夫・楢塚昭三, 1978. 稲わらリグニン中の加水分解性フェノール成分, 土肥誌, 49, 165 - 166
- Sindou, H. and Kuwatuka, S., 1976. Behavior of Phenolic Substances in the Decaying Process of Plants, IV. Adsorption and Movement of Phenolic Acids in Soils, Soil Sci. Plant Nutr., 22, 23 - 33
- Sindou, H. and Kuwatuka, S., 1977. Behavior of Phenolic Substance in the Decaying Process of plant. VII. Characteristics of Phenolic Substance in the Humic Acids of Decaying Rice Straw and Compost-Supplied Field Soil, Soil Sci., Plant Nutr., 23, 333 - 340
- 鈴木達彦, 1972. 畑作物の連作障害と無菌栽培の将来(1), 農及園, 47, 5号 689 - 694
- 庄子貞雄・前忠彦, 1982. 作物の生態生理, 文永堂, P 111
- 瀧嶋康夫, 1965. いや地, — 毒素説の進展と問題点 —, 化学と生物, 13, 530 - 535
- 戸刈義次・松尾孝嶺・畑村又好・山田登・原田登五郎・鈴木直治編, 1957. 作物試験法, 第11章植物有機成分分析法, 農業技術協会刊 303 - 335
- 東京大学農学部農芸化学教室, 1964. 実験農芸化学上巻, 植物栄養試験法, IV水耕法, 100 - 102
- 吉田武彦・宮松一夫, 1968. 水稲根への光合成産物の転流形態と根中における形態変化について, 土肥誌, 39, 228 - 232
- 山野秀樹, 1984. 微生物の生育と熱生成 土壤バイオマス — 土壤生物の量と代謝 — 日本土壤肥料学会編 博友社
- Wang, T.S.C., Yang, T.K. and Chung, T.T., 1967. Soil Phenolic acids as Plant Growth Inhibitors, Soil Sci, 103, 239 - 246
- 渡邊恒雄, 1993. 土壤糸状菌, — 培養株の検索と形態 —, ソフトサイエンス社

Study on the Mechanism of Decreasing the Continuous Cropping Injury of the
Vegetables by the Upland Rice Cultivation

Mikio Hayashi

SUMMARY

This paper forms part of study on the mechanism of decreasing the continuous cropping injury of the edible burdock by the upland rice cultivation and the practical use of phenolic acids which are produce in the upland for the injury control. This study carried out since 1987 to 1993. The results was as follows.

1. Searching for some microbial nutrients which are found in a secretion from the upland rice root and in plant organs

- (1) The kinds of secreted from upland rice root was only glucose. The amount decreased with plant growth and the secretion finished at two weeks after sowing.
- (2) Sixteen kinds of amino acids were detected in the secretion. The secretions of amino acids were increased by application of a nitrogen fertilizer : especially ammonium nitrogen application resulted in an increased production of amino acids more than nitrate nitrogen.
- (3) The amounts of soluble sugars and free amino acids in the upland rice root at harvesting time, were less than in wheat and vegetables' roots. The amount of soluble sugars in stems and leaves of gramineous crops were greater than vegetables.
- (4) The amounts of phenolic acids in some crops roots were much more in gramineous crops than in vegetable crops. Main phenolic acids in the upland rice root were *p*-coumaric acid and ferulic acid.

2. Some characteristics of phenolic acids as effect of soil microflora, antifungal activity and plants growth.

- (1) Applied phenolic acids which were contained in upland rice crop were the *p*-coumaric acid, ferulic acid, *p*-hydroxybenzoic acid and vanillic acid. These phenolic acids made use of reagents which were neutralized by potassium hydroxide solution.
- (2) The application of phenolic acids grew rapidly soil microorganism. At 25 °C culture, the growth of soil microorganism finished about 75 hours.
- (3) The application of phenolic caused an increase in the numbers of fungi and bacteria, especially fungi which increased from 10 to 38 time that of nonapplied.
- (4) Species of fungi were *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Tricoderma*, etc. The dominant species of fungi was *Penicillium* and it occupied 60 % of total fungi. By the application of *p*-coumaric acid and *p*-hydroxybenzoic acid, the ratio of *Penicillium* to the total fungi rose to above 85 %.
- (5) The *p*-coumaric acid and the ferulic acid inhibited the mycerial growth of *Rhizoctonia solani* R 63 (AG - 4 type) at concentration of 1,000 mg L⁻¹. The *p*-hydroxybenzoic acid and the vanillic acid not inhibited the fungus at 1,000 mg L⁻¹.
- (6) The *p*-coumaric acid exhibited fungilytic action and the ferulic acid inhibited mycerial growth of *Fusarium*

oxysporum f. sp. *arctii* at 1,000 mg L⁻¹. The *p*-hydroxybenzoic acid and the vanillic acid did not inhibited the mycerial growth at 1,000 mg L⁻¹.

(7) Re-seeding on 26 days after application of *p*-coumaric acid, ferulic acid and *p*-hydroxybenzoic acid at the concentration from 500 mg kg⁻¹ to 1,000 mg kg⁻¹ was effective for decreasing the damping-off disease. But, they were not effective for decreasing the wilting disease.

(8) The concentrations of each phenolic acid which inhibited the edible burdock root growth were as follows : above 25 mg L⁻¹ of *p*-coumaric, above 200 mg L⁻¹ of ferulic acid, above 75 mg L⁻¹ of *p*-hydroxybenzoic acid and 25 mg L⁻¹ of vanillic acid. The inhibition of edible burdock plant high were less than root growth.

3. Effects of phenolic acids on the continuous cropping injury of Edible Burdock

(1) The symptoms on the continuous cropping injury of edible burdock were observed the inhibition of germination, damping-off, wilting and rots root were observed on the seedling stage. In the growing stage, leaf width, plant high and root length becomes less than normal. Further more, roots were deformed and black spots appear on the root surface.

(2) The effective phenolic acids for improvement of continuous cropping injury of edible burdock were 1,000 mg L⁻¹ *p*-coumaric acid, 1,000 mg L⁻¹ and 10,000 mg L⁻¹ ferulic acid, 1,000 mg L⁻¹ *p*-hydroxybenzoic acid. The effect of vanillic acid and benzoic acid were not significant.

(3) By application of *p*-coumaric acid and ferulic acid on edible burdock fields where continuous cropping occurs, these symptoms decreased and crops growth was improved. However, the plant growth was less the first cropping.

(4) The *p*-coumaric acid and ferulic acid were applied 3 times on the field. The first application was done at sowing time, the second was after 30 days of the sowing and the third was 60 days after it. In case of *p*-coumaric acid, an application at sowing time was most effective and for ferulic acid two applications : the first at sowing and the second 30 days after the sowing was better than others.

(5) On the place of application : In case of *p*-coumaric acid, the injection into soil was more effective than spray on the surface : on the other hand, in case of ferulic acid the splay was better than the injection.



写真2 ゴボウの連作障害

上左：初作区のゴボウの生育（播種91日目）
 上右：4年連作区ゴボウの生育（播種91日目）
 下左：初作区の収穫ゴボウ根
 下右：4年連作区の収穫ゴボウ根



写真3 4年連作土壌へのρ-クマル酸、フェルラ酸施用とゴボウの生育

上左：4年連作区にρ-クマル酸を施用した土壌でのゴボウの生育（播種91日目）
 上右：4年連作区にフェルラ酸を施用した土壌でのゴボウの生育（播種91日目）
 下左：4年連作区にρ-クマル酸を施用した土壌での収穫ゴボウ根
 下右：4年連作区にフェルラ酸を施用した土壌での収穫ゴボウ根

陸稲新品種「ゆめのはたもち」の育成

根本 博・平山正賢・岡本和之・宮本 勝・須賀立夫

ゆめのはたもちは、高度耐干性品種の育成を目標として、1979年に茨城県農業試験場育種部（農林水産省陸稲育種指定試験地）において農林糯4号を母、深根性のインド在来品種 Jaypole collection No.81（以下JC81と略す）を父とする交配を行ない、次いで1980年にF₁個体を母、農林糯4号を父として戻し交配し、さらに1981年に農林糯4号を母、B₁F₁個体を父とする戻し交配を行ない、以来同場（1992年7月より生物工学研究所に移管）で選抜と固定を進めて育成した品種である。1996年に陸稲農林糯60号に登録され、ゆめのはたもちと命名された。本品種は中生の晩の熟期で、JC81の深根性を取り入れたことにより、地下深層に豊富な根系をもち、根端は他の品種よりも深い地層に達している。そのため、日本の陸稲品種として初めて耐干性極強に分類される高度の耐干性をもち、干ばつ年でも安定した生育を示し減収程度が少ない。さらに陸稲品種としては初めて餅食味が上上に分類され、水稻品種で餅食味が中とされる品種と比較しても遜色のない極めて優れた餅質を持つ。また耐倒伏性がツクバハタモチや農林糯26号より優り、野菜跡の肥沃畑での栽培も可能である。茨城県の奨励品種決定調査において、1992年以来ツクバハタモチと比較して検討を行なった結果、上記の特性が認められ、陸稲栽培の安定化を図るために1996年から奨励品種に採用された。

キーワード：リクトウ、ヒンシュ、タイカンセイ、リョウショクミ、シンコンセイ、ユメノハタモチ

I. 緒 言

茨城県内の陸稲作付面積は1994年で6,550haであり、品種別構成は極早生のトヨハタモチ（66%）、早生の晩のキヨハタモチ（16%）、中生のツクバハタモチ（11%）などである。ツクバハタモチは1980年6月に陸稲農林糯53号に登録され、同年から茨城県で奨励品種として普及に移された。ツクバハタモチは玄米品質が良く、地力中庸の畑では比較的安定した収量を得やすいが、耐干性は従来の品種としては最も強い部類に属するが干害を受けやすい中生品種としては十分ではなく、また耐倒伏性が弱いなどの欠点があった。

従来の陸稲品種は餅としての食味が水稻品種より劣るため、米菓原料米として利用されてきた。しかし、1993年のガット・ウルグアイ合意による安価な外国産米の輸

入により、陸稲は需要を失う危険性がある。一方、畑作全体を考えた場合、野菜の連作障害回避のためには陸稲の栽培が有効であり、陸稲栽培の減退は畑作全体の不安定化につながると懸念される。そのため、高度の耐干性を付与することにより生産の安定化を図るとともに、良質化を進めることにより、餅用など新しい需要を開発する品種が望まれていた。

ゆめのはたもちはツクバハタモチとほぼ同じ熟期の中生品種で耐干性に優れ、地力中庸な畑から肥沃な畑まで比較的広い栽培適性を示す強稈の糯品種である。玄米は大粒で光沢はツクバハタモチにやや劣るが、餅としての食味は極良である。茨城県ではツクバハタモチの全部に替えてゆめのはたもちを奨励品種に採用し、陸稲栽培の安定化に寄与することが期待されている。

II. 育 種 目 標

陸稲の中晩生品種は、梅雨により干ばつを回避できる早生品種とは異なって、高い水準の耐干性が必要とされる。ゆめのはたもちは中生熟期の高度耐干性品種の育成を目的として、1979年に茨城県農業試験場において農林糯4号を母、多数の外国陸稲のスクリーニングにおいて国際稲研究所(IRRI)から導入したものの中から見出された深根性のインド在来品種 J C 81 を父とする人工交配を行ない、翌1980年にF₁個体を母、農林糯4号を父とする戻し交配を行い、さらに1981年に農林糯4号を母、深根性のB₁F₁個体を父とする戻し交配を行ない、以来同場で選抜と固定を進めてきた糯品種である。

III. 育成経過ならびにその概要

ゆめのはたもちの系譜を図1に、育成経過を図2に示す。以下世代をおってその概略を説明する。

交配(1979年): 茨城県農業試験場において農林糯4号を母、深根性のインド在来品種 J C 81 を父とする人工交配を行った。日本では極々晩生の J C 81 は通常には交配が困難なため、短日処理を行なって交配し、6粒の結実粒を得た。

F₁(1980年): 短日処理により出穂を調整したF₁個体を母、農林糯4号を父とする戻し交配を行ない、32粒の結実粒を得た。

B₁F₁(1981年): 農林糯4号を母、畑圃場で栽培したB₁F₁世代の32個体のうち出穂の合う7個体を父とする戻し交雑を行なった。B₁F₁個体の収穫後、塹壕法により7個体の深根性を調査し、根が深くかつ根量の多かった1個体を父とする1組合せのみを選び、29粒の結実粒を採種した。

B₂F₁(1982年): 畑圃場で1株1本植えとして24個体を養成し、草穂状が比較的良好な15個体を採種した。

B₂F₂(1983年): 前年採種した15個体を畑圃場において1個体1系統として単独系統を15系統栽培した。草穂状は農林糯4号に類似するものも多く、9系統47個体を選抜した。

B₂F₃(1984年): 系統群系統として9系統群47系統を

養成した。中生から晩生で、ほぼ農林糯4号に近い草姿であったが、草穂状分離が著しい系統があった。また、まれにみる干ばつ年で強い干害を受け不稔が多発した。比較的稔実の良い6系統群15系統35個体を選抜した。

B₂F₄(1985年): 15系統群35系統を養成した。中生で耐干性が強く、大粒で粒張りも良く有望視された。2系統群3系統11個体を選抜した。

B₂F₅(1986年): 3系統群11系統を養成するとともに、生産力検定予備試験に3系統群を供試した。草穂状は良いが、出穂期と稈長の分離が認められた。3系統群3系統9個体を選抜した。

B₂F₆(1987年): 3系統群9系統を養成するとともに、生産力検定予備試験に1系統群を供試した。生育量が多く、多収で、玄米はやや長粒であった。1系統群2系統5個体を選抜した。

B₂F₇(1988年): 2系統群5系統を養成した。生育量は大きく、稈長の分離が認められた。2系統群2系統10個体を選抜した。

B₂F₈(1989年): 2系統群10系統を養成するとともに、生産力検定予備試験に2系統群を供試した。食味試験の結果、餅の食味が極めて優れ、従来の陸稲品種を大幅に上回る餅質であることが初めて明らかになった。他の形質もすぐれる1系統群から2系統10個体を選抜し、石系373号の育成地系統番号を付した。

B₂F₉(1990年): 2系統群10系統を養成するとともに、石系373号として生産力検定本試験に、他の1系統群を予備試験に供試した。中生の中の熟期で、長稈で生育量があり、葉枯れが少なく熟色が良かった。1系統群2系統10個体を選抜した。

B₂F₁₀(1991年): 2系統群10系統を養成するとともに、

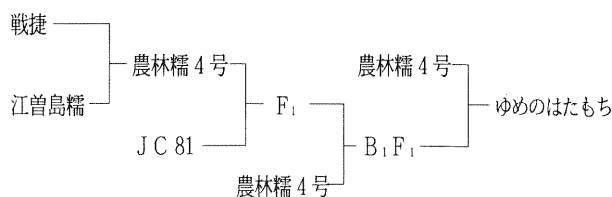


図1. ゆめのはたもちの系譜

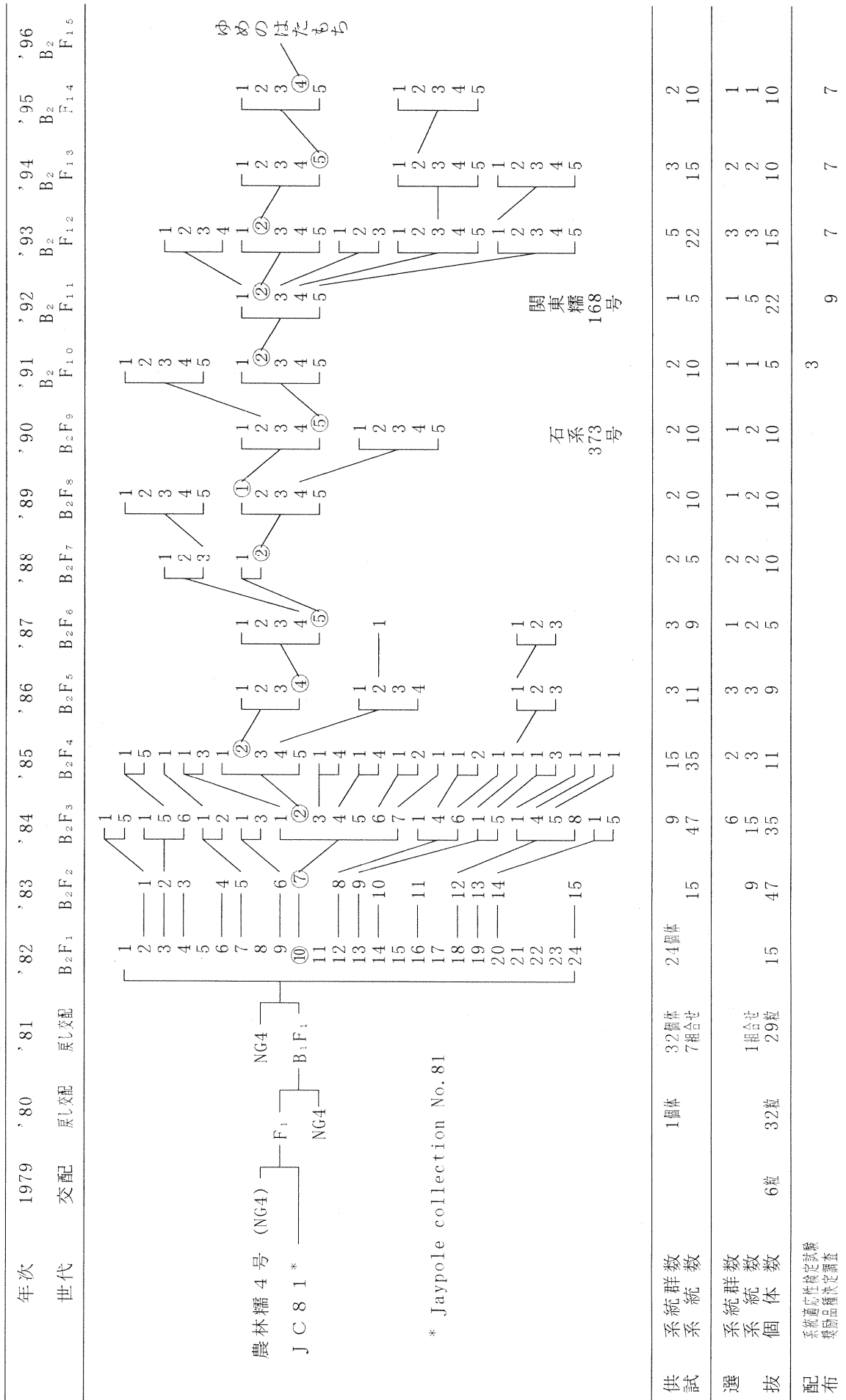


図2. ゆめのはたもちの育成経過

石系373号として生産力検定本試験に供試した。一方、系統適応性検定試験として栃木・千葉・熊本県に供試した結果、栃木県で大粒・多収、熊本県で良質と判定された。1系統群1系統5個体を選抜し、関東糯168号の地方系統番号を付した。

B₂F₁₁(1992年): 関東糯168号として1系統群5系統を養成するとともに、生産力検定本試験に供試した。一方、福島・茨城・栃木・群馬・埼玉・千葉・新潟・熊本・鹿児島県の9県で奨励品種決定調査に供試した。干ばつ傾向の天候下で関東糯168号は茨城・栃木・群馬県で極良質の餅質や高度耐干性、耐倒伏性が注目された。1系統群5系統22個体を選抜した。

B₂F₁₂(1993年): 5系統群22系統を養成するとともに、生産力検定本試験に供試した。冷夏により障害型冷害が発生し、関東糯168号の耐冷性はツクバハタモチ並であった。3系統群3系統15個体を選抜した。

B₂F₁₃(1994年): 3系統群15系統を養成するとともに、生産力検定本試験に供試した。厳しい干ばつ年であり、ツクバハタモチや農林糯26号と較べて関東糯168号は高度の耐干性を示した。2系統群2系統10個体を選抜した。

B₂F₁₄(1995年): 2系統群10系統を養成するとともに、生産力検定本試験に供試した。1系統群1系統10個体を選抜した。

B₂F₁₅(1996年): 茨城県で1996年度に、栃木・群馬県で1997年度に奨励品種に採用された。1996年は雑種第15代である。

IV. 特性概要

1. 一般的特性

表1. 形質調査成績

品種名	草型	草状	稈		芒		ふ 先 色	ふ 色	粒着 疎密	脱粒 難易	玄米		
			細太	剛柔	多少	長短					形状	大小	光沢
ゆめのはたもち	偏穂重	や陸稲	や太	中	少	短	黄白	黄白	中	難	細長	大	中
(標)ツクバハタモチ	偏穂重	や陸稲	や太	や剛	少	短	黄白	黄白	や密	難	中	中	中
(比)農林糯26号	偏穂重	や陸稲	や太	や剛	少	短	黄白	黄白	中	難	や細長	中	中
(比)ナツハタモチ	偏穂重	中間	中	中	稀	短	黄白	黄白	中	難	中	中	中

(1) 形態的特性

ゆめのはたもちの草状はやや陸稲型で、草型は偏穂重型に分類される。稈はやや太く、稈の剛柔は中である。短い芒が少しあり、ふ色とふ先色は黄白、粒着は中である。(表1)

稈長はツクバハタモチより7cm、農林糯26号より5cm短く、ナツハタモチより6cm長い中である。穂長は農林糯26号より短い、ツクバハタモチとナツハタモチ並の中である。穂数はツクバハタモチ、農林糯26号、ナツハタモチ並の中である。(表2, 図3)

(2) 生理・生態的特性

初期生育はツクバハタモチよりやや遅い傾向がある。出穂期はツクバハタモチより2,3日遅く、農林糯26号より2日程早く、関東地方の中生の晩に属する。耐倒伏性はツクバハタモチと農林糯26号より強くやや強に分類される。収量性はナツハタモチより多収であり、ツクバハタモチや農林糯26号よりやや優る。(表2, 表3)

いもち病真性抵抗性遺伝子型は+と推定され、葉いもち抵抗性は強、穂いもち抵抗性は極強である。株枯病抵抗性はツクバハタモチと農林糯26号よりやや劣り、やや強である。耐干性はツクバハタモチと農林糯26号より強い極強である。脱粒性、穂発芽性はともに難である。

(3) 品質・食味特性

玄米千粒重はツクバハタモチ、農林糯26号、ナツハタモチより大きい。玄米の外観品質はツクバハタモチと農林糯26号並の中である(表3)。

玄米形状はツクバハタモチより粒長、粒幅、粒厚、粒重とも大きな大粒であり、ツクバハタモチより細長く、細長に分類される。搗精歩留はツクバハタモチとナツハタモチ並であるが、搗精時間は両品種より短い。餅とし

陸稲新品種「ゆめのはたもち」の育成について

表2. 生育調査成績

品種名	試験 年次	出穂期 (月日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m ²)	倒伏 多少	被害			
							穂いもち	ごま葉枯	紋枯病	干害
ゆめのはたもち	1989	9. 5	62	19.9	190	0.0	3.0	0.5	1.0	0.0
	1990	8.11	70	19.1	343	0.0	0.5	2.3	1.0	0.0
	1991	8.13	91	21.1	340	1.8	1.5	0.0	1.8	0.0
	1992	8.20	62	20.6	327	0.0	0.3	1.3	2.8	0.0
	1993	8.21	75	17.7	355	0.3	0.0	0.0	0.7	0.0
	1994	8.10	60	18.0	370	0.0	0.0	0.0	1.3	0.8
	1995	8. 8	76	22.1	285	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
平均		8.17	71	19.8	316	0.7	0.8	0.6	1.2	0.1
(標)ツクバハタモチ	1989	8.31	67	18.0	201	0.0	1.8	1.3	1.5	0.0
	1990	8. 9	77	19.8	343	0.0	0.5	1.7	1.8	1.3
	1991	8. 7	98	22.2	336	3.0	1.0	0.0	0.8	0.0
	1992	8.19	72	21.8	257	0.0	0.3	1.0	2.8	0.0
	1993	8.18	84	19.6	342	1.3	0.0	0.0	2.0	0.0
	1994	8. 8	60	17.8	317	0.0	0.0	0.0	2.0	2.9
	1995	8. 7	86	24.2	281	4.3	1.3	0.0	0.0	0.0
平均		8.14	78	20.5	297	1.2	0.7	0.6	1.6	0.6
(比)農林糯26号	1989	9. 1	65	21.6	170	0.6	1.6	2.8	2.0	0.0
	1990	8.15	72	21.0	323	0.0	0.5	3.0	1.7	0.8
	1991	8.15	96	24.6	285	2.0	1.3	0.5	0.7	0.0
	1992	8.24	69	22.4	243	0.0	0.0	2.0	1.5	1.5
	1993	8.26	83	21.0	324	1.3	0.0	0.0	1.0	0.5
	1994	8.12	62	16.0	360	0.0	0.0	0.0	1.0	3.0
	1995	8.12	84	25.4	266	2.7	0.0	0.0	1.7	0.0
平均		8.19	76	21.7	282	0.9	0.5	1.2	1.4	0.8
(比)ナツハタモチ	1992	8.18	64	21.4	238	0.0	0.0	1.8	2.2	0.0
	1993	8.20	73	18.3	292	0.3	0.0	0.0	0.3	0.0
	1994	8. 9	53	16.3	313	0.0	0.0	0.0	1.0	2.9
	1995	8. 7	71	22.5	307	0.7	1.3	0.0	0.0	0.0
平均		8.14	65	19.6	288	0.3	0.3	0.5	0.9	0.7

注1. 平均は供試年の平均値。

2. 倒伏および被害は0（無）～5（甚）の6段階観察調査。

3. 播種期：4月17日～18日，施肥量：N-P₂O₅-K₂O:16-12-9 kg/10aを標準とした。

表3. 収量および品質調査成績

品種名	試験 年次	わら重 (kg/10a)	玄米重 (kg/10a)	対標準 比率(%)	籾摺 歩合(%)	玄 米 千粒重(g)	玄米 品質
ゆめのはたもち	1989	264	(218)	(96)	—	21.4	4.5
	1990	566	318	132	79	21.0	5.7
	1991	780	409	103	78	23.7	6.2
	1992	540	261	122	80	20.5	5.8
	1993	698	288	109	83	20.0	4.7
	1994	(910)	(66)	(717)	(65)	(20.0)	(4.6)
	1995	570	436	102	82	24.5	4.1
	平均	570	342	114	80	21.9	5.2
(標)ツクバハタモチ	1989	339	(228)	(100)	—	20.3	4.5
	1990	625	241	100	75	18.3	5.5
	1991	800	399	100	76	21.4	5.3
	1992	560	213	100	77	21.3	5.4
	1993	751	264	100	79	18.8	4.9
	1994	(810)	(9)	(100)	(36)	(15.7)	(6.3)
	1995	644	428	100	78	22.3	4.1
	平均	620	309	100	77	20.4	5.0
(比)農林糯26号	1989	396	(209)	(92)	—	19.9	5.5
	1990	593	172	71	76	19.7	6.0
	1991	870	383	96	77	22.2	5.2
	1992	610	104	49	76	18.6	5.5
	1993	714	293	111	79	19.7	5.0
	1994	(990)	(11)	(114)	(39)	(15.6)	(5.8)
	1995	640	418	98	82	22.5	4.1
	平均	637	274	85	78	20.4	5.2
(比)ナツハタモチ	1992	490	186	87	78	17.3	5.4
	1993	683	172	65	78	17.9	4.9
	1994	(850)	(7)	(79)	(28)	(14.8)	(7.0)
	1995	600	359	84	79	20.1	4.9
	平均	591	239	79	78	18.4	5.1

注1. ゆめのはたもち, ツクバハタモチ, 農林糯26号の平均は干ばつ害の激しかった1994年を除いた6年間
 平均値。ただし玄米重, 対標準比率, 籾摺歩合については1989年の値も除いた5年間平均値。ナツハタ
 モチは1992～1995年の3年間の平均値。

2. 1989年の玄米重, 対標準比率の()は精籾重およびその対標準比率。

3. 玄米品質は1(上上)～9(下下)の9段階評価。

4. 播種期: 4月17日～18日, 施肥量: N-P₂O₅-K₂O:16-12-9 kg/10aを標準とした。



図3. ゆめのはたもち(関東糯 168 号)の稲株

ての食味はツクバハタモチ、農林糯 26 号およびナツハタモチより格段に優れ、上上に分類される極良食味品種である。餅質は粘りが強く滑らかで、米菓原料米としても高く評価される。

2. 特性検定

(1) いもち病抵抗性

ゆめのはたもちの葉いもち抵抗性は、指標品種の農林

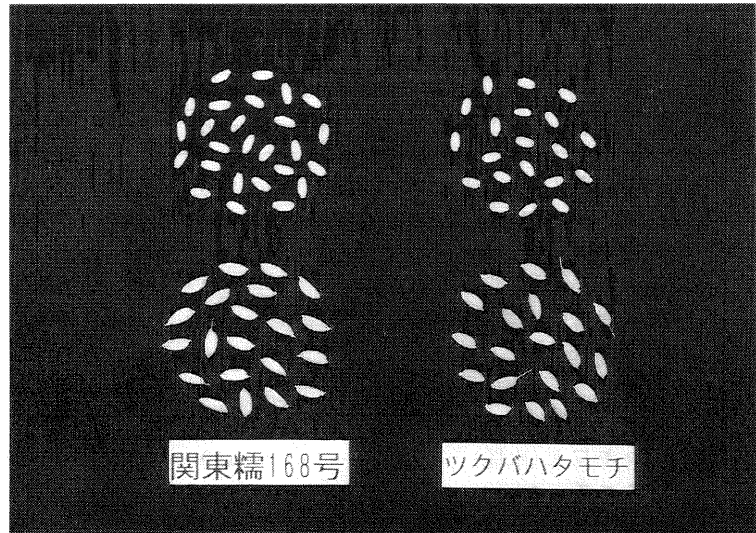


図4. ゆめのはたもち(関東糯 168 号)の玄米および粳

糯 4 号やツクバハタモチ並の強 (表 4, 表 5), 穂いもち抵抗性は農林糯 4 号より優れ農林糯 26 号並の極強と判定される (表 6, 表 7)。判別用 4 菌系接種によるゆめのはたもちの反応型は新 2 号型であり, いもち病抵抗性の推定遺伝子型は + と判断される (表 8)。

(2) 陸稲株枯病 (馬鹿苗病) 抵抗性

ゆめのはたもちの株枯病抵抗性はツクバハタモチやナツハタモチよりやや劣るが, トヨハタモチより優れ, やや強に分類される (表 9)。

(3) 耐干性

ゆめのはたもちの耐干性は耐干性検定ハウス内の検定床における渇水制限栽培により, 供試年による変動はあ

表 4. 葉いもち抵抗性検定試験成績 (育成地)

品種名	推定 遺伝子型	試験年次							評価
		1989	1990	1991	1992	1993	1994	平均	
ゆめのはたもち	+	1.5	1.0	0.5	1.0	0.1	0.1	0.70	強
ツクバハタモチ	+	1.0	1.3	1.2	0.0	0.3	0.1	0.65	強
農林糯 26 号	+	1.0	1.5	1.0	1.0	0.5	0.5	0.92	強
トヨハタモチ	+	1.3	1.0	1.3	0.0	0.5	0.7	0.80	強
(指標) 農林糯 4 号	+	1.0	1.2	1.0	1.0	0.4	0.7	0.88	強
(指標) 農林 12 号	+	2.0	2.0	1.9	1.0	0.9	1.5	1.55	中
黄金錦 (水稻)	+	2.8	3.8	3.3	3.0	3.3	2.8	3.17	弱
ヤマビコ (水稻)	Pi-a	3.1	3.3	3.0	2.8	4.2	3.0	3.23	弱
トドロキワセ (水稻)	Pi-i	3.6	3.4	3.6	3.2	3.0	3.5	3.38	弱
タツミモチ (水稻)	Pi-k	1.9	2.5	2.2	2.2	2.0	0.3	1.85	やや弱

注. 数値は発病程度で, 0 (無発病) ~ 5 (全茎葉ほとんど枯死) の 6 段階評価による。

表5. 葉いもち抵抗性検定試験成績(愛知県農業総合試験場山間農業研究所)

品種名	推定 遺伝子型	試験年次				評価
		1992	1993	1994	平均	
ゆめのはたもち	+	2.5	0.0	2.2	1.57	強
ツクバハタモチ	+	3.8	1.3	2.2	2.43	強
農林糯26号	+	3.8	0.8	2.3	2.30	強
トヨハタモチ	+	3.5	1.0	2.5	2.33	強
(指標) 農林糯4号	+	3.5	2.2	2.7	2.80	強
(指標) 農林12号	+	4.5	4.5	3.8	4.27	やや強
黄金錦 (水稻)	+	5.0	5.5	5.4	5.30	やや強
金南風 (水稻)	<i>Pi-a</i>	5.7	6.5	6.1	6.10	中
トドロキワセ(水稻)	<i>Pi-i</i>	4.9	5.5	5.7	5.40	やや強
タツミモチ (水稻)	<i>Pi-k</i>	2.3	0.9	2.2	1.80	強

注. 数値は発病程度で, 0 (無発病) ~10 (全茎葉ほとんど枯死) の11段階評価による。

表6. 穂いもち抵抗性検定試験成績(育成地)

品種名	推定 遺伝子型	試験年次					評価
		1992	1993	1994	1995	平均	
ゆめのはたもち	+	0.0	0.1	0.0	0.0	0.03	極強
ツクバハタモチ	+	0.0	0.5	1.5	0.0	0.50	極強
農林糯26号	+	0.2	0.5	0.5	0.0	0.30	極強
トヨハタモチ	+	0.0	0.0	3.5	0.0	0.88	強
(指標) 農林糯4号	+	0.2	0.6	1.5	0.0	0.58	強
(指標) 農林12号	+	0.3	1.5	1.7	0.7	1.05	やや強
黄金錦 (水稻)	+	0.5	0.0	2.0	1.3	0.95	やや強
金南風 (水稻)	<i>Pi-a</i>	2.3	1.5	1.5	1.0	1.58	中
トドロキワセ(水稻)	<i>Pi-i</i>	7.0	5.7	6.3	5.8	6.20	弱
タツミモチ (水稻)	<i>Pi-k</i>	3.5	7.5	6.3	3.3	5.15	弱

注. 数値は発病程度で, 0 (無発病) ~10 (全穂罹病) の11段階評価による。

表7. 穂いもち抵抗性検定試験成績(愛知県農業総合試験場山間農業研究所)

品種名	推定 遺伝子型	試験年次			評価
		1992	1994	平均	
ゆめのはたもち	+	1.7	0.7	1.20	極強
ツクバハタモチ	+	—	—	—	—
農林糯26号	+	1.7	0.7	1.20	極強
トヨハタモチ	+	3.3	0.3	1.80	強
(指標) 農林糯4号	+	2.0	1.0	1.50	強
(指標) 農林12号	+	2.7	2.0	2.35	強
黄金錦 (水稻)	+	2.8	7.3	5.05	やや強
ヤマビコ (水稻)	<i>Pi-a</i>	2.5	2.8	2.65	強
トドロキワセ(水稻)	<i>Pi-i</i>	1.3	5.3	3.30	やや強
クサブエ (水稻)	<i>Pi-k</i>	4.8	7.3	6.05	中

注. 数値は発病程度で0 (無発病) ~10 (全穂罹病) の11段階評価による。

表8. 葉いもち抵抗性の遺伝子型の推定

品種名	接種菌系名				推定 遺伝子型
	Fs1001-1-1 (007)	稲72 (013)	TH168-126 (033)	5473 (035)	
ゆめのはたもち	S	S	S	S	+
ツクバハタモチ	S	S	S	S	+
農林29号 (水稻)	S	S	S	S	+
愛知旭 (水稻)	S	R	S	MR	<i>Pi-a</i>
クサブエ (水稻)	MR	S	S	S	<i>Pi-k</i>
フクニシキ (水稻)	M	MR	M	M	<i>Pi-z</i>
Pi-No. 4 (水稻)	MR	R	MR	R	<i>Pi-ta</i> ²

注1. 判別用4菌系の注射接種法(2万個/μl)による。1996年1月26日(4~5葉期)接種,
2月8日(5~5.5葉期)調査

2. R: 抵抗性反応, S: 罹病性反応。

表9. 陸稲株枯病(馬鹿苗病)抵抗性検定試験成績

品種名	枯死個体率 (%)				評価
	1992	1993	1994	平均	
ゆめのはたもち	40	30	14	28.0	やや強
ツクバハタモチ	0	0	15	5.0	強
ナツハタモチ	0	30	10	13.3	強
農林糯26号	35	25	0	20.0	強
ハタキヌモチ	30	20	0	16.7	強
トヨハタモチ	30	45	50	41.7	中

注. 茨城農試の開発した幼苗検定法による。催芽初10粒を入れた10ml¹⁷プラスチック容器に、接種濃度500万個/μlに調整した陸稲株枯病菌5K-2の振とう培養による胞子様菌体懸濁液を1ml注入接種した。1か月後に枯死個体率を調査した。

1992年と1994年はツクバハタモチより50%程度多収となり、玄米の外観品質もツクバハタモチよりも良く、干ばつ下での生産性がツクバハタモチよりも安定していることを示した(表13)。干ばつ年の1994年のゆめのはたもちの根の発達程度は、地下40cmまでは比較品種と大きな差はないが、地下40cm以下の根量はツクバハタモチや農林糯26号より豊富であった。さらに根端は両品種より

るが、全体的に出穂遅延日数、生育抑制および白ふなどの被害程度からツクバハタモチや農林糯26号並みか、やや優ると評価される(表10)。1994年は極めて強い干ばつ年であり、スプリンクラー灌水を抑制したところ厳しい干ばつ害が発生し、生育が抑制され種子稔性が低下した。しかし、ゆめのはたもちは出穂や稈長の生育抑制程度がツクバハタモチや農林糯26号より少なく(表11)、高い種子稔性を示し(表12)、高度の耐干性を示した。

供試7か年を通してのゆめのはたもちの収量はツクバハタモチよりやや優る程度であり、玄米の外観品質はツクバハタモチよりやや劣った。しかし、干ばつ年の

も10cm以上深い地層に達していた。ゆめのはたもち は従来の陸稲品種よりも土壌深層に豊富な根系を持ち、地下深層の水分を利用できると考えられる(表14、図5)。以上から、ゆめのはたもちの耐干性は、従来最も強いとされていた基準品種のツクバハタモチや農林糯26号よりも明かに優り、日本の陸稲品種として初めて極強に分類される。

(4) 穂発芽性

ゆめのはたもちは供試年によって穂発芽率に振れはあるが、平均してツクバハタモチよりやや優り、穂発芽性は難に分類される(表15)。

表 10. 耐干性検定試験成績

品種名	試験 年度	出穂遅延 日数	生育抑制率(%)					被害			評価
			稈長	穂長	穂数	全重	精籾重	白ふ	白穂	不稔	
ゆめのはたもち	1990	2	69	87	48	43	10	0.0	0.5	5.0	強
	1991	2	100	97	100	100	41	0.0	2.0	4.0	
	1992	8	54	76	47	31	37	1.5	0.0	4.5	
	1994	5	99	87	180	108	22	0.0	1.0	4.0	
	平均	4.3	81	87	94	71	28	0.4	0.9	4.4	
ツクバハタモチ	1990	2	66	81	82	37	16	0.0	1.0	5.0	強
	1991	8	86	82	100	69	32	0.8	2.5	3.5	
	1992	6	73	92	69	46	44	2.0	0.0	3.5	
	1994	10	97	78	159	66	15	1.5	0.0	4.5	
	平均	6.5	81	83	103	55	27	1.1	0.9	4.1	
農林糯26号	1990	7	59	61	108	43	9	1.0	1.0	4.0	強
	1991	6	71	77	75	53	21	0.4	4.0	1.0	
	1992	11	76	89	66	43	9	2.0	0.0	5.0	
	1994	10	98	94	79	55	35	0.0	0.0	4.0	
	平均	8.5	76	80	82	49	19	0.9	1.3	3.5	
ナツハタモチ	1992	12	64	81	40	30	15	2.0	0.5	4.5	やや強
	1994	7	102	71	144	87	17	1.0	0.0	5.0	
	平均	9.5	83	76	92	59	16	1.5	0.3	4.8	

- 注 1. 検定は耐干性ハウス内の検定床で行ない、畦間30cm, 畦長45cm, 株間5cm, 1本立とした。2区制。
各品種の幼穂形成期から出穂期にかけて干ばつ処理を行った。7株調査。
2. 出穂遅延日数：干ばつ区に穂日数－無干ばつ区に穂日数, 数値が小さいほど耐干性が強いことを示す。
生育抑制率：(干ばつ区／無干ばつ区) × 100, 数値が大きいほど耐干性が強いことを示す。

表 11. 灌水抑制栽培による生育抑制程度

品種名	到穂日数(日)			稈長(cm)			穂長(cm)		
	灌水区	制限区	差	灌水区	制限区	差	灌水区	制限区	差
ゆめのはたもち	110.0	110.7	+0.7	71.9	64.4	-7.5	20.6	19.4	-1.2
ツクバハタモチ	106.0	110.5	+4.5	77.1	64.2	-12.9	21.6	20.9	-0.7
農林糯26号	107.0	113.5	+6.5	82.6	64.7	-17.9	21.5	21.0	-0.5

- 注 1. 1994年(干ばつ年) 農業研究所畑圃場において実施。畦長150cm, 播幅10cm, 畦間60cm。
施肥：基肥(N-P-K:6-12-9kg/10a), 追肥(N:11kg/10a)
2. 灌水区：スプリンクラー灌水5回, 計18.5時間, のべ灌水量約185mm
灌水制限区：スプリンクラー灌水2回, 計11.0時間, のべ灌水量約110mm
3. 成熟期に各区10個体を調査した。6反復。

表 12. 灌水抑制栽培による種子稔性の低下程度

品種名	灌水栽培			灌水抑制栽培		
	反復数	出穂期	種子稔性(%)	反復数	出穂期	種子稔性(%)
ゆめのはたもち	5	8. 8	85 a	19	8. 9	75 a
ツクバハタモチ	5	8. 2	90 a	63	8. 4	44 b
農林糯26号	5	8.10	85 a	13	8.14	43 b

注 1. 栽培法は表11と同じ。

2. 種子稔性は成熟期に達観により調査した。6反復。

3. 有意性検定はDuncanの多重比較検定による。5%水準。

表 13. 全供試年と干ばつ年における収量と玄米品質

品種名	全供試年平均 (1989～1995)			干ばつ年平均 (1992, 1994)		
	収量 (kg/10a)	対標準比 (%)	玄米 品質	収量 (kg/10a)	対標準比 (%)	玄米 品質
ゆめのはたもち	342	111	5.2	164	148	5.2
ツクバハタモチ	309	100	5.0	111	100	5.9
農林糯26号	274	89	5.2	58	52	5.7

表 14. 土壌各深度における根量と太さ

品種名	土壌深度別の根量				土壌深度別の根の太さ		最深根端 深度 (cm)
	地下0-20	20-40	40-60	60-80cm	地下40-60	60-80cm	
ゆめのはたもち	4.85	3.35	2.15	1.25	1.80	1.00	81.0
ツクバハタモチ	4.77	2.90	1.33	0.37	1.10	1.17	69.5
農林糯26号	5.00	3.30	1.70	0.70	1.70	0.70	65.0

注 1. 1994年(干ばつ年), 農業研究所畑圃場において実施。慣行法により畑栽培し, 地上部を収穫後に「ざんごう法」により長さ2m, 幅0.9m, 深さ1mの溝を畦沿いに掘り, 各土壌深度における根量と根の太さおよび最深根端深度を観察した。各区3地点, 2反復で調査した。

2. 根量は5(極多)～0(無), 根の太さは3(太)～0(細)。

3. ハーガン灌水を2回, 計11.0時間行なった。

表 15. 穂発芽性検定試験成績

品種名	発芽率(%)						評価
	1990	1992	1993	1994	1995	平均	
ゆめのはたもち	7	75	16	70	2	34.0	難
ツクバハタモチ	60	87	69	48	14	55.6	難
ナツハタモチ	70	89	87	54	58	71.6	やや難
農林糯26号	70	83	68	30	24	55.0	難
トヨハタモチ	48	84	57	90	12	58.2	難

注. 成熟期に各品種5穂を採取し, 24時間浸漬した後, 過湿状態で30℃に48時間保ち, 発芽率を観察調査した。

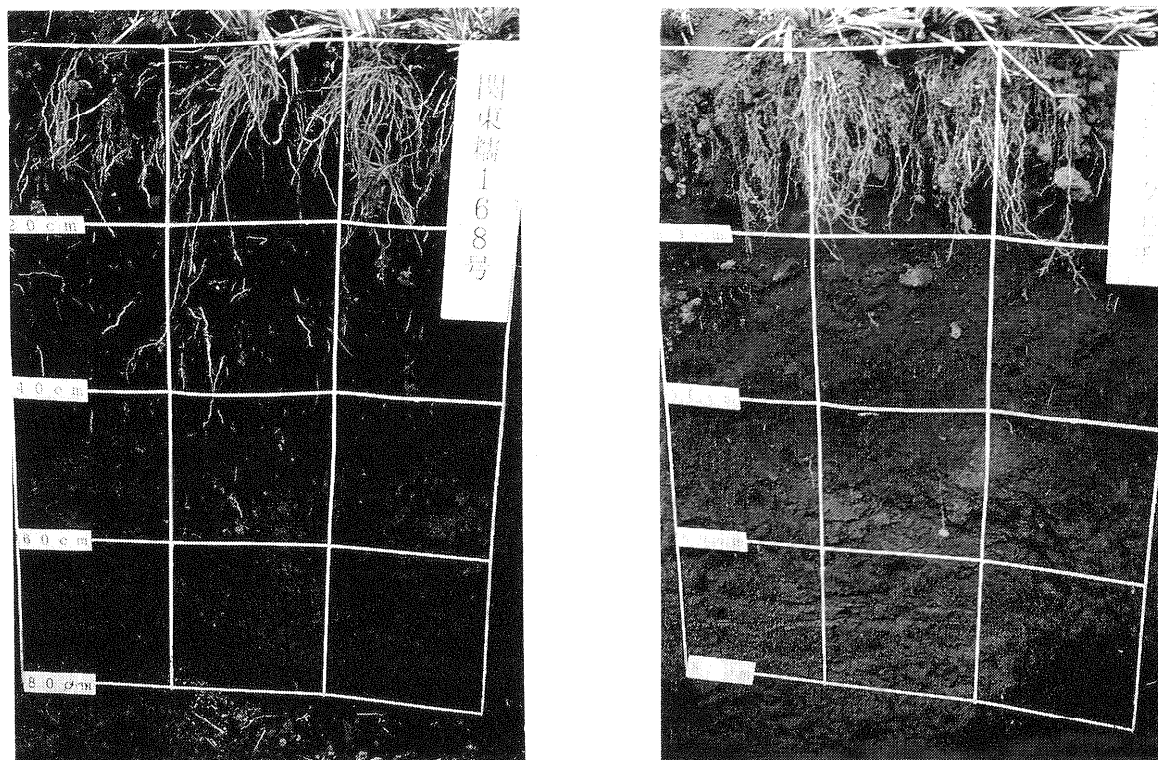


図5. ゆめのはたもち(関東糯168号)の根系

3. 玄米特性および食味

(1) 玄米形状

ゆめのはたもちの玄米はツクバハタモチより粒長，粒幅，粒厚，粒重とも優る大粒である。粒形はツクバハタモチより細長く，農林糯4号並の細長に分類され，これまでの陸稲品種で最も長粒のグループに属する。粒厚はツクバハタモチやナツハタモチより厚い。(表16, 17, 図4)

(2) 搗精特性

ゆめのはたもちの搗精歩留はツクバハタモチとナツハタモチ並であり，搗精時間は両品種より短い(表18)。

(3) 食味

ゆめのはたもちの餅食味は陸稲糯品種の餅食味基準で食味中上とされるツクバハタモチ，農林糯26号よりも

表16. 玄米形状調査成績

品種名	粒長 (mm)	粒幅 (mm)	粒厚 (mm)	長／幅比	千粒重 (g)
ゆめのはたもち	6.41	3.04	2.11	2.11	24.7
J C 8 1	5.97	2.64	1.88	2.26	19.7
農林糯4号	5.99	2.81	1.98	2.14	19.9
ツクバハタモチ	5.77	2.95	2.01	1.96	22.4
農林糯26号	5.94	3.03	2.03	1.96	22.4

注. 1994年と1995年の生産力検定試験と品種保存栽培の材料による。各品種の玄米10粒を藤原製作所製粒形テスターによって測定した。

表17. 玄米の粒厚分布 (重量%)

品種名	～ 2.2mm	2.2～ 2.1	2.1～ 2.0	2.0～ 1.9	1.9～ 1.8	1.8～ 1.7	1.7～ 1.6	1.6～ 1.5	1.5mm 以上
ゆめのはたもち	1.3	10.3	43.2	35.4	4.4	2.2	1.6	1.1	95.1
ツクバハタモチ	0.6	2.5	17.5	48.7	21.2	6.7	1.9	1.1	90.3
ナツハタモチ	0.4	3.8	22.6	46.6	17.0	5.6	2.2	1.8	90.4

注. 1995年の生産力検定本試験の玄米200gを5分間、縦目段ふるいで分離した。

表 18. 搗精試験成績

品種名	搗精歩留(%)	搗精時間(分. 秒)
ゆめのはたもち	80.4	2.54
ツクバハタモチ	80.8	3.18
ナツハタモチ	80.9	3.30

注 1. ケット T P 2 型試験用搗精機使用。玄米 100g 供試。
2. 1990 年～1994 年の生産力検定予備試験，同本試験の
平均値。

格段に優れ，特に総合評価，滑らかさおよび粘りが著しく優れる。そのため，陸稲糯品種の餅食味基準で初めて食味が上上と判定される（表 19）。ゆめひたちを水稻糯品種の基準で食味上のマンゲツモチと比較すると外観，味，滑らかさが劣り，総合評価も有意に劣る。しかし，水稻糯種として食味中のココノエモチとは各項目とも有意な差が認められず，また畑栽培用水稲のミズハタモチよりは明かに優れる。従って，ゆめのはたもちは水稻糯

品種の餅食味中に匹敵すると考えられる（表 20）。また，水稻に混合して餅をついた場合の食味低下程度は，ツクバハタモチはマンゲツモチに 30 % 混合すると餅食味の総合評価が有意に低下するのに対して，ゆめのはたもちは 60 % 混合しても食味に有意に影響することはない（表 21）。従来の陸稲品種は餅食味が不良なことから，米菓の原料用に用途が限定されていたが，ゆめのはたもちは

陸稲では初めて水稻糯品種並みの画期的な餅食味をもち，餅用としての需要が期待できる。

(4) 加工適性

ラピッド・ビスコ・アナライザーによる熱糊化特性はツクバハタモチや水稻糯品種と明確な違いは認められない（表 22）。ゆめのはたもちの餅はツクバハタモチやトヨハタモチより硬くなりかたが遅く（表 23），米菓を試作した結果，米菓原料としての評価は高い（表 24）。

表 19. ゆめのはたもちの餅食味試験成績

項目	農林糯26号基準	ツクバハタモチ基準					1994年	平均
	1991年	1992年		1993年				
		1回目	2回目	1回目	2回目	3回目		
総合評価	1.46	0.92	1.81	1.83	1.55	1.93	1.63	1.61
外 観	0.46	0.38	1.52	1.52	0.91	1.13	1.26	1.12
味	1.04	0.96	1.74	1.26	1.23	1.40	1.26	1.31
滑らかさ	1.54	1.08	1.76	1.91	1.73	1.87	1.79	1.69
歯ごたえ	0.58	0.19	0.95	0.39	0.82	0.67	0.58	0.60
粘 り	1.13	0.85	1.24	1.43	1.45	1.93	1.47	1.40

注 1. 試験方法：つきたての状態で冷凍保存した餅を自然解凍した後、熱湯で戻して試食した。
2. 評価基準：各対象品種を基準とし，-5（極端に劣る）～+5（極端に優れる）の 11 段階評価。

表 20. 水稻品種との餅食味の比較

稲の分類	品種名	項目					
		総合評価	外観	味	滑らかさ	歯ごたえ	粘り
陸 稲	ゆめのはたもち	0.62 b	0.19 bc	0.31 b	0.58 b	0.23a	0.38a
水 稲	マンゲツモチ	1.42a	0.65a	0.92a	1.58a	0.31a	0.73a
水 稲	ココノエモチ	0.88 b	0.38ab	0.27 b	0.81 b	0.31a	0.31ab
畑栽培用水稲	ミズハタモチ	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00a	0.00 b

注 1. ミズハタモチを基準とする -5（極端に劣る）～+5（極端に優れる）の 11 段階評価。
2. 供試材料は 1994 年生産力検定試験生産物。
3. Duncan の多重比較検定。5 % 水準。

表 21. 水稻に陸稲を混合した場合の餅食味の低下程度

混合陸稲品種名	混合比率(%)	水稻マンガツモチの餅に比較した食味の低下程度				
	水稻：陸稲	総合評価	外観	味	粘り	滑らかさ
ゆめのはたもち	70 : 30	-0.43	0.00	-0.21	-0.14	-0.50
	40 : 60	-0.43	-0.29	-0.29	-0.07	-0.36
	0 : 100	-0.79*	-0.07	-0.64	-0.86*	-0.64
ツクバハタモチ	70 : 30	-0.67*	-0.13	-0.27	-0.27	-0.60
	40 : 60	-0.97*	0.00	-0.67*	-0.80*	-0.87**
	0 : 100	-1.07*	-0.20	-0.60	-1.40**	-1.00**

注 1. 水稻マンガツモチに各比率で陸稲を混合し、慣行法により餅にした。

2. 陸稲供試材料は1994年生産力検定試験生産物、マンガツモチは水田栽培による。

3. マンゲツモチを基準とする-5（極端に劣る）～+5（極端に優れる）の11段階評価。

表 22. 精米の熱糊化特性試験成績

年度	栽培法	品種名	糊化開始 温度(℃)	ヒック温度 (℃)	最高 粘度	最低 粘度	アレク タワン	最終 粘度	コンス テンソー
1993	畑栽培	ゆめのはたもち	62.9	77.9	285	130	156	190	61
		ツクバハタモチ	62.9	77.2	281	136	145	194	58
1994	水田 栽培	ゆめのはたもち	64.7	79.3	289	110	179	193	83
		ツクバハタモチ	67.2	81.4	280	118	162	194	76
		マンガツモチ(水)	67.2	82.4	268	113	155	186	73
		ココノエモチ(水)	65.0	80.3	274	125	150	207	83

注. ラピッド・ビスコ・アナライザーによる。搗精歩留り88%の精白米を佐竹社製オートクレーンで粉碎した精米粉を供試した。硫酸銅400ppm添加，40℃で1分間保持した後に5.5分間で95℃に昇温，95℃で2.5分間保持，5.5分間で40℃に降温，そのまま2分間保持した。

表 23. 餅硬化性試験成績

品種名	餅の硬度 (kg)				硬化性
	作成直後	2時間後	4時間後	24時間後	24時間後－作成直後
ゆめのはたもち	0.16 a	1.05 a	1.21 a	2.14 a	1.98
ツクバハタモチ	0.32 c	1.42 c	1.51 b	2.72 c	2.40
キヨハタモチ	0.27 b	1.27 b	1.60 b	2.55 b	2.28
トヨハタモチ	0.20 ab	1.14 a	1.39 ab	2.50 b	2.30

注 1. 餅の硬度は果実硬度計5kg用（藤原製作所製）により測定した。

2. 供試材料は1994年生産力検定試験生産物。

3. Duncanの多重比較検定。5%水準。

陸稲新品種「ゆめのはたもち」の育成について

表 24. ゆめのはたもちの米菓原料としての評価（日乃本米菓, 1994 年度）

米菓種類	評 価
焼き物 (あられ等)	1. ゆめのはたもち単品で作った「あられ」は他の陸稲品種に比べて甘味がある。 2. 単品で焼いても、他の陸稲品種より「うき（焼いた時の膨らみ具合）」が良い。 3. 焼き上げた後にしんが残っているが、乾燥法の改良によって解決できる。
揚げ物 (サク菓子等)	1. ゆめのはたもちで作った製品は他の陸稲品種で作ったものに比べて柔らかく、 油の吸収が良い。

V. 適 応 地 域

系統適応性検定試験（表25）および配布先における奨励品種決定調査（表26）の結果から、ゆめのはたもちは関東以西の陸稲栽培地帯に適し、地力中庸な畑から肥沃な畑まで比較的広い栽培適性がある。

VI. 命 名 の 由 来

陸稲育種の長年の大きな目標であった高度耐干性と極良食味の両方を一度に実現した夢のような品種であるので、ゆめのはたもちと命名された。

表 25. 系統適応性検定試験成績（1991 年）

試験地 県名	栽培 場所 様式	系統名 または 品種名	出 穂 期 (月日)	成 熟 期 (月日)	倒 伏 多 少	稈 長 (cm)	穂 長 (cm)	穂 数 (本/m ²)	玄 米 重 (kg/10a)	対 標準 比率 (%)	玄米 千粒重 (g)	玄 米 品 質	概 評
栃 木	本 場 標 準	石系373号	8. 9	9.23	0.8	89	20.2	341	339	104	22.6	4.0	○
		トヨハタモチ	7.28	9. 6	0.3	77	18.1	274	306	94	20.6	3.0	
		ワラベハタモチ	8. 1	9.12	4.0	93	20.9	262	329	101	20.4	9.0	
		農林糯26号	8.16	9.26	2.0	99	25.4	209	325	100	22.6	5.0	
千 葉	本 場 早 期	石系373号	8.19	9. 2	0.0	55	19.0	235	223	97	20.3	5.0	△×
		トヨハタモチ	7.28	9. 2	0.0	62	19.2	224	230	100	21.0	5.0	
		キヨハタモチ	8. 3	9. 4	0.0	62	20.7	242	200	87	17.1	6.0	
熊 本	高 原 標 準	石系373号	8.25	10.14	0.5	62	17.5	266	150	99	23.1	4.0	△
		農林糯26号	8.30	10.18	0.5	73	22.0	225	152	100	22.7	4.5	
		ミサトハタモチ	8.28	10.18	0.5	67	18.6	267	116	76	22.1	4.0	

表 26. 配布先における奨励品種決定調査成績概要

県 名	場 所	栽培 条件	各試験年次				標準品種
			1992年	1993年	1994年	1995年	
福 島	本 場	標準			99 △		トヨハタモチ
	矢 吹	標準	79 △	192 △	115 △	104 △	
	船 引	標準	0 △	67 △	97 ×		
茨 城	本 場	標準	87 △	88 △	81 △○	134 奨	ツクバハタモチ
		多肥	87		104 ○	130	
	那 珂	標肥	109	88	114	147	
		多肥	106				
	結 城	標肥	112	90	141		
		多肥	81				
		少肥				119	
	谷和原	標肥	106				
		多肥	102				
栃 木	本 場	標準	121 ○	79 △	116 ○	110 ◎	農林糯26号
群 馬	本 場	標準	108 △	117 △○	125 ◎	156 ◎	ナツハタモチ
埼 玉	本 場	標準	105 △	107 ×			ハツサクモチ
千 葉	本 場	標準	57 △	89 △○	111 △	77 ×	トヨハタモチ
神奈川	本 場	標準				225 ×	農林糯26号
新 潟	高冷地	標準	51 ×				ナエバハタモチ
熊 本	高 原	標肥	182 △	82 △	114 ○	99 ○	農林糯26号
		多肥	128	68 △	92 △	96 ○	
	高 森	標肥	104	126 △	405 △	116	
鹿児島	大 隅	標準	90 ×		103 ×		ハタフサモチ

注 1. 数字は標準品種に対する玄米重比率(%)。

2. 奨および記号は有望度を示し、奨：奨励品種採用，◎：有望，○：やや有望，△：継続，
×：打ち切りを表す。

VII. 育成従事者

1979年の交配から1995年の新品種登録までの育成従事者は図6のとおりである。

VIII. 栽培上の注意

ゆめのはたもちは初期の生育量がやや劣るので、特に地力の低い畑では基肥と一回目の追肥を多めに施用する。

耐干性は陸稲品種としては従来にない極強であるが、干害を受けやすい熟期の中生品種であるため、強い干ばつ時には灌水が必要となる。

年次	1979	'80	'81	'82	'83	'84	'85	'86	'87	'88	'89	'90	'91	'92	'93	'94	'95	備 考
氏名	交配	B ₁ F ₁	B ₂ F ₁	B ₂ F ₁	B ₂ F ₂	B ₂ F ₃	B ₂ F ₄	B ₂ F ₅	B ₂ F ₆	B ₂ F ₇	B ₂ F ₈	B ₂ F ₉	B ₂ F ₁₀	B ₂ F ₁₁	B ₂ F ₁₂	B ₂ F ₁₃	B ₂ F ₁₄	
根本 博														○	—	○		現在員
平山正賢								○	—	—	—	—	—	○	○	—	○	現在員
岡本和之															○	—	○	現在員
宮本 勝																○	—	現在員
桐原俊明									○	—	—	—	—	—	—	—	○	現茨城農総セ 生工研
横田国夫													○	—	○			現茨城農総セ 生工研
金 忠男					○	—	—	—	—	—	○							現国際農研
平沢秀雄				○	—	—	○			○	—	—	—	—	—	—	○	現農研センター
奥津喜章	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	○	現茨城農総セ 農研
須賀立夫	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	○							現茨城農総セ 生工研
古賀義昭	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	現国際協力事業団
石原正敏	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	現茨城農総セ 専門技術員

図6. 育成従事者

1996年7月31日現在

謝 辞

本品種の育成、系統適応性検定試験、奨励品種決定調査および特性検定試験の実施にあたり、関係各県農業試験場の担当者各位ならびに現地試験担当農家のご協力を頂いた。奨励品種採用および品種登録に当たっては、茨城県農林水産部農業技術課、農産課および園芸流通課の関係各位のご尽力を頂いた。育成試験の遂行に当たっては歴代の農業試験場長・同育種部長および生物工学研究

所長・農業研究所長(1992年以降)のご支援を頂いた。また、圃場管理や調査等では岩倉昭、高柿つる江、栗田みさ子、小坪勢津、須能健一、小島勇一、川島孝子、小坪秀の各氏をはじめ農業試験場管理部および農業研究所庶務部(1992年以降)職員の労を多とした。以上の方々に対し、心から感謝の意を表する次第である。

Yumenohatamochi, a New Upland Rice Variety in Japan

Hiroshi Nemoto, Masakata Hirayama, Kazuyuki Okamoto,
Masaru Miyamoto and Ritsuo Suga

Key words: Upland rice, Variety, Drought tolerance, Eating quality, Deep rooting,
Yumenohatamochi

Summary

The new glutinous upland rice variety Yumenohatamochi, Rikuto Norinmochi 60, was developed from Plant Biotechnology Institute, Ibaraki Agricultural Center in 1996.

This variety was adopted as recommended variety into Ibaraki in 1996, and Tochigi and Gunma in 1997, which prefectures hold about 60% of total Japanese upland rice area. This new variety derived from the cross Norinmochi 4 // Norinmochi 4 / Jaypole collection No.81 (abbr. JC81) // Norinmochi 4. The traditional Indian variety JC81 was choose as parent, because of its deep root system. Norinmochi 4 is a Japanese upland rice variety with high resistance to blast. Yumenohatamochi is a medium maturing variety with medium culm length. This variety inherited abundant rooting in deeper soil layer from parent JC81. Root tip of Yumenohatamochi reached to 85 cm depth of soil layer which was about 20 cm deeper than those of other varieties. Therefore, Yumenohatamochi showed outstanding yields in drought years 1992 and 1994. The drought resistance of this variety is the highest of the already released upland rice varieties in Japan. In general, glutinous rice is used to make rice cake. However, eating quality of rice cake from upland rice was inferior to those of lowland rice varieties. Materials of rice cake was completely occupied by lowland rice varieties. According to eating quality in our institute, however, rice cake made from Yumenohatamochi showed high stickiness, smoothness and softness which were almost similar to rice cake of lowland rice varieties. Eating quality of Yumenohatamochi is evaluated to be the best in Japanese upland rice varieties. The release of this variety is expected to stabilize upland rice cultivation in Japan.

培養変異を利用したイチゴ新品種「アンテール」の育成

江面 浩・雨ヶ谷洋・霞 正一・石塚由之

この品種は‘女峰’の葯培養により得られたカルスから再分化した27個体の中から選抜した変異系統より育成された促成栽培用の品種である。原品種の‘女峰’に比べて花芽分化期、開花開始期が早いこと、収穫開始期が早いこと、休眠が浅いことが大きな特徴である。そのため‘女峰’に比べて初期収量が多くなる。しかし、収穫期の後半で小果となるため2月までの総収量で比較するとやや少なくなる。また、乱形果の形状が双頭状であること、果心の色が白いことも‘女峰’との区別点であるが、その他の特徴は共通である。これらの特性は1989年から1991年までの特性調査期間を通して安定して発揮された。以上の結果、この品種は1992年3月25日に‘アンテール’と命名され品種出願され、1994年12月26日に品種登録（登録番号第4176号）とされた。

キーワード：イチゴ，アンテール，培養変異，葯培養，促成栽培

I 緒 言

本品種の開発に着手した昭和62年当時、全国的に早生品種が待望されていた。茨城県内でも‘宝交早生’，‘麗光’，‘女峰’など多くの早生品種が試作・栽培され、それらの中から‘女峰’が有望品種として栽培面積を増加する傾向にあった。そこでこれらの品種を基に‘更なる早生品種’を育成することを目標に育種を開始した。

育種法としては、培養変異を利用することとした。従来の日本のイチゴ育種は、品種間交雑法で行われている。イチゴの品種は栄養繁殖で増殖されるため遺伝的には固定系統ではない。このような品種間の交配を行った場合、雑種世代の遺伝的変異の幅が大きくなり、望むべく系統を得るには多くの雑種実生を選抜集団として展開する必要がある。一方、培養変異を利用する方法は、培養した原系統の特徴を残し一部の形質変異を生じた再生個体を得られるものと期待され、‘ワンポイント改良’に適していると考えられる。従って、優良品種の特性を残しつつ早生化するという今回の育種目標に適した育種法と考

えられた。

イチゴは葯（大澤ら，1974），未熟胚（玉置・松本，1988），葉柄（Jonesら，1988），葉片（Nehraら，1990；荒井・浅尾，1993）からの植物体再生は可能であるが、本研究を開始した当時安定した植物体再生が可能であった葯を外殖片とした再生方法を用いた。培養する原品種としては‘女峰’を選定した。大澤ら（1974）の報告では‘宝交早生’を実験材料としていたのに対して、‘女峰’を実験材料として葯からの植物体再生実験を行ったところ（江面，1990），高い効率で植物体再生が可能であった。ただし、イチゴの場合、葯培養により再生する個体は体細胞由来の八倍体である。更に、再生個体の中にも多くの変異が確認された（Oosawa & Takayanagi, 1982；江面・雨ヶ谷，1990）。

ここでは茨城県の主要品種の一つである‘女峰’の葯由来カルスから再分化した個体の中から早生の変異系統を選抜したので、その育成経過と特性について報告する。なお、本系統は“葯=anther（仏語：アンテール）”由来のカルスより再生した植物体から育成されたことにちなんで“アンテール”と命名された。

II 材料及び方法

1) カルス由来の再生植物体の作出

本研究では、前報(江面・雨ヶ谷, 1990)で‘女峰’の葯より誘導したカルスから再生した27個体を各1系統として選抜試験を行った。

2) 早生変異系統の選抜

前報(江面・雨ヶ谷, 1990)の結果, 供試した27系統の中から原品種の‘女峰’よりも早生性を示した4系統を選抜した(1988年)。これらの系統をAN-7, AN-13, AN-17及びAN-22と命名し, 1989年から1991年にかけて早生性を中心に特性検定を行った。各系統とも仮植育苗を行い, 茨城県野菜耕種基準に従って栽培した。供試株数は以下の通りであった。対照品種として‘女峰’を同様に栽培した。

(供試株数)

栽培年度	女峰	AN-7	AN-13	AN-17	AN-22
1989年	30	30	30	30	30
1990年	23	45	43	41	—
1991年	75	75	75	—	—

(定植日等)

栽培年度	採苗月日	定植月日	保温開始月日
1989年	7月24日	9月27日	10月31日
1990年	7月26日	9月27日	10月31日
1991年	7月25日	9月24日	10月14日

栽培場所は, 1989年旧園芸試験場(茨城県稲敷郡阿見町阿見4669-2), 1990年及び1991年は新園芸試験場(茨城県東茨城郡美野里町手提27-1)で行った。調査項目は, 花芽分化時期(実体顕微鏡による観察: 1991年のみ実施), 開花開始日, 収穫開始日, 総収量(収穫開始日から2月まで), 初期収量(収穫開始から12月まで: 1991年のみ), Brix糖度(1989年, 1990年)とした。

3) 生産力検定

早生性に関する特性検定の結果有望と認められた1系統(AN-13)について, その生産性を組織培養を行った原品種である‘女峰’と早生の対照品種である‘はる

のか’と比較した。各系統とも30株を供試し, 茨城県野菜耕種基準に従って栽培した。育苗方法は, 仮植育苗とした。1992年7月27日に採苗し, 9月28日に定植し, 10月28日に保温を開始した。続いて, 開花開始日, 収穫開始日, 収量, Brix糖度を調査した。収量調査は, 1週間に3回行い, 12月~2月に果実サイズ別に収穫数量の調査を行った。果実サイズは, 大: >15g, 中: >10g, 小>5g, くず≤5gと分類した。Brix糖度は, 1週間に一回, 月曜日に3果実について調査した。栽培は, 1992年から1993年にかけて生物工学研究所(茨城県西茨城郡岩間町安居3165-1)で行った。

III 結果及び考察

1) 早生変異系統の選抜

予備選抜を行った早生4系統の1989年から1991年までの開花開始日, 収穫開始日, それぞれの‘女峰’に対する促進日数, 収穫開始から翌年2月までの収量をTable 1に示した。

1989年は, 選抜系統の開花開始日と収穫開始日は‘女峰’に対して全て早くなったが, その程度は系統AN-22で小さかった。また, 収量も系統AN-22が‘女峰’の収量に対して70%と特に低い値を示した。以上の結果から系統AN-7, AN-13及びAN-17を選抜し, 次年度の早生性の特性検定に供試することとした。1990年は, 系統AN-7とAN-13の開花開始日と収穫開始日は‘女峰’に対して早くなり, 前年に続いて早生性を示した。一方, 系統AN-17は早生性が認められなかった。また, 収量は各系統とも‘女峰’に対してやや低い値を示した。以上の結果から系統AN-7とAN-13を選抜し, 次年度の早生性の特性検定に供試することとした。1991年は, 系統AN-7とAN-13の開花開始日と収穫開始日は‘女峰’に対して早くなり, 前年に続いて早生性を示した。また, 収量は各系統とも‘女峰’に対してやや低い値を示した。以上の結果から系統AN-7とAN-13の早生性に関する諸特性は3年間とも安定して発現し, カルス培養によって再生した植物体に出現した早生変異形質は安定した特性であると考えられた。

Table 1. Comparison of the flowering and harvesting date of strawberry lines derived from callus cultures and the original cultivar 'Nyohou'.

Year	Lines	Flowering date	Earliness against Nyohou	Harvesting date	Earliness against Nyohou	Yield ¹⁾ (g/plant)
1989	Nyohou	24/Nov	—	10/Jan	—	151
	AN-7	14/Nov	10 days	29/Dec	12 days	154
	AN-13	15/Nov	9 days	31/Dec	10 days	147
	AN-17	15/Nov	9 days	31/Dec	10 days	141
	AN-22	20/Nov	4 days	7/Jan	3 days	107
1990	Nyohou	18/Nov	—	30/Dec	—	226
	AN-7	7/Nov	11 days	14/Dec	16 days	203
	AN-13	9/Nov	9 days	16/Dec	14 days	206
	AN-17	19/Nov	-1 day	1/Jan	-2 days	194
1991	Nyohou	15/Nov	—	27/Dec	—	—
	AN-7	11/Nov	4 days	20/Dec	7 days	—
	AN-13	11/Nov	4 days	19/Dec	8 days	—

1) Fruits were harvested from December to February.

系統 AN-7 と AN-13 の収穫開始から 12 月までの初期収量を「女峰」と比較した (Table 2)。AN-7 の初期収量は「女峰」に対して 126 % から 254 %, AN-13 の初期収量は 147 % から 211 % と高い値を示した。これら 2 系統の早生性が初期収量の増加に寄与しているものと考えられた。近年のイチゴの収穫時期による価格の推移を見ると収穫の後期に至っても安定しているが、依然として収穫初期に高単価である傾向は変わっていない。従って、初期収量が多いことは重要な早生品種の特性であり、変異系統の早生性は有効な形質であると考えられた。

以上の選抜の結果、系統 AN-13 及び AN-7 の早生性や初期収量性は安定した特性と考えられたが、系統 AN-13 の早生性がより安定していると考えられたので、

最終的に系統 AN-13 を選抜し、以降の栽培比較に供試した。

2) 選抜系統と早生品種の比較

1992 年から 1993 年にかけて行った系統 AN-13 と「女峰」及び「はるのか」との栽培結果を Table 3 に示した。系統 AN-13 の開花開始日と収穫開始日は、「はるのか」と同様であった。収量は、「はるのか」と「女峰」の中間の値を示した。収穫果実数は 3 系統の中で最大の値を示し、平均果実重量は「はるのか」と同様の値を示した。糖度は、3 系統とも同様の値を示した。サイズ別の収穫果実の割合を比較すると「女峰」に対して小果となっている傾向が見られたが (Table 4), 外観 (Fig. 1) や食味などの品質特性は「女峰」と同様であった。収量は「はるのか」と同様に収穫初期 (12 月) が

Table 2. Early yield (up to end of December) of strawberry lines, AN-7 and AN-13, derived from callus cultures to the original cultivar 'Nyohou'.

Year	AN-7		AN-13	
	g/plant	% of 'Nyohou'	g/plant	% of 'Nyohou'
1989	21.4	251	16.6	195
1990	48.4	254	40.2	211
1991	29.4	126	34.4	147

Table 3. Characteristics of strawberry line derived from callus cultures and original cultivars, 'Nyohou' and 'Harunoka'.

Lines	Flowering date	Harvesting date	Yield ¹⁾ (g/plant)	No. of fruits/plant	Ave. fruit weight (g)	Brix value (%)
AN-13	23/Nov	1/Jan	166.1	20.1	8.3	11.6
Nyohou	28/Nov	9/Jan	198.6	18.1	10.8	11.8
Harunoka	23/Nov	30/Dec	138.3	15.6	8.9	12.2

1) Fruits were harvested from December to February.

Table 4. Size distribution of the fruit harvested from strawberry line derived from callus cultures and original cultivars, 'Nyohou' and 'Harunoka'.

Lines	Frequencies (%) of fruit size			
	Large*	Middle*	Small*	Others*
AN-13	21.3	37.5	29.8	11.4
Nyohou	33.2	41.8	21.4	3.6
Harunoka	18.1	36.4	38.9	6.6

*Large: >15g, Midle: >10g, Small: >5g, Others: ≤5g

多い傾向が見られた (Table 5)。以上の結果, 系統 AN-13 は早生品種として利用される 'はるのか' と同様の早生性を示し, また果実の品質特性は原品種である '女峰' の特性をほぼ備えており, 早生系統として有望と考えられた。そこで, 'アンテール' と命名し, 1994 年 12 月 26 日に種苗登録された。

3) 育成系統の諸特性

'アンテール' の前述した早生性以外の特性は以下の通りであった。即ち, 草性は立性, 草丈はやや高, 草勢はやや強である。葉色は濃緑, 小葉の大きさは大, 葉柄のアントシアンの有無は無, ランナー数はやや多である。花柄長はかなり長, 花柄の大きさは太, 切断の難易は中,

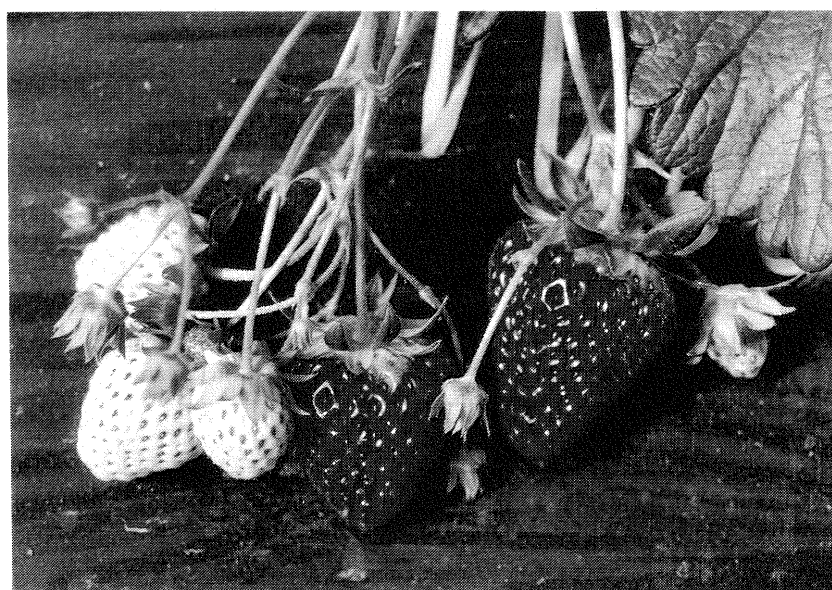


Fig. 1 New variety of strawberry 'Anther' derived from somaclonal variants of callus cultures.

Table 5. Yield succession of strawberry line derived from callus cultures and original cultivars, 'Nyohou' and 'Harunoka'.

		AN-13		Nyohou		Harunoka	
		Yield (g/plant)	No. of fruit (/plant)	Yield (g/plant)	No. of fruit (/plant)	Yield (g/plant)	No. of fruit (/plant)
December	Early						
	Middle	1.0	0.07				
	Late	9.6	0.56	0.5	0.03	12.7	1.06
January	Early	10.8	0.96	7.3	0.33	11.7	1.00
	Middle	18.1	2.23	16.8	1.13	28.5	2.86
	Late	33.2	3.87	43.0	3.43	30.3	3.23
February	Early	45.9	6.10	67.0	6.30	30.3	3.93
	Middle	29.3	4.27	38.6	4.27	15.8	2.60
	Late	18.2	2.03	25.3	2.93	6.8	0.90
Total		166.1	20.09	198.5	18.45	136.1	15.58

花の大きさは中、花弁数は（第1花）は5～8枚、花弁数（第2花以降）は5～6枚、花弁の離脱の難易は中、葯の大きさは中である。果実の大きさはやや小、果形は円錐、乱形果の形は双頭状、第1番果と第2番果の果形の差は中、無種子帯は少、果実の溝はかなり少、果皮の色は鮮赤、へた下の着色の難易はやや易、果実の光沢は良、そう果の落ち込みは中、そう果のアントシアン着色は中、がく片の着き方は離である。果実の硬さは硬、果肉色は鮮紅、果心の色は白、果実の空洞は小、可溶性固形物含量は高、酸度はやや高、果実の香りは中である。

4) 育成品種の普及と問題点

‘アンテール’は、品種出願と同時に現地農家での栽培試験を開始したが、現在までのところ普及には至っていない。原因としては、初期収量は多いものの、栽培後期に成り疲れが見られるために総収量で比較すると‘女峰’に対してやや少ないことなどが考えられる。また、近年になって長期収穫を行う農家が増加しており、成り疲れは大きな欠点となることも考えられる。更に、栽培農家が、‘女峰’に代わる品種を求めており、外観的に明確に異なる品種が必要であったことが考えられる。これは、‘女峰’の自然突然変異株から育成された‘鬼怒甘’が栽培面積を広げていないこともこの事実を裏付けている。

5) 今後の活用

早生性はイチゴの重要な育種形質である。イチゴでは、早晩性に関する遺伝解析が行われているが、それぞれの形質に関与する遺伝子数の推定や優劣に関しては明確な結果が得られていない（森下・本多，1989）。これはイチゴが八倍体であること、現在使用されている品種が栄養繁殖で増殖されるために遺伝的に異質性が高いことなどが考えられる。しかし、早生は晩生に対して優性的に作用しているようである。実際、‘アンテール’を晩生品種と交配した場合、得られた雑種実生の集団には早生の個体が多数得られている（江面，未発表）。従って、‘アンテール’は、早生品種育成の育種親として有望と考えられる。現在、‘アンテール’を素材とした早生品種の育成を行っているところである。

謝 辞

本研究で行ったイチゴの栽培管理は小島和明氏の協力によるところが大きかった。ここに記して感謝の意を表したい。

引用文献

荒井滋・浅尾浩史（1993）イチゴ葉組織からのカルス誘導と植物体再生。奈良農試研報 24：19-24.

江面浩 (1990) イチゴ薬培養効率の向上. 茨城園試研報
15 : 27-30.

江面浩・雨ヶ谷洋 (1990) イチゴの薬カルス由来再分化
植物体の変異. 茨城園試研報 15 : 31-38.

Jones, O.P., B.J. Waller and M.G. Beech (1988)
The production of strawberry plants from callus
cultures. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 12 : 235-
241.

Nehar, N.S., C. Stushnoff and K.K. Kartha (1990)
Regeneration of plants from immature leaf-derived
callus of strawberry (*Fragaria x ananassa*). Plant
Sci. 66 : 119-126.

森下昌三・本多藤雄 (1989) イチゴの促成作型における
収量及び品質関連形質の遺伝. 野菜試研報 D 2 : 119-
126.

大澤勝次・戸田幹彦・西貞夫 (1974) 薬培養の利用に関
する研究 II イチゴ薬培養によるウイルスフリー株
の大量増殖. 野菜試報 A 1 : 41-57.

Oosawa, K. and K. Takayanagi (1982) High yielding
variants in strawberry derived from anther culture
Proc. 5th Intl. Cong. Plant Tissue & Cell Culture.
765-766.

玉置学・松本英紀 (1988) イチゴの未熟胚培養による再
分化個体の作出. 愛媛農試研報 28 : 71-76.

A New Strawberry Variety 'Anteher' Derived from Somaclonal Variants of Callus Culture

Hiroshi Ezura, Hiroshi Amagai, Masakazu Kasumi and Yoshiyuki Ishizuka

*Plant Biotechnology Institute, Ibaraki Agricultural Center,
Iwama, Nishi-ibaraki, 319-0292, Japan.*

Summary

A new strawberry variety 'Anteher' was released in 1994. This variety was selected among the 27 plants regenerated from callus tissue which was induced from the anthers of variety 'Nyohou'. Differentiation of flower buds, flowering and harvesting are earlier than those of 'Nyohou'. The dormancy is shallow compared to 'Nyohou'. Although the yield of 'Anteher' is slightly lower than that of 'Nyohou', early yield is higher than that of 'Nyohou'. This variety sets biheaded-irregular fruits at the first fruit. The fruit core is white compared to 'Nyohou'. Other characteristics are almost the same with 'Nyohou'. This variety is suitable for forcing cultivations in the area of Ibaraki Prefecture located in the central part of Honshu Island in Japan.

Corresponds to : H. Ezura, Plant Biotechnology Institute, Ibaraki Agricultural Center, Iwama, Nishi-ibaraki, 319-0292, Japan. Tel : +81 299 45 8330, Fax : +81 299 45 8351, e-mail : ezura@nocs.tsukuba-noc.affrc.go.jp

グラジオラス無菌植物の葉からの不定胚 および不定芽形成による植物体再生

霞 正一・高津 康正・友常 秀彦・佐久間文雄

グラジオラス無菌植物の葉からのカルス、不定胚形成においては外植体として葉の基部組織が、また培地としてMS培地に5 mg/ℓ NAA添加区が最もすぐれていた。一方、これまで報告のなかった葉片からの不定芽形成が、MS培地に5 mg/ℓ ナフトレン酢酸 (NAA), 1 mg/ℓ ベンジルアミノプリン (BAP) 添加区で認められた。形成された不定胚の生育は、MS培地に植物成長調節物質無添加、または0.1 mg/ℓ BAP添加区が良好であった。また、初期培地で不定胚を形成しなかったカルスからの不定胚形成も、MS培地に植物成長調節物質無添加、または0.1 mg/ℓ BAP添加区が良好であった。さらに、カルス形成はいずれの品種でも容易であったが、一方不定胚形成には品種間差異がみられ‘トパーズ’、‘トラベラー’では高い傾向にあったのに対し、‘ハーマジェスティ’ではまったく形成されなかった。

以上のように、グラジオラス無菌植物の葉片からの不定胚、不定芽形成に関する培養条件が明らかとなり、植物体再生系が確立できた。

キーワード : gladiolus, グラジオラス, 不定胚, 不定芽, ナフトレン酢酸 (NAA),
ベンジルアミノプリン (BAP)

I 緒 言

茨城県の平成7年におけるグラジオラス球根生産の栽培面積は63 ha、切花生産の栽培面積は38 haでそれぞれ全国の第1, 2位を占めている(茨城県 1997)。しかし、近年球根の輸入自由化による球根価格の低下や切花消費の停滞に伴って、生産が減少傾向にある。これを打開するために、新品種の育成が強く望まれている。著者らはこのような産業的背景から培養を用いたグラジオラスの新品種開発に取り組んでいる。

これまでにグラジオラスの花茎、木子切片、木子茎頂などを外植体として直接またはカルス経由の茎葉再分化系が数多く報告されている(Bajajら 1983, Hussey 1975, Kamoら 1990, 霞ら 1998, 1999, Kimら 1988, Kim・Kang 1992, 大城ら 1974, Remotti・Löfller 1995, Stefaniak 1994, 田中 1977, Tomotsuneら

1994, Zivら 1970)。これらの外植体を用いた結果は茎葉再分化効率が低かったり、または培養操作が煩雑であると考えられる。これに対し、無菌植物を一定期間ごとに継代すれば、葉片は一年中利用できる可能性があり、茎葉再分化率が高ければ、有効な外植体となろう。葉片を用いての培養は、Stefaniak (1994) の無菌植物の葉の基部組織からの不定胚形成の報告があるが、葉片からの不定芽形成の報告はない。

そこで、著者らはグラジオラス無菌植物の葉片からの不定胚形成に及ぼす葉部位の違いおよび不定芽による植物体再生について検討したので報告する。

II 材料および方法

実験1. 無菌植物の葉の基部組織からのカルス、不定胚および不定芽形成に及ぼす植物成長調節物質の影響
供試材料には茨城県農業総合センター生物工学研究所

果樹花き育種研究室保存の‘トパーズ’（花色：黄色）の木子を用いた。滅菌は、外皮を剥いた木子を70%エタノールに1分間浸漬後、Tween20 (0.1%)を添加した次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素0.5%）に20分間浸漬し、さらに滅菌水で5分間ずつ3回洗浄した。

培地はMurashige-Skoog (MS) 培地 (Murashige・Skoog 1962) を基本とし、3%ショ糖、1%寒天を添加し、pH 5.8 に調製した。24 mm×90 mmの試験管に5 ml ずつ分注し、アルミ箔でキャップ後、121℃、1.2 kg/cm²、20分間オートクレーブし、斜面培地とした。

木子が無菌的にMS培地に植付けて、培養した。1～2ヶ月後、5～8 cmに伸長した無菌植物の葉の基部組織を長さ1 cm程度の大きさに切り出し（図1）、5 mg/ℓのナフタレン酢酸（NAA）と1 mg/ℓの6-ベンジルアミノプリン（BAP）とを組合せたMS培地に1試験管に1個あて合計30～42個の組織片を置床した。培養条件は25℃、暗黒とし、60日後にカルス形成数、不定胚形成数および不定芽形成数を調査した。

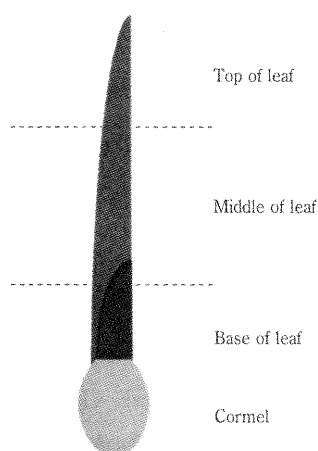


Fig. 1. A schematic presentation of leaf explants of *in vitro* grown gladiolus used

実験2. 無菌植物の葉からのカルスおよび不定胚形成に及ぼす葉の部位の影響

実験1と同様に木子を培養し、得られた‘トパーズ’の無菌植物の葉を先端部、中央部、基部の3つに分けて（図1）、それぞれの葉片を長さ1 cm程度の大きさに切り、5 mg/ℓ NAAを添加したMS培地に1試験管に1個あて、

合計30個置床した。培養条件は実験1と同様とし、60日後にカルス形成数および不定胚形成数を調査した。

実験3. 不定胚と不定芽の成育に及ぼすBAPの影響

実験2で得られた不定胚を形成したカルスをそのままBAPの濃度を変えたMS培地に50～71個置床した。培養条件は25℃、白色蛍光灯（ネオライン白色 FL40S・W、東芝ライテック社製）3,000 lx、16時間/日の照明とし、60日後に不定胚の生育したカルス数を調査した。また、不定胚と同様に不定芽を形成したカルス10数個をそのまま植物成長調節物質を含まないMS培地に継代し、その後成育を観察した。

実験4. カルスからの不定胚形成に及ぼすBAPの影響

実験2で得られた初期培地で不定胚を形成しなかったカルスをBAPの濃度を変えたMS培地に1試験管に1個あて合計20～22個置床した。培養条件は実験3と同様とし、60日後に不定胚を形成したカルス数を調査した。

実験5. 無菌植物の葉の基部組織からのカルスおよび不定胚形成の品種間差異

主要品種のうち花色の異なる‘トパーズ’（花色：黄色）、‘トラベラー’（同：桃色）、‘ハーマジェスティ’（同：淡紫色）の3つの無菌植物の葉の基部組織を、実験2で不定胚形成に最適と認められた5 mg/ℓ NAAを添加したMS培地に1試験管に1個あて合計20～22個置床した。培養条件、調査方法は実験1と同様とした。

III 結果および考察

実験1. 無菌植物の葉の基部組織からのカルス、不定胚および不定芽形成に及ぼす植物成長調節物質の影響

NAA無添加区ではカルスはまったく形成されなかった。また5 mg/ℓ NAA添加区では、カルス形成率が100.0%、茎葉再分化率が16.7%であった。観察の結果、カルスの表面に茎葉と根の両極性があり、カルスの維管束と直接結びついていないと考えられる棒状の構造体が認められた。これらは前報（霞ら 1999）の木子茎頂から誘導された不定胚とさきわめて類似した形態であったの

で、不定胚と判断した(表1, 図2-A)。一方, 5 mg/ℓ NAAと1 mg/ℓ BAPとを添加した区では, カルス形成率が73.3%, 茎葉再分化カルス率が10.0%であった。観察の結果, カルスの表面に茎葉だけの構造体が認められた。これらは不定胚とは明らかに異なる構造体で, 前報(霞ら 1998)の子房および花被カルス由来の不定芽と類似した形態であったので不定芽と判断した。また

この区では不定芽の他に一部不定胚も認められた(図2-B)。

Stefaniak (1994) の報告では, エンブリオジェニックカルスを形成した培地の植物成長調節物質およびその濃度は, 2 mg/ℓ 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) 添加区と10mg/ℓ NAA添加区だけであった。本研究の結果, 無菌植物の葉の基部組織を長さ1 cm程度の大

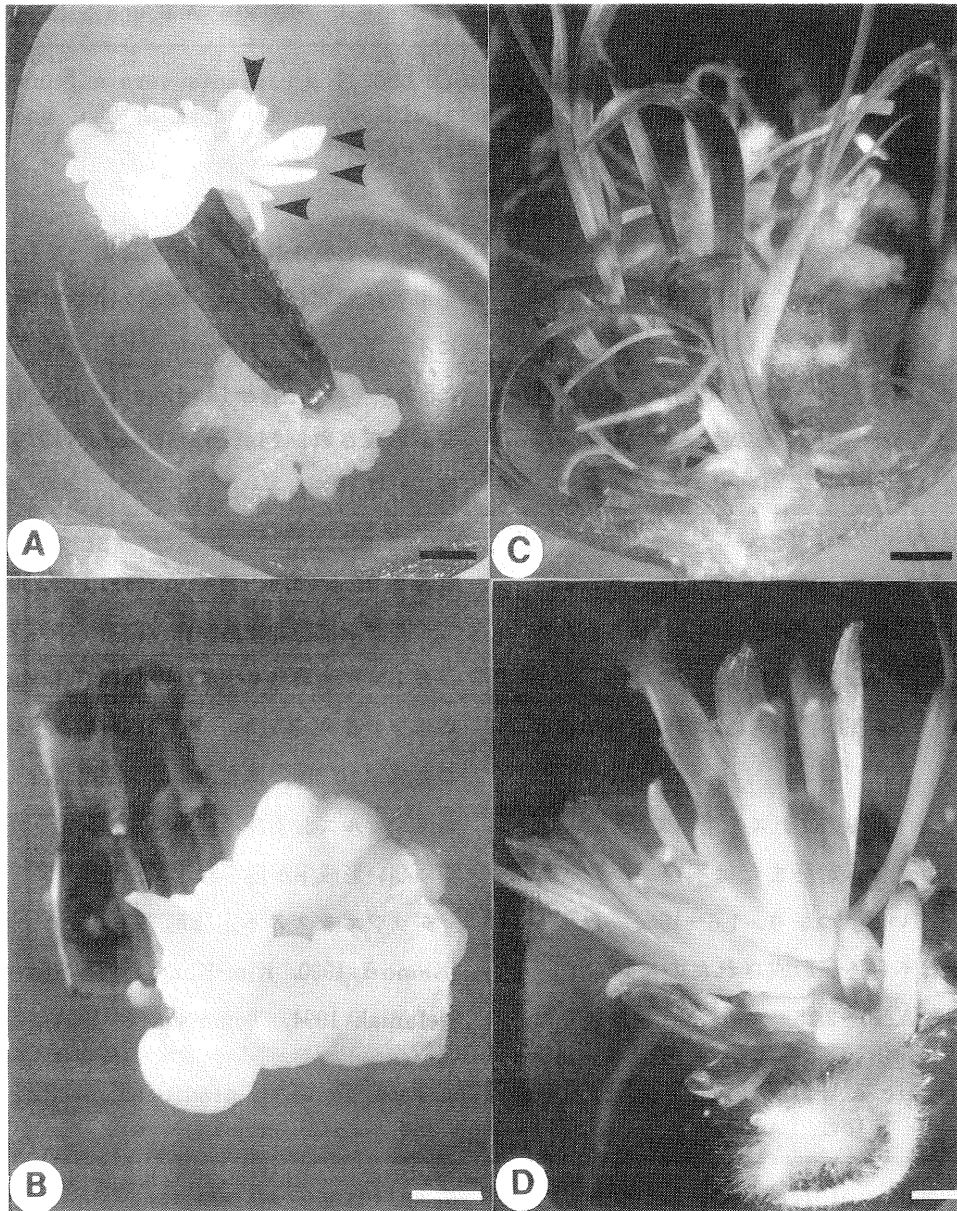


Fig. 2. Somatic embryogenesis, organogenesis and plant regeneration from the basal part of leaf explant in *in vitro* grown gladiolus (cv. Topaz). Bar is 2mm.

A: calli and somatic embryos (arrows).

B: calli and adventitious buds (arrow).

C: plants regeneration from somatic embryos.

D: plants regeneration from adventitious buds.

Table 1. Effects of plant growth regulators on callus formation and shoot regeneration from the basal parts of leaf explants in *in vitro* grown gladiolus (cv. Topaz).

NAA (mg/l)	BAP	No. of explants	% of callus formation	% of shoot regeneration	Type ¹⁾ of morphogenesis
0	0	42	0	0	
0	1	39	0	0	
5	0	30	100	16.7	S. E.
5	1	30	73.3	10.0	A. B. and S. E.

¹⁾ S. E. : somatic embryo, A. B. : adventitious bud. The explants were cultured on MS medium containing plant growth regulators in the dark at 25°C and both values were evaluated 60 days after culturing.

きさで培養した場合、不定胚形成は5 mg/ℓ NAA添加区および5 mg/ℓ NAAと1 mg/ℓ BAP添加区の両方に認められた。Stefaniak (1994) が報告した無菌植物の葉片からの不定胚培養系と、本研究で開発した不定胚培養系では、品種、培養条件などが異なるので直接比較することはできないが、NAAを単独で用いた結果は、Stefaniak (1994) の報告とほぼ一致した。

一方、Stefaniak (1994) の報告では葉片からの不定胚形成だけで、不定芽形成は認められていない。これに対し、本研究において5 mg/ℓ NAAと1 mg/ℓ BAP添加区ではじめて葉の基部組織からの不定芽形成が認められた。

Matuoka・Hinata (1979) はナスを用いてNAA, BAPの組合せと濃度により不定胚または不定芽が形成されることを報告している。つまり、1.6~16mg/ℓ NAAの単独添加区では不定胚が形成されたのに対して、0~0.016mg/ℓ NAAと0~2.25mg/ℓ BAP添加区では

不定芽が形成された。本研究においても高濃度のNAAを単独に添加した5.0mg/ℓ NAA添加区でより効率的に不定胚が形成されたのに対し、NAAとBAPの共存した5.0mg/ℓ NAAと1.0mg/ℓ BAP添加区だけで不定芽が形成され、Matuoka・Hinata (1979) の報告と類似した結果であった。

実験2. 無菌植物の葉からのカルスおよび不定胚形成に及ぼす葉の部位の影響

カルス形成率は先端部が10.0%、中央部が53.3%、基部が100.0%となり、不定胚形成率は先端部が0%、中央部が10.0%、基部が16.7%となった。以上の結果から、カルスおよび不定胚形成ともに葉の基部を用いた時に高い形成率が得られた(表2)。

グラジオラスの不定胚形成はいくつかの報告がある(Kamoら 1990, Kim・Kang 1992, Remottiら 1995, Stefaniak 1994, Tomotsuneら 1994)。しかし、外植

Table 2. Effects of leaf parts excised from *in vitro* gladiolus plants (cv. Topaz) on callus formation and somatic embryogenesis

parts of leaf	No. of explants	% of callus formation	% of somatic embryogenesis
Top	30	10.0	0.0
Middle	30	53.3	10.0
Base	30	100.0	16.7

The explants were cultured on MS medium containing 5mg/l NAA in the dark at 25°C. The values were evaluated 60 days after culturing.

体に無菌植物の葉片を用いたのはStefaniak (1994) だけであった。この中で、無菌植物の葉の基部組織からの不定胚形成が報告されている。しかし本研究では、葉の基部組織だけではなく、さらに10.0%と低率ではあったが葉中央部葉片からも不定胚形成が認められた。

実験3. 不定胚と不定芽の成育に及ぼすBAPの影響

カルス上に形成された不定胚が茎葉伸長し、発根し植物体を形成した割合は、BAP無添加区では85.9%であったのに対し、0.1mg/ℓ BAP添加区では86.0%、1.0mg/ℓ BAP添加区では33.3%となり、BAP無添加区または0.1mg/ℓ BAP添加区が高かった。また観察の結果、0.1mg/ℓ BAP添加区は奇形葉が認められず、発根も良好で最も順調な成育を示し、植物体を再生した(表3、図2-C)。この結果から、不定胚から植物体への成育は比較的容易であると考えられる。

一方、不定芽は植物成長調節物質無添加のMS培地への継代により茎葉が伸長し、その後発根して植物体を再生した(図2-D)。

Table 3. Effects of BAP concentration on the growth of shoots and roots from somatic embryos on the callus induced at the basal part of leaf explants of *in vitro* grown gladiolus (cv. Topaz).

BAP (mg/l)	No. of explants	% of germinated somatic embryos
0	71	85.9
0.1	50	86.0
1.0	54	33.3

The somatic embryos were cultured on MS medium containing BAP in the 16h/day light at 25°C. The values were evaluated 60 days after culturing.

実験4. カルスからの不定胚形成に及ぼすBAPの影響

継代したカルスからの不定胚形成率はBAP無添加区では60.0%であったのに対し、0.1mg/ℓ BAP添加区では81.8%、1.0mg/ℓ BAP添加区では75.0%となり、0.1mg/ℓ BAP添加区が最も高かった(表4)。

Table 4. Effects of BAP concentration on somatic embryogenesis on the callus induced at the basal part of leaf explants of *in vitro* grown gladiolus (cv. Topaz).

BAP (mg/l)	No. of explants	% of somatic embryogenesis
0	20	60.0
0.1	22	81.8
1.0	20	75.0

The calli were cultured on MS medium containing BAP in the 16h/day light at 25°C. The values were evaluated 60 days after culturing.

以上の結果から、葉片置床後60日の時点で不定胚が形成されていないカルスにおいても、0.1mg/ℓ BAPを添加したMS培地へ継代培養することによって効率的に不定胚が形成されることが明らかとなった。

実験5. 無菌植物の葉の基部組織からのカルスおよび不定胚形成の品種間差異

供試3品種はいずれもカルス形成率が52.2%以上で高い傾向にあった。また、不定胚形成カルス率は‘トパーズ’、

‘トラベラー’がそれぞれ25.0、43.5%であったが、‘ハーマジスティ’は0.0%であった(表5)。このように、カルス形成には品種間差異が少ないものの、不定胚形成には品種間差異が大きかった。

Stefaniak (1994) は我国では栽培されていない4品種を用いて不定胚形成を検討した結果、品種間差異のあることを認めている。本研究では、供試品種に我国の主要品種で花色の異なる‘トパーズ’(花色:黄色)、『トラベラー’(同:桃色)、『ハーマジスティ’(同:淡紫色)を用いた。これらの3品種においても、Stefaniak (1994) と同様に品種間差異のあることを示す結果を得た。これらのことから、この特性はグラジオラスに広く分布していると考えられる。

以上の結果から、グラジオラス無菌植物の葉片からの

不定胚と不定芽形成に関する培養条件が明らかとなり、再生系が確立された。今後この培養系を用いて、グラジオラスの培養変異や形質転換による新品種開発および大量増殖などに応用する予定である。

Table 5. Varietal differences on the callus formation and somatic embryogenesis ability from the basal parts of leaf explant of *in vitro* grown gladiolus.

Cultivar	No. of explants	% of callus formation	% of somatic embryogenesis
Topaz	20	80.0	25.0
Traveler	23	52.2	43.5
Her-Majesty	23	56.5	0

引用文献

Bajaj, Y. P. S. , M. M. S. Sidhu and A. P. S. Gill 1983

Some factors affecting the *in vitro* propagation of gladiolus. Sci. Hort. 18: 269-275.

Hussey, G. 1975. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. J. Experimental Bot. 26: 253-262.

茨城県. 1997. 茨城の園芸. 159-160.

Kamo K. , J. Chen and R. Lawson. 1990. The establishment of cell suspension cultures of Gladiolus that regenerate plants. In vitro Cell Dev. Biol. 26: 425-430.

霞 正一・高津康正・友常秀彦・佐久間文雄. 1998. グラジオラス花蕾子房からのカルス形成と植物体再生. 園学雑. 67 : 印刷中.

霞 正一・高津康正・友常秀彦・佐久間文雄. 1999. グラジオラス木子茎頂からの不定胚形成と花色変異. 園学雑. 68 : 印刷中.

Kim, K. W. , J. B. Choi and K. Y. Kwon. 1988. Rapid multiplication of Gladiolus plants through callus culture. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 29: 312-318. (In Korean).

Kim, K. W. and M. S. Kang 1992. Somatic embryogenesis and plant regeneration from gladiolus callus in vitro. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 33: 87-94. (In Korean).

Matsuoka, H and k, Hinata. 1979. NAA-induced organogenesis and embryogenesis in hypocotyl

callus of *Solanum melongena* L. J. Exp. Bot., 30: 363-370.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. Organic growth factor requiring of bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.

大城 閑・奥本裕昭・塚本洋太郎. 1974. グラジオラス花茎の無菌培養による器官分化. 園学要旨. (昭49春) 364-365.

Remotti, P. C. and H. J. M. Löffler. 1995. Callus induction and plant regeneration from gladiolus. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 42: 171-178.

Stefaniak, B. 1994. Somatic embryogenesis and plant regeneration of Gladiolus (Gladiolus hort.). Plant Cell Rep. 13: 386-389.

田中政信. 1977. グラジオラスのウイルスフリー化ならびに花梗培養による増殖. 園学要旨. (昭52秋) 380-381.

Tomotsune, H. , M. Kasumi and Y. Takatsu. 1994. Propagation of gladiolus by somatic embryogenesis. Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 44: 239-244.

Ziv, M. , A. H. Halevy and R. Shilo. 1970. Organs and plantlets regeneration of gladiolus through tissue culture. Ann. Bot. 34: 671-676.

Somatic Embryogenesis, Organogenesis and Plant
Regeneration from Leaf of in vitro grown gladiolus

Masakazu Kasumi, Yasumasa Takatsu, Hidehiko
Tomotsune and Fumio Sakuma

Summary

The highest frequency of callus formation and somatic embryogenesis were obtained on MS medium supplemented with 5mg/ℓ NAA from the basal parts of leaf in in vitro grown gladiolus. Adventitious shoots were regenerated on MS medium containing 5mg/ℓ NAA and 1mg/ℓ BAP using same explants of in vitro grown Gladiolus. Development of somatic embryos in subcultured callus were observed on MS medium without plant growth regulator or MS medium containing 0.1mg/ℓ BAP at the highest rate. Somatic embryos or adventitious shoots induced were easily grown to plantlets on the MS medium with or without 0.1mg/ℓ BAP. Although varietal differences in callus formation ability were not observed, a significant differences were observed in somatic embryogenesis; that in cv.Topaz and Traveler had high and that in cv. Her-Majesty had no ability. In conclusion, we showed the culture condition of somatic embryogenesis and organogenesis using the the leaf explant.

Key Words : gladiolus, somatic embryogenesis, organogenesis, naphthaleneacetic acid
(NAA), 6-benzylaminopurine (BAP)

茨城県内のグラジオラスに発生したウイルス病に関する研究

高津 康正・富田 恭範¹⁾・津田 新 哉

茨城県内のグラジオラスに発生するウイルス病の種類を調査した。県内9か所の栽培ほ場からウイルス症状を呈している株を採集し、65株についてELISA法によりbean yellow mosaic virus (BYMV) およびcucumber mosaic virus (CMV) の感染調査を行った。さらに病徴の異なる葉から分離された病原ウイルスを同定し、病徴との関係について調査した。その結果、BYMVの感染が全体の86.1%、CMVの感染が67.7%の株で認められた。両ウイルスの混合感染率は58.5%であった。また分離された病原ウイルスはBYMV普通系あるいはCMV普通系と同定されるとともに、病原ウイルスの種類によって病徴に違いが認められることが明らかになった。さらに生産現場において問題となる「花バイラス」症状については、両ウイルスの混合感染によって引き起こされる可能性が示唆された。

キーワード：グラジオラス, *Gladiolus × grandiflora*, ウイルス, BYMV, CMV

I 緒 言

グラジオラス (*Gladiolus × grandiflora*) は、茨城県における花き生産の主要な品目であり、特に球根生産では54% (1997) と全国一位のシェアを占めている。しかし近年ウイルス病の発生により生産力・商品性の低下が甚だしく農業生産上、見過せない問題となっている。

国内のグラジオラスに発生するウイルスとしては、福本らが1982年に、CMV, BYMV, tobacco ringspot virus (TRSV), tobacco mosaic virus (TMV) の4種、さらに1987年にはcycas necrotic stunt virus (CNSV) を報告している。さらに福本ら (1982) は4種のウイルスのうちBYMVが重要な病原ウイルスであり、激しい病徴をあらわし広く分布しているとしている。一方、県内の生産ほ場において葉身のモザイク、退緑条斑、花卉の斑入り等のさまざまなウイルス症状が観察されるが、病原ウイルスとの関係については不明である。そこで茨城県のグラジオラス栽培ほ場において、グラジオラスの主要ウイルスであるBYMVとCMVの感染率および異なる病徴をあらわす病原ウイルスの分離・同定

ならびにその病徴との関係について調査した。

II 材料及び方法

1993年5月に県内9か所の栽培ほ場 (土浦市今泉, 同・小山崎, 阿見町小池, 美野里町小曾納, 同・手堤, 岩間町安居, 新治村大志戸, 霞ヶ浦町深谷, 旭村子生) からウイルス症状を呈しているグラジオラス計70株を採集した。

1. ELISA 検定による BYMV および CMV の感染率調査

採集した罹病株70株のうち65株を供試し、日本植物防疫協会製のBYMV-N, CMV-0用ELISAキットを用いて常法により検定を行った。ELISAの結果は、基質溶液を添加してから1時間後にマイクロプレートリーダー (MTP-32) を用いて判定した。

2. 病原ウイルスの同定及び病徴との関係

(1) 供試ウイルスの分離

採集した罹病株70株のうちから、異なる病徴を示す18株を選び、検定植物である *Chenopodium quinoa* および *C. amaranticolor* を用いて単一病斑分離を3回以

上繰り返し、病原ウイルスを分離した。さらにナス科、マメ科の数種植物を用いて定法により汁液接種を行い、特徴的な反応を示す分離株3株を選抜した。

(2) 生物検定

選抜したウイルス分離株3株を *Nicotiana clelandii* または *N.benthamiana* で大量増殖し、8科32種の検定植物に0.2% Na_2SO_3 を含む0.1Mリン酸緩衝液(PB)、およびカーボランダムを用いて汁液接種した。接種した植物は23～28℃に設定したガラス温室内で育成し各検定植物への感染およびその病徴を比較した。

(3) 電顕観察

選抜した分離株を接種した *N.glutinosa* または *Vicia faba* ‘早生そらまめ’の感染葉を、2.5%グルタルアルデヒド溶液で固定し、2%リンタングステン酸溶液(pH7.0)でDirect Negative (DN) 染色法により処理し、透過型電子顕微鏡(JM1210)で観察を行った。

(4) ウイルスの精製

選抜した分離株のうち、ひも状ウイルスは上田らの方法(上田ら1975)で、球状ウイルスは常法(佐藤ら1983)によりそれぞれ精製した。

(5) 血清試験

各分離株の血清学的同定のため、CMV-Y抗血清(農研センター藤澤一郎博士より分譲)、BYMV-O抗血清(鯉淵学園土崎常男博士より分譲)および各分離株の精製標品約50 μg を用いて寒天ゲル二重拡散法による検定を行った。ひも状ウイルスについては0.7%アガロースに0.1%SDSを添加して、粒子を崩壊させた後に検定を行った。反応は4℃で12時間行い、沈降帯の形成の有無を観察した。

(6) 戻し接種

選抜したウイルス分離株3株の同定および分離株とグラジオラスの病徴との関

係を明らかにするために、茎頂培養により得たウイルスフリーグラジオラス木子(品種‘トラベラー’および‘富士の雪’)を供試して戻し接種を行った。接種は、選抜した3株(No.3, 14, 70)を接種源として、それぞれ5個の木子から伸長した第一葉期の若葉に対しての単独および混合接種(No.3+No.70, No.14+No.70)とした。接種した植物体は温室内で数か月育成したが、接種当代では病徴が確認できなかった。そのため当代で形成された球根を回収して5℃で60日間貯蔵して休眠打破し、定植後の次世代において葉および花卉の病徴を観察した。

III 結 果

1. ELISA 検定によるBYMVおよびCMVの感染率調査

生産ほ場から採集した65株をELISA検定した結果、86.1%がBYMVに感染していることが判明し、BYMVによる汚染は県内の主要産地に広がっていることが明らかになった。CMVは67.7%の株で検出され、BYMVに比べ感染率はやや低かった。またBYMVとCMVの混合感染は全体の58.5%であった(表1)。一方、症状を呈しながらも両ウイルスが検出されない株もみられた。

Table 1 Multiple infection (BYMV and CMV) detected by ELISA test in gladiolus

field	No. of cultivar	No. of samples	ELISA test		
			No. of BYMV positive ¹⁾	No. of CMV positive	No. of BYMV+CMV positive
Niihari	3	11	9	5	4
Tsuchiura 1	2	6	5	1	1
Tsuchiura 2	2	4	4	2	2
Minori	3	6	4	3	2
Iwama	25	38	34	33	29
total		65	56 (86.1) ²⁾	44 (67.7)	38 (58.5)

¹⁾ positive: OD405/OD630 $\geq$ 0.20

²⁾ percentage

2. 病原ウイルスの同定および病徴との関係

(1) 2種のウイルスの分離

生産は場から採集した罹病グラジオラスから、数種検定植物において異なる病徴を示す3種の分離株No. 3, No.14, No.70を選抜した。No. 3は葉身の濃淡モザイク, No.14は激甚な退緑条斑, またNo.70は葉身に明瞭なモザイク症状を呈するグラジオラスからそれぞれ分離された。これらの分離株のうちNo. 3およびNo.14については、以下に述べるように同種のウイルスであること

が示唆された。

(2) 生物検定結果

分離株No. 3およびNo.14については8科20種の検定植物に接種し、その宿主範囲ならびに病徴を観察した(表2)。両分離株は、ナス科・ウリ科植物に全身感染し、CMVとほぼ同様の宿主範囲を持つことが明らかとなった。ところで、No. 3は*N. glutinosa*の接種葉においてえそ輪斑点、上葉でモザイク症状を生じたが、No.14では上葉の輪斑点症状のみであった。同様にNo. 3はトマ

Table 2 Host range of three virus isolates (No. 3, 14 and 70) in test plants

host plants		No. 3		No. 14		No. 70	
		IL ¹⁾	UL	IL	UL	IL	UL
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>	NS ²⁾	—	NS	—	NS	—
	<i>C. amaranticolor</i>					NS	—
	<i>Spinacia oleracea</i>			—	M	—	M
	<i>Beta vulgaris</i>	CS	M?	CS	—	—	—
<i>Solanaceae</i>	<i>Nicotiana glutinosa</i>	NRS	M	—	CS	—	—
	<i>N. clevelandii</i>	NRS	M	—	M	—	—
	<i>N. rustica</i>	NRS	M	—	M	—	—
	<i>N. tabacum</i> 'Samson'	NRS	M, CS	CS	M	—	—
	<i>N. benthamiana</i>					—	M
	<i>Lycopersicon esculentum</i> 'fukuju'	CS	M	—	M		
	<i>Petunia hybrida</i>	NRS	M	CS	M		
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Capsicum annuum</i>	—	M	—	—	—	—
	<i>Cucumis sativus</i> 'akimidori'	—	CS	—	CS	—	—
	<i>Citrullus lanatus</i> 'shimabeni'	NS	M	—	—		
	<i>Cucurbita maxima</i> 'ebisu'	NS	—	—	CS		
<i>Leguminosae</i>	<i>Vicia faba</i> 'wasesoramame'	NS	—	NS	—	—	M
	<i>Vigna sinensis</i> 'jyurokusasage'	NS	—	NS	—	—	—
	<i>V. sinensis</i> 'kurodanesanjaku'					—	—
	<i>Phaseolus vulgaris</i> 'top crop'					CS	M
	<i>P. vulgaris</i> 'masterpieze'					—	M
	<i>P. vulgaris</i> 'honkintoki'					—	M
	<i>P. vulgaris</i> 'dentergreen'	—	—	—	—	—	M
	<i>Pisum sativum</i> 'sanjunichi-kinu'					—	M
	<i>P. sativum</i> 'oosaya'					—	M
	<i>Glycine max</i> 'norin NO. 4'					—	—
	<i>Crotalaria sessiliflora</i>					—	M
	<i>Trifolium ladigense</i>					—	M
	<i>Astragalus sinicus</i>					—	M
<i>Aizoaceae</i>	<i>Tetragonia expansa</i>	NS	—	CS	—		
<i>Pedaliaceae</i>	<i>Sesumum indicum</i> 'kurogoma'	NS	—	NS	—	—	M
<i>Compositae</i>	<i>Zinnia elegans</i>	—	M	—	M		
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Gomphrena globosa</i>	—	M	—	M		

¹⁾ IL: inoculated leaf, UL: upper leaf

²⁾ NS: necrotic spot, NRS: necrotic ring spot, CS: chlorotic spot, M: mosaic, —: no symptoms

トおよびカボチャの接種葉に輪斑点を生じたが、No.14では接種葉に症状が認められなかった。また系統については両分離株とも、百日草 (*Zinnia elegans*) に全身感染すること、タバコの上葉を黄白化しなかったこと、さらにササゲ (*Vigna sinensis*)、インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*) に全身感染しなかったことから、CMV 普通系 (加納ら 1985) であると判断された。

次に、No.70 については 5 科 23 種の植物を供試して汁液接種を行った (表 2)。その結果、*N.glutinosa* およびウリ科植物には感染せず、ササゲを除くマメ科植物に全身感染し、これは BYMV の宿主範囲とよく一致した。

(3) 電顕観察

分離株 No. 3 および No.14 を接種した *N.glutinosa* の感染葉を DN 法により電顕観察したところ、直径約 30 nm の球状粒子が観察された (図 1)。また、No.70 を接種した *Vicia faba* の感染葉では長さ約 750 nm、幅約 13 nm のひも状粒子が認められた (図 2)。

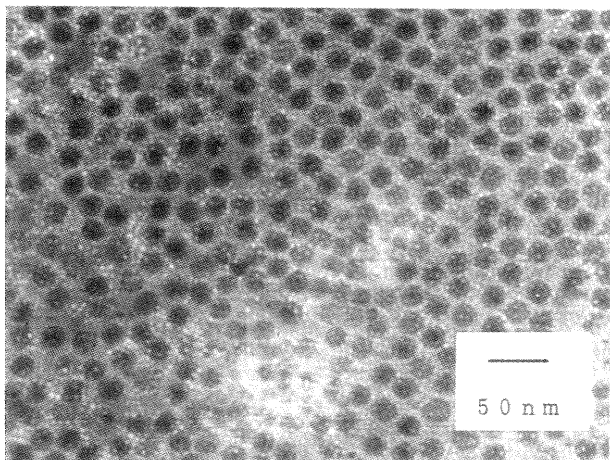


Figure 1 Spherical particles (30 nm in a diameter) were observed in crude sap of *Nicotiana glutinosa* leaves inoculated with virus strain No. 3 or No. 14.

(4) 精製ウイルス吸光特性

球状の粒子形態を示す分離株 No. 3 を分画遠心法により精製し、0.1 M PB に溶解して紫外線吸光度を測定した。その結果、261 nm 及び 242 nm でそれぞれ最大・最小の値を示し、 $A_{\max}/A_{\min}$ および A_{260}/A_{280} の値はそれぞれ 1.36 および 1.47 であった。No.14 も No. 3 とほ

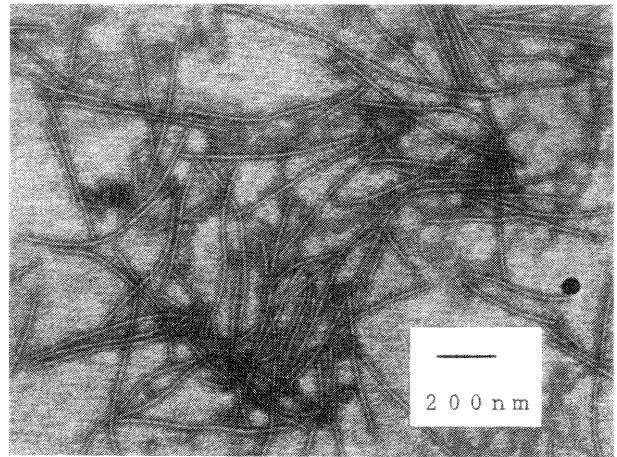


Figure 2 Elongated particles (750 nm in a length and 13 nm in a width) were observed in crude sap of *Vicia faba* leaves inoculated with virus strain No. 70.

ぼ同様の吸光度を示し、 $A_{\max}/A_{\min}$ および A_{260}/A_{280} の値はそれぞれ 1.61 および 1.65 であった。一方、ひも状の粒子形態を示す No.70 では、260 nm および 245 nm で最大・最小の吸光度を示し、 $A_{\max}/A_{\min}$ および A_{260}/A_{280} の値はそれぞれ 1.13 および 1.58 であった。

(5) 血清試験

先の精製ウイルスと CMV-Y 抗血清または BYMV-0 抗血清を用いて寒天ゲル二重拡散法により判定した。その結果、No. 3 および No.14 は CMV-Y 抗血清と明瞭な融合沈降帯を形成した (図 3)。このこと

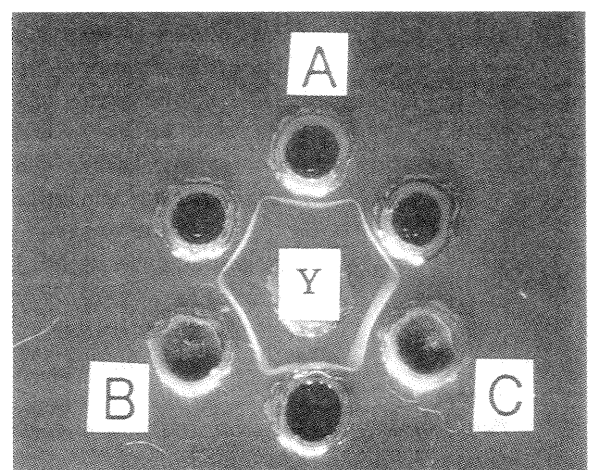


Figure 3 Antiserum against CMV-Y formed precipitin line with No. 3 and No. 14 strains. Y: antiserum against CMV-Y, A: No. 3, B: No. 14, C: CMV-Y type isolate

からNo. 3, 14は血清型Yを示すCMVであることが示唆された。No.70はBYMV-0抗血清との反応は認められなかった。

(6) グラジオラスへの戻し接種

得られたウイルス分離株とグラジオラスの病徴との関係を明らかにするためウイルスフリーグラジオラスに戻し接種を行った。その結果、単独接種では葉身の症状としてNo.3では淡いモザイクを、No.14では奇形を伴う退緑斑を、No.70では明瞭なモザイクをそれぞれ呈した。花卉においては、No.14でのみ斑入り症状を呈した(図4)。またNo.3+No.70の混合接種では、葉身のごく淡いモザイクおよび花卉の斑入り症状を呈した。

IV 考 察

茨城県のグラジオラスに発生する主要ウイルスの分布状況を調べた結果、CMVおよびBYMVが検出された。これらは国内のグラジオラスに発生するウイルスとして福本ら(1982)によって既に報告されており、その中ではCMVの検出率は低く、BYMVが主たる病原ウイルスであろうとされている。本調査の結果から、これら2種のウイルスが本県においても被害をおよぼしていることが再確認された。また、CMVに比べBYMVが広く蔓延していることも明らかとなり、従来の報告(福本ら1982)にはば一致する結果となった。さらにCMVは、検定植物の反応が異なる2種のタイプ(No.3, 14)に分けられたものの、生物検定の結果からいずれも普通系と判断された。血清試験の結果から両者とも血清型Yを示すCMVと推察されるが、別の血清型として報告のあるCMV-P(フキ系)との反応については今後の検討課題としたい。

一方、分離株No.70は血清試験でBYMV抗血清と明瞭な反応を示さなかった。原因については標品の精製の不備・供試量の不足または抗血清の力価の低下等の技術的な理由であると考えられる。しかしながら、その宿主範囲および形態はBYMVの特徴(井上1968, 土崎ら1981, 兼重ら1991)とよく一致した。系統については、インゲンマメの各品種に局部病斑を現さない等、従来の報告と若干異なる反応も見られたが、ゴマに全身感染す

ること、およびソラマメ・インゲンマメに全身えそ症状を現さないことから、BYMV普通系と判断された。

グラジオラスの生産ほ場においては葉身のモザイク、退緑条斑、花卉の斑入り等のさまざまな症状が観察された。福本ら(1982)は、実生グラジオラスを用いた戻し接種の結果から、CMVは低率ながら葉に輪紋およびモザイクを呈し、BYMVは葉のモザイクおよび退緑条斑、また花卉に斑入りを呈するとしている。本実験においても、CMVは葉身に退緑斑及び淡いモザイクを、BYMVは明瞭なモザイクを呈し、異なる病徴が再現された。これらのことから、病原ウイルスによって引き起こされる病徴に違いが認められることが示された。

また、分離されたウイルスを人工的に混合感染させたところ、No.3+No.70, No.14+No.70は共に葉身に淡いモザイクを呈した。さらにNo.3+No.70の混合感染では花卉にも斑入りが認められた。

ところで、現場において最も対策に苦慮するのが「花バイラス」と称されるウイルス症状である。これは生育期間中、葉身には病徴がごく淡く現れるのみであるのに対し、開花すると花卉に明瞭な斑入りが認められる。葉身の病徴が目立たないために抜き取り等の対策が徹底されず、商品性の低下を招いている。福本ら(1982)はBYMVが花卉の斑入りを起こすことを確認しているが、本実験におけるBYMV(No.70)の単独接種では花卉における症状は確認されなかった。一方、No.3+No.70の混合感染では、葉身にはごく淡いモザイクを呈したのみであったにもかかわらず花卉の斑入りが観察された。本実験の結果および、ほ場調査でも58.5%の個体がCMVとBYMVに混合感染していることが明らかになっていることを考え合わせると、「花バイラス」はある種のタイプのCMVとBYMVの両ウイルスの混合感染により引き起こされる可能性もあると考えられる。

本実験で戻し接種した当代では病徴が観察されず、休眠打破後に病徴が明瞭になったことから、次世代用の木子を選抜する際にも注意が必要であると思われる。さらに、各品種における病原ウイルスに対する感受性の差異についても今後調査を要する。

謝 辞

本研究を行うにあたり、農水省農業研究センター藤澤一郎博士にはCMV-Y抗血清を、また鯉淵学園土崎常男博士および山口大学農学部亀谷満郎博士にはBYMV-0抗血清を分譲頂いた。また、農水省農業研究センター本田要八郎、御子柴義郎両博士には、各種マメ科植物の入手にあたりご尽力頂いた。さらに北陸農業試験場福本文良博士には本文のご校閲を頂いた。ここに深く御礼申し上げます。

引用文献

- 井上忠男 (1968) : 本邦のマメ科植物に発生するPVY群ウイルスの寄生性の比較ならびに判別植物によるウイルスの検索法. 農学研究 52:11-29.
- 福本文良・伊藤善文・栃原比呂志 (1982) : グラジオラスから分離された4種のウイルス. 日植病報 48: 68-71.
- ・花田薫・楠木学・伊藤善文・亀谷満朗 (1987) : グラジオラスから分離されたソテツえそ萎縮ウイルス. 日植病報 53: 64.
- 兼重寛・前田憲・井上成信 (1991) : クロッカスから分離されたbean yellow mosaic virus (BYMV) の諸性質並びにBYMV 3系統の血清学的類縁関係. 農学研究 62: 225-240.
- 加納健・山下修一・土居養二・與良清 (1985) : ジャガイモから分離されたキュウリモザイクウイルスの性状について. 日植病報 51: 602-605.
- 佐藤昭二・後藤正夫・土居養二編 (1983) : 植物病理学実験法, 講談社, 東京. 153-154.
- 高橋実・大石親男・井上有正・反町徳 (1965) : グラジオラスのBYMVおよびCMVの同定. 日植病報 30: 301.
- 土崎常男・後藤忠則・藤沢一郎・吉田幸二 (1981) : 北海道のマメ科植物, 野菜に発生するウイルス病について. 北海道農試研報 131: 71-93.
- 上田一郎・小島誠・村山大記 (1975) : インゲンマメ黄斑モザイクウイルスの精製と血清反応. 日植病報 41: 192-203.
- 與良清・斎藤康夫・土居養二・井上忠男・都丸敬一編 (1983) : 植物ウイルス事典, 朝倉書店, 東京.

グラジオラス無菌植物の葉からの不定胚 および不定芽形成による植物体再生

霞 正一・高津康正・友常秀彦・佐久間文雄

グラジオラス無菌植物の葉からのカルス、不定胚形成においては外植体として葉の基部組織が、また培地としてMS培地に5 mg/ℓ NAA添加区が最もすぐれていた。一方、これまで報告のなかった葉片からの不定芽形成が、MS培地に5 mg/ℓ ナフタレン酢酸 (NAA), 1 mg/ℓ ベンジルアミノプリン (BAP) 添加区で認められた。形成された不定胚の生育は、MS培地に植物成長調節物質無添加、または0.1 mg/ℓ BAP添加区が良好であった。また、初期培地で不定胚を形成しなかったカルスからの不定胚形成も、MS培地に植物成長調節物質無添加、または0.1 mg/ℓ BAP添加区が良好であった。さらに、カルス形成はいずれの品種でも容易であったが、一方不定胚形成には品種間差異がみられ‘トパーズ’、‘トラベラー’では高い傾向にあったのに対し、‘ハーマジェスティ’ではまったく形成されなかった。

以上のように、グラジオラス無菌植物の葉片からの不定胚、不定芽形成に関する培養条件が明らかとなり、植物体再生系が確立できた。

キーワード : gladiolus, グラジオラス, 不定胚, 不定芽, ナフタレン酢酸 (NAA),
ベンジルアミノプリン (BAP)

I 緒 言

茨城県の平成7年におけるグラジオラス球根生産の栽培面積は63 ha、切花生産の栽培面積は38 haでそれぞれ全国の第1, 2位を占めている(茨城県 1997)。しかし、近年球根の輸入自由化による球根価格の低下や切花消費の停滞に伴って、生産が減少傾向にある。これを打開するために、新品種の育成が強く望まれている。著者らはこのような産業的背景から培養を用いたグラジオラスの新品種開発に取り組んでいる。

これまでにグラジオラスの花茎、木子切片、木子茎頂などを外植体として直接またはカルス経由の茎葉再分化系が数多く報告されている(Bajajら 1983, Hussey 1975, Kamoら 1990, 霞ら 1998, 1999, Kimら 1988, Kim・Kang 1992, 大城ら 1974, Remotti・Löfller 1995, Stefaniak 1994, 田中 1977, Tomotsuneら

1994, Zivら 1970)。これらの外植体を用いた結果は茎葉再分化効率が低かったり、または培養操作が煩雑であると考えられる。これに対し、無菌植物を一定期間ごとに継代すれば、葉片は一年中利用できる可能性があり、茎葉再分化率が高ければ、有効な外植体となろう。葉片を用いての培養は、Stefaniak (1994) の無菌植物の葉の基部組織からの不定胚形成の報告があるが、葉片からの不定芽形成の報告はない。

そこで、著者らはグラジオラス無菌植物の葉片からの不定胚形成に及ぼす葉部位の違いおよび不定芽による植物体再生について検討したので報告する。

II 材料および方法

実験1. 無菌植物の葉の基部組織からのカルス、不定胚および不定芽形成に及ぼす植物成長調節物質の影響
供試材料には茨城県農業総合センター生物工学研究所

果樹花き育種研究室保存の‘トパーズ’ (花色: 黄色) の木子を用いた。滅菌は, 外皮を剥いた木子を70%エタノールに1分間浸漬後, Tween20 (0.1%)を添加した次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素0.5%)に20分間浸漬し, さらに滅菌水で5分間ずつ3回洗浄した。

培地はMurashige-Skoog (MS) 培地 (Murashige・Skoog 1962)を基本とし, 3%ショ糖, 1%寒天を添加し, pH5.8に調製した。24mm×90mmの試験管に5mlずつ分注し, アルミ箔でキャップ後, 121℃, 1.2kg/cm², 20分間オートクレーブし, 斜面培地とした。

木子が無菌的にMS培地に植付けて, 培養した。1~2ヶ月後, 5~8cmに伸長した無菌植物の葉の基部組織を長さ1cm程度の大きさに切り出し (図1), 5mg/ℓのナフタレン酢酸 (NAA) と1mg/ℓの6-ベンジルアミノプリン (BAP) とを組合せたMS培地に1試験管に1個あて合計30~42個の組織片を置床した。培養条件は25℃, 暗黒とし, 60日後にカルス形成数, 不定胚形成数および不定芽形成数を調査した。

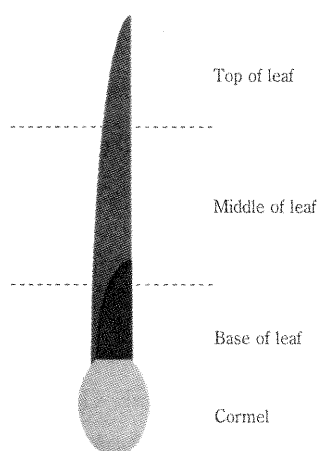


Fig. 1. A schematic presentation of leaf explants of *in vitro* grown gladiolus used

実験2. 無菌植物の葉からのカルスおよび不定胚形成に及ぼす葉の部位の影響

実験1と同様に木子を培養し, 得られた‘トパーズ’の無菌植物の葉を先端部, 中央部, 基部の3つに分けて (図1), それぞれの葉片を長さ1cm程度の大きさに切り, 5mg/ℓ NAAを添加したMS培地に1試験管に1個あて,

合計30個置床した。培養条件は実験1と同様とし, 60日後にカルス形成数および不定胚形成数を調査した。

実験3. 不定胚と不定芽の成育に及ぼすBAPの影響

実験2で得られた不定胚を形成したカルスをそのままBAPの濃度を変えたMS培地に50~71個置床した。培養条件は25℃, 白色蛍光灯 (ネオライン白色 FL40S・W, 東芝ライテック社製) 3,000 lx, 16時間/日の照明とし, 60日後に不定胚の生育したカルス数を調査した。また, 不定胚と同様に不定芽を形成したカルス10数個をそのまま植物成長調節物質を含まないMS培地に継代し, その後成育を観察した。

実験4. カルスからの不定胚形成に及ぼすBAPの影響

実験2で得られた初期培地で不定胚を形成しなかったカルスをBAPの濃度を変えたMS培地に1試験管に1個あて合計20~22個置床した。培養条件は実験3と同様とし, 60日後に不定胚を形成したカルス数を調査した。

実験5. 無菌植物の葉の基部組織からのカルスおよび不定胚形成の品種間差異

主要品種のうち花色の異なる‘トパーズ’ (花色: 黄色), ‘トラベラー’ (同: 桃色), ‘ハーマジェスティ’ (同: 淡紫色) の3つの無菌植物の葉の基部組織を, 実験2で不定胚形成に最適と認められた5mg/ℓ NAAを添加したMS培地に1試験管に1個あて合計20~22個置床した。培養条件, 調査方法は実験1と同様とした。

III 結果および考察

実験1. 無菌植物の葉の基部組織からのカルス, 不定胚および不定芽形成に及ぼす植物成長調節物質の影響

NAA無添加区ではカルスはまったく形成されなかった。また5mg/ℓ NAA添加区では, カルス形成率が100.0%, 茎葉再分化率が16.7%であった。観察の結果, カルスの表面に茎葉と根の両極性があり, カルスの維管束と直接結びついていないと考えられる棒状の構造体が認められた。これらは前報 (霞ら 1999) の木子茎頂から誘導された不定胚とさきわめて類似した形態であったの

で、不定胚と判断した(表1, 図2-A)。一方, 5 mg/ℓ NAAと1 mg/ℓ BAPとを添加した区では, カルス形成率が73.3%, 茎葉再分化カルス率が10.0%であった。観察の結果, カルスの表面に茎葉だけの構造体が認められた。これらは不定胚とは明らかに異なる構造体で, 前報(霞ら 1998)の子房および花被カルス由来の不定芽と類似した形態であったので不定芽と判断した。また

この区では不定芽の他に一部不定胚も認められた(図2-B)。

Stefaniak (1994) の報告では, エンブリオジェニックカルスを形成した培地の植物成長調節物質およびその濃度は, 2 mg/ℓ 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) 添加区と10 mg/ℓ NAA添加区だけであった。本研究の結果, 無菌植物の葉の基部組織を長さ1 cm程度の大

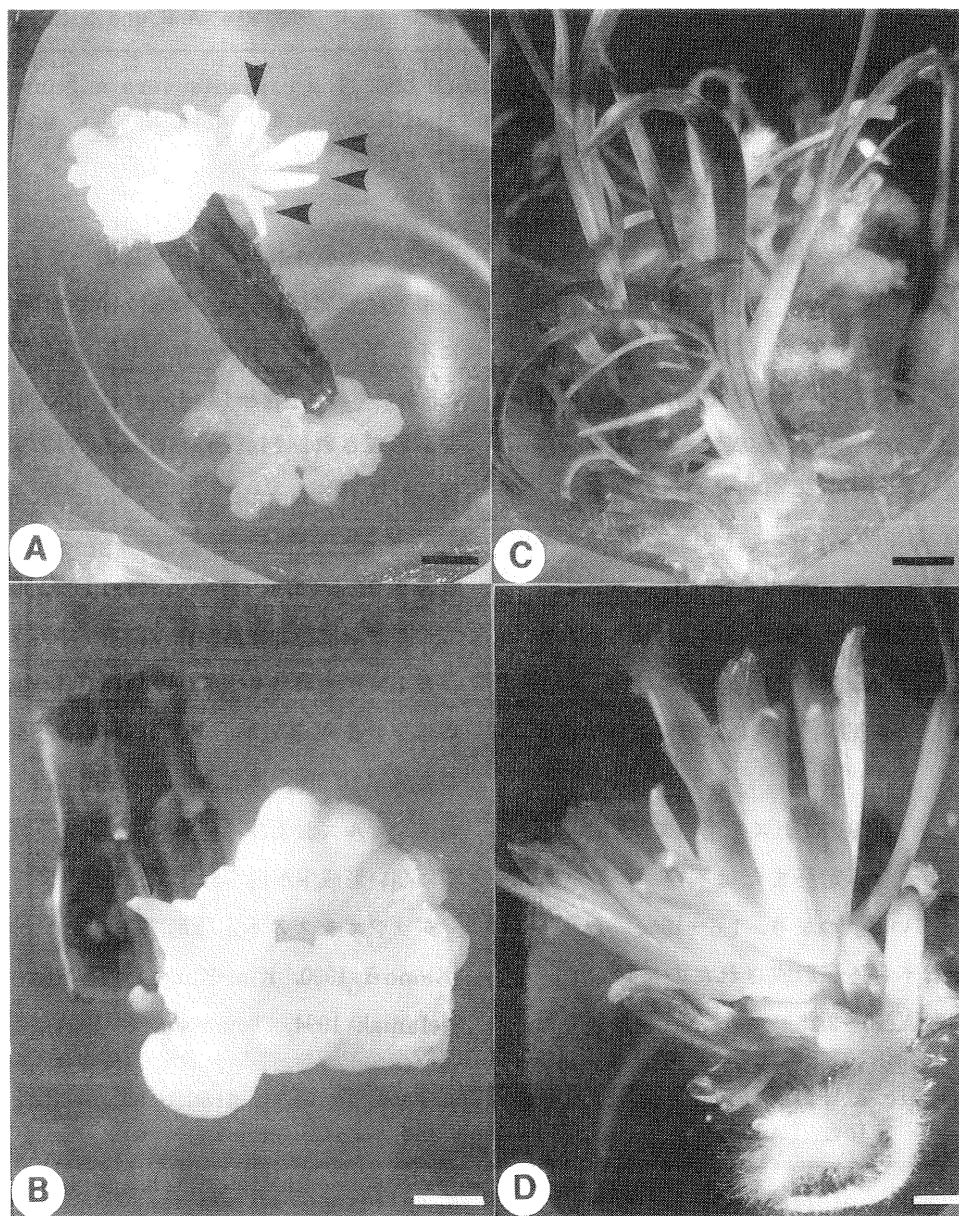


Fig. 2. Somatic embryogenesis, organogenesis and plant regeneration from the basal part of leaf explant in *in vitro* grown gladiolus (cv. Topaz). Bar is 2mm.

A: calli and somatic embryos (arrows).

B: calli and adventitious buds (arrow).

C: plants regeneration from somatic embryos.

D: plants regeneration from adventitious buds.

Table 1. Effects of plant growth regulators on callus formation and shoot regeneration from the basal parts of leaf explants in *in vitro* grown gladiolus (cv. Topaz).

NAA (mg/l)	BAP	No. of explants	% of callus formation	% of shoot regeneration	Type ¹⁾ of morphogenesis
0	0	42	0	0	
0	1	39	0	0	
5	0	30	100	16.7	S. E.
5	1	30	73.3	10.0	A. B. and S. E.

¹⁾ S. E. :somatic embryo, A. B. :adventitious bud. The explants were cultured on MS medium containing plant growth regulators in the dark at 25°C and both values were evaluated 60 days after culturing.

きさで培養した場合、不定胚形成は5 mg/ℓ NAA添加区および5 mg/ℓ NAAと1 mg/ℓ BAP添加区の両方に認められた。Stefaniak (1994) が報告した無菌植物の葉片からの不定胚培養系と、本研究で開発した不定胚培養系では、品種、培養条件などが異なるので直接比較することはできないが、NAAを単独で用いた結果は、Stefaniak (1994) の報告とほぼ一致した。

一方、Stefaniak (1994) の報告では葉片からの不定胚形成だけで、不定芽形成は認められていない。これに対し、本研究において5 mg/ℓ NAAと1 mg/ℓ BAP添加区ではじめて葉の基部組織からの不定芽形成が認められた。

Matuoka・Hinata (1979) はナスを用いてNAA, BAPの組合せと濃度により不定胚または不定芽が形成されることを報告している。つまり、1.6~16mg/ℓ NAAの単独添加区では不定胚が形成されたのに対して、0~0.016mg/ℓ NAAと0~2.25mg/ℓ BAP添加区では

不定芽が形成された。本研究においても高濃度のNAAを単独に添加した5.0mg/ℓ NAA添加区でより効率的に不定胚が形成されたのに対し、NAAとBAPの共存した5.0mg/ℓ NAAと1.0mg/ℓ BAP添加区だけで不定芽が形成され、Matuoka・Hinata (1979) の報告と類似した結果であった。

実験2. 無菌植物の葉からのカルスおよび不定胚形成に及ぼす葉の部位の影響

カルス形成率は先端部が10.0%, 中央部が53.3%, 基部が100.0%となり、不定胚形成率は先端部が0%, 中央部が10.0%, 基部が16.7%となった。以上の結果から、カルスおよび不定胚形成ともに葉の基部を用いた時に高い形成率が得られた(表2)。

グラジオラスの不定胚形成はいくつかの報告がある(Kamoら 1990, Kim・Kang 1992, Remottiら 1995, Stefaniak 1994, Tomotsuneら 1994)。しかし、外植

Table 2. Effects of leaf parts excised from *in vitro* gladiolus plants (cv. Topaz) on callus formation and somatic embryogenesis

parts of leaf	No. of explants	% of callus formation	% of somatic embryogenesis
Top	30	10.0	0.0
Middle	30	53.3	10.0
Base	30	100.0	16.7

The explants were cultured on MS medium containing 5mg/l NAA in the dark at 25°C. The values were evaluated 60 days after culturing.

体に無菌植物の葉片を用いたのはStefaniak (1994) だけであった。この中で、無菌植物の葉の基部組織からの不定胚形成が報告されている。しかし本研究では、葉の基部組織だけではなく、さらに10.0%と低率ではあったが葉中央部葉片からも不定胚形成が認められた。

実験3. 不定胚と不定芽の成育に及ぼすBAPの影響

カルス上に形成された不定胚が茎葉伸長し、発根し植物体を形成した割合は、BAP無添加区では85.9%であったのに対し、0.1mg/ℓ BAP添加区では86.0%、1.0mg/ℓ BAP添加区では33.3%となり、BAP無添加区または0.1mg/ℓ BAP添加区が高かった。また観察の結果、0.1mg/ℓ BAP添加区は奇形葉が認められず、発根も良好で最も順調な成育を示し、植物体を再生した(表3、図2-C)。この結果から、不定胚から植物体への成育は比較的容易であると考えられる。

一方、不定芽は植物成長調節物質無添加のMS培地への継代により茎葉が伸長し、その後発根して植物体を再生した(図2-D)。

Table 3. Effects of BAP concentration on the growth of shoots and roots from somatic embryos on the callus induced at the basal part of leaf explants of *in vitro* grown gladiolus (cv. Topaz).

BAP (mg/l)	No. of explants	% of germinated somatic embryos
0	71	85.9
0.1	50	86.0
1.0	54	33.3

The somatic embryos were cultured on MS medium containing BAP in the 16h/day light at 25°C. The values were evaluated 60 days after culturing.

実験4. カルスからの不定胚形成に及ぼすBAPの影響

継代したカルスからの不定胚形成率はBAP無添加区では60.0%であったのに対し、0.1mg/ℓ BAP添加区では81.8%、1.0mg/ℓ BAP添加区では75.0%となり、0.1mg/ℓ BAP添加区が最も高かった(表4)。

Table 4. Effects of BAP concentration on somatic embryogenesis on the callus induced at the basal part of leaf explants of *in vitro* grown gladiolus (cv. Topaz).

BAP (mg/l)	No. of explants	% of somatic embryogenesis
0	20	60.0
0.1	22	81.8
1.0	20	75.0

The calli were cultured on MS medium containing BAP in the 16h/day light at 25°C. The values were evaluated 60 days after culturing.

以上の結果から、葉片置床後60日の時点で不定胚が形成されていないカルスにおいても、0.1mg/ℓ BAPを添加したMS培地へ継代培養することによって効率的に不定胚が形成されることが明らかとなった。

実験5. 無菌植物の葉の基部組織からのカルスおよび不定胚形成の品種間差異

供試3品種はいずれもカルス形成率が52.2%以上で高い傾向にあった。また、不定胚形成カルス率は‘トパーズ’、

‘トラベラー’がそれぞれ25.0、43.5%であったが、‘ハーマジスティ’は0.0%であった(表5)。このように、カルス形成には品種間差異が少ないものの、不定胚形成には品種間差異が大きかった。

Stefaniak (1994) は我国では栽培されていない4品種を用いて不定胚形成を検討した結果、品種間差異のあることを認めている。本研究では、供試品種に我国の主要品種で花色の異なる‘トパーズ’(花色:黄色)、『トラベラー’(同:桃色)、『ハーマジスティ’(同:淡紫色)を用いた。これらの3品種においても、Stefaniak (1994) と同様に品種間差異のあることを示す結果を得た。これらのことから、この特性はグラジオラスに広く分布していると考えられる。

以上の結果から、グラジオラス無菌植物の葉片からの

不定胚と不定芽形成に関する培養条件が明らかとなり、再生系が確立された。今後この培養系を用いて、グラジオラスの培養変異や形質転換による新品種開発および大量増殖などに応用する予定である。

Table 5. Varietal differences on the callus formation and somatic embryogenesis ability from the basal parts of leaf explant of *in vitro* grown gladiolus.

Cultivar	No. of explants	% of callus formation	% of somatic embryogenesis
Topaz	20	80.0	25.0
Traveler	23	52.2	43.5
Her-Majesty	23	56.5	0

引用文献

Bajaj, Y. P. S. , M. M. S. Sidhu and A. P. S. Gill 1983

Some factors affecting the *in vitro* propagation of gladiolus. Sci. Hort. 18: 269-275.

Hussey, G. 1975. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amaryllidaceae. J. Experimental Bot. 26: 253-262.

茨城県. 1997. 茨城の園芸. 159-160.

Kamo K. , J. Chen and R. Lawson. 1990. The establishment of cell suspension cultures of Gladiolus that regenerate plants. In vitro Cell Dev. Biol. 26: 425-430.

霞 正一・高津康正・友常秀彦・佐久間文雄. 1998. グラジオラス花蕾子房からのカルス形成と植物体再生. 園学雑. 67 : 印刷中.

霞 正一・高津康正・友常秀彦・佐久間文雄. 1999. グラジオラス木子茎頂からの不定胚形成と花色変異. 園学雑. 68 : 印刷中.

Kim, K. W. , J. B. Choi and K. Y. Kwon. 1988. Rapid multiplication of Gladiolus plants through callus culture. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 29: 312-318. (In Korean).

Kim, K. W. and M. S. Kang 1992. Somatic embryogenesis and plant regeneration from gladiolus callus in vitro. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 33: 87-94. (In Korean).

Matsuoka, H and k, Hinata. 1979. NAA-induced organogenesis and embryogenesis in hypocotyl

callus of *Solanum melongena* L. J. Exp. Bot., 30: 363-370.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. Organic growth factor requiring of bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.

大城 閑・奥本裕昭・塚本洋太郎. 1974. グラジオラス花茎の無菌培養による器官分化. 園学要旨. (昭49春) 364-365.

Remotti, P. C. and H. J. M. Löffler. 1995. Callus induction and plant regeneration from gladiolus. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 42: 171-178.

Stefaniak, B. 1994. Somatic embryogenesis and plant regeneration of Gladiolus (Gladiolus hort.). Plant Cell Rep. 13: 386-389.

田中政信. 1977. グラジオラスのウイルスフリー化ならびに花梗培養による増殖. 園学要旨. (昭52秋) 380-381.

Tomotsune, H. , M. Kasumi and Y. Takatsu. 1994. Propagation of gladiolus by somatic embryogenesis. Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 44: 239-244.

Ziv, M. , A. H. Halevy and R. Shilo. 1970. Organs and plantlets regeneration of gladiolus through tissue culture. Ann. Bot. 34: 671-676.

Somatic Embryogenesis, Organogenesis and Plant
Regeneration from Leaf of in vitro grown gladiolus

Masakazu Kasumi, Yasumasa Takatsu, Hidehiko
Tomotsune and Fumio Sakuma

Summary

The highest frequency of callus formation and somatic embryogenesis were obtained on MS medium supplemented with 5mg/ℓ NAA from the basal parts of leaf in in vitro grown gladiolus. Adventitious shoots were regenerated on MS medium containing 5mg/ℓ NAA and 1mg/ℓ BAP using same explants of in vitro grown Gladiolus. Development of somatic embryos in subcultured callus were observed on MS medium without plant growth regulator or MS medium containing 0.1mg/ℓ BAP at the highest rate. Somatic embryos or adventitious shoots induced were easily grown to plantlets on the MS medium with or without 0.1mg/ℓ BAP. Although varietal differences in callus formation ability were not observed, a significant differences were observed in somatic embryogenesis; that in cv.Topaz and Traveler had high and that in cv. Her-Majesty had no ability. In conclusion, we showed the culture condition of somatic embryogenesis and organogenesis using the the leaf explant.

Key Words : gladiolus, somatic embryogenesis, organogenesis, naphthaleneacetic acid
(NAA), 6-benzylaminopurine (BAP)

茨城県内のグラジオラスに発生したウイルス病に関する研究

高津 康正・富田 恭範¹⁾・津田 新 哉

茨城県内のグラジオラスに発生するウイルス病の種類を調査した。県内9か所の栽培ほ場からウイルス症状を呈している株を採集し、65株についてELISA法によりbean yellow mosaic virus (BYMV) およびcucumber mosaic virus (CMV) の感染調査を行った。さらに病徴の異なる葉から分離された病原ウイルスを同定し、病徴との関係について調査した。その結果、BYMVの感染が全体の86.1%、CMVの感染が67.7%の株で認められた。両ウイルスの混合感染率は58.5%であった。また分離された病原ウイルスはBYMV普通系あるいはCMV普通系と同定されるとともに、病原ウイルスの種類によって病徴に違いが認められることが明らかになった。さらに生産現場において問題となる「花バイラス」症状については、両ウイルスの混合感染によって引き起こされる可能性が示唆された。

キーワード：グラジオラス, *Gladiolus × grandiflora*, ウイルス, BYMV, CMV

I 緒 言

グラジオラス (*Gladiolus × grandiflora*) は、茨城県における花き生産の主要な品目であり、特に球根生産では54% (1997) と全国一位のシェアを占めている。しかし近年ウイルス病の発生により生産力・商品性の低下が甚だしく農業生産上、見過せない問題となっている。

国内のグラジオラスに発生するウイルスとしては、福本らが1982年に、CMV, BYMV, tobacco ringspot virus (TRSV), tobacco mosaic virus (TMV) の4種、さらに1987年にはcycas necrotic stunt virus (CNSV) を報告している。さらに福本ら (1982) は4種のウイルスのうちBYMVが重要な病原ウイルスであり、激しい病徴をあらわし広く分布しているとしている。一方、県内の生産ほ場において葉身のモザイク、退緑条斑、花卉の斑入り等のさまざまなウイルス症状が観察されるが、病原ウイルスとの関係については不明である。そこで茨城県のグラジオラス栽培ほ場において、グラジオラスの主要ウイルスであるBYMVとCMVの感染率および異なる病徴をあらわす病原ウイルスの分離・同定

ならびにその病徴との関係について調査した。

II 材料及び方法

1993年5月に県内9か所の栽培ほ場 (土浦市今泉, 同・小山崎, 阿見町小池, 美野里町小曾納, 同・手堤, 岩間町安居, 新治村大志戸, 霞ヶ浦町深谷, 旭村子生) からウイルス症状を呈しているグラジオラス計70株を採集した。

1. ELISA 検定による BYMV および CMV の感染率調査

採集した罹病株70株のうち65株を供試し、日本植物防疫協会製のBYMV-N, CMV-0用ELISAキットを用いて常法により検定を行った。ELISAの結果は、基質溶液を添加してから1時間後にマイクロプレートリーダー (MTP-32) を用いて判定した。

2. 病原ウイルスの同定及び病徴との関係

(1) 供試ウイルスの分離

採集した罹病株70株のうちから、異なる病徴を示す18株を選び、検定植物である *Chenopodium quinoa* および *C. amaranticolor* を用いて単一病斑分離を3回以

上繰り返し、病原ウイルスを分離した。さらにナス科、マメ科の数種植物を用いて定法により汁液接種を行い、特徴的な反応を示す分離株3株を選抜した。

(2) 生物検定

選抜したウイルス分離株3株を *Nicotiana clelandii* または *N.benthamiana* で大量増殖し、8科32種の検定植物に0.2% Na_2SO_3 を含む0.1Mリン酸緩衝液(PB)、およびカーボランダムを用いて汁液接種した。接種した植物は23～28℃に設定したガラス温室内で育成し各検定植物への感染およびその病徴を比較した。

(3) 電顕観察

選抜した分離株を接種した *N.glutinosa* または *Vicia faba* ‘早生そらまめ’の感染葉を、2.5%グルタルアルデヒド溶液で固定し、2%リンタングステン酸溶液(pH7.0)でDirect Negative (DN) 染色法により処理し、透過型電子顕微鏡(JM1210)で観察を行った。

(4) ウイルスの精製

選抜した分離株のうち、ひも状ウイルスは上田らの方法(上田ら1975)で、球状ウイルスは常法(佐藤ら1983)によりそれぞれ精製した。

(5) 血清試験

各分離株の血清学的同定のため、CMV-Y抗血清(農研センター藤澤一郎博士より分譲)、BYMV-O抗血清(鯉淵学園土崎常男博士より分譲)および各分離株の精製標品約50μgを用いて寒天ゲル二重拡散法による検定を行った。ひも状ウイルスについては0.7%アガロースに0.1%SDSを添加して、粒子を崩壊させた後に検定を行った。反応は4℃で12時間行い、沈降帯の形成の有無を観察した。

(6) 戻し接種

選抜したウイルス分離株3株の同定および分離株とグラジオラスの病徴との関

係を明らかにするために、茎頂培養により得たウイルスフリーグラジオラス木子(品種‘トラベラー’および‘富士の雪’)を供試して戻し接種を行った。接種は、選抜した3株(No.3, 14, 70)を接種源として、それぞれ5個の木子から伸長した第一葉期の若葉に対しての単独および混合接種(No.3+No.70, No.14+No.70)とした。接種した植物体は温室内で数か月育成したが、接種当代では病徴が確認できなかった。そのため当代で形成された球根を回収して5℃で60日間貯蔵して休眠打破し、定植後の次世代において葉および花卉の病徴を観察した。

III 結 果

1. ELISA 検定によるBYMVおよびCMVの感染率調査

生産ほ場から採集した65株をELISA検定した結果、86.1%がBYMVに感染していることが判明し、BYMVによる汚染は県内の主要産地に広まっていることが明らかになった。CMVは67.7%の株で検出され、BYMVに比べ感染率はやや低かった。またBYMVとCMVの混合感染は全体の58.5%であった(表1)。一方、症状を呈しながらも両ウイルスが検出されない株もみられた。

Table 1 Multiple infection (BYMV and CMV) detected by ELISA test in gladiolus

field	No. of cultivar	No. of samples	ELISA test		
			No. of BYMV positive ¹⁾	No. of CMV positive	No. of BYMV+CMV positive
Niihari	3	11	9	5	4
Tsuchiura 1	2	6	5	1	1
Tsuchiura 2	2	4	4	2	2
Minori	3	6	4	3	2
Iwama	25	38	34	33	29
total		65	56 (86.1) ²⁾	44 (67.7)	38 (58.5)

¹⁾ positive: OD405/OD630 ≥ 0.20

²⁾ percentage

2. 病原ウイルスの同定および病徴との関係

(1) 2種のウイルスの分離

生産は場から採集した罹病グラジオラスから、数種検定植物において異なる病徴を示す3種の分離株No. 3, No.14, No.70を選抜した。No. 3は葉身の濃淡モザイク, No.14は激甚な退緑条斑, またNo.70は葉身に明瞭なモザイク症状を呈するグラジオラスからそれぞれ分離された。これらの分離株のうちNo. 3およびNo.14については、以下に述べるように同種のウイルスであること

が示唆された。

(2) 生物検定結果

分離株No. 3およびNo.14については8科20種の検定植物に接種し、その宿主範囲ならびに病徴を観察した(表2)。両分離株は、ナス科・ウリ科植物に全身感染し、CMVとほぼ同様の宿主範囲を持つことが明らかとなった。ところで、No. 3は*N. glutinosa*の接種葉においてえそ輪斑点、上葉でモザイク症状を生じたが、No.14では上葉の輪斑点症状のみであった。同様にNo. 3はトマ

Table 2 Host range of three virus isolates (No. 3, 14 and 70) in test plants

host plants		No. 3		No. 14		No. 70	
		IL ¹⁾	UL	IL	UL	IL	UL
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Chenopodium quinoa</i>	NS ²⁾	—	NS	—	NS	—
	<i>C. amaranticolor</i>					NS	—
	<i>Spinacia oleracea</i>			—	M	—	M
	<i>Beta vulgaris</i>	CS	M?	CS	—	—	—
<i>Solanaceae</i>	<i>Nicotiana glutinosa</i>	NRS	M	—	CS	—	—
	<i>N. clevelandii</i>	NRS	M	—	M	—	—
	<i>N. rustica</i>	NRS	M	—	M	—	—
	<i>N. tabacum</i> 'Samson'	NRS	M, CS	CS	M	—	—
	<i>N. benthamiana</i>					—	M
	<i>Lycopersicon esculentum</i> 'fukuju'	CS	M	—	M		
	<i>Petunia hybrida</i>	NRS	M	CS	M		
<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Capsicum annuum</i>	—	M	—	—	—	—
	<i>Cucumis sativus</i> 'akimidori'	—	CS	—	CS	—	—
	<i>Citrullus lanatus</i> 'shimabeni'	NS	M	—	—		
	<i>Cucurbita maxima</i> 'ebisu'	NS	—	—	CS		
<i>Leguminosae</i>	<i>Vicia faba</i> 'wasesoramame'	NS	—	NS	—	—	M
	<i>Vigna sinensis</i> 'jyurokusasage'	NS	—	NS	—	—	—
	<i>V. sinensis</i> 'kurodanesanjaku'					—	—
	<i>Phaseolus vulgaris</i> 'top crop'					CS	M
	<i>P. vulgaris</i> 'masterpieze'					—	M
	<i>P. vulgaris</i> 'honkintoki'					—	M
	<i>P. vulgaris</i> 'dentergreen'	—	—	—	—	—	M
	<i>Pisum sativum</i> 'sanjunichi-kinu'					—	M
	<i>P. sativum</i> 'oosaya'					—	M
	<i>Glycine max</i> 'norin NO. 4'					—	—
	<i>Crotalaria sessiliflora</i>					—	M
	<i>Trifolium ladigense</i>					—	M
	<i>Astragalus sinicus</i>					—	M
<i>Aizoaceae</i>	<i>Tetragonia expansa</i>	NS	—	CS	—		
<i>Pedaliaceae</i>	<i>Sesumum indicum</i> 'kurogoma'	NS	—	NS	—	—	M
<i>Compositae</i>	<i>Zinnia elegans</i>	—	M	—	M		
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Gomphrena globosa</i>	—	M	—	M		

¹⁾ IL: inoculated leaf, UL: upper leaf

²⁾ NS: necrotic spot, NRS: necrotic ring spot, CS: chlorotic spot, M: mosaic, —: no symptoms

トおよびカボチャの接種葉に輪斑点を生じたが、No.14では接種葉に症状が認められなかった。また系統については両分離株とも、百日草 (*Zinnia elegans*) に全身感染すること、タバコの上葉を黄白化しなかったこと、さらにササゲ (*Vigna sinensis*)、インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*) に全身感染しなかったことから、CMV 普通系 (加納ら 1985) であると判断された。

次に、No.70 については 5 科 23 種の植物を供試して汁液接種を行った (表 2)。その結果、*N.glutinosa* およびウリ科植物には感染せず、ササゲを除くマメ科植物に全身感染し、これは BYMV の宿主範囲とよく一致した。

(3) 電顕観察

分離株 No. 3 および No.14 を接種した *N.glutinosa* の感染葉を DN 法により電顕観察したところ、直径約 30 nm の球状粒子が観察された (図 1)。また、No.70 を接種した *Vicia faba* の感染葉では長さ約 750 nm、幅約 13 nm のひも状粒子が認められた (図 2)。

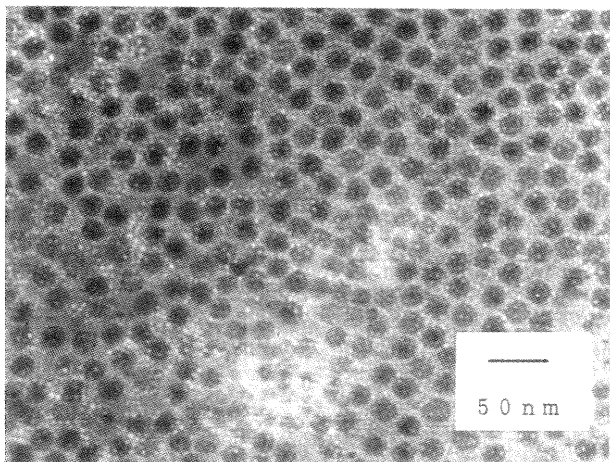


Figure 1 Spherical particles (30 nm in a diameter) were observed in crude sap of *Nicotiana glutinosa* leaves inoculated with virus strain No. 3 or No. 14.

(4) 精製ウイルス吸光特性

球状の粒子形態を示す分離株 No. 3 を分画遠心法により精製し、0.1 M PB に溶解して紫外線吸光度を測定した。その結果、261 nm 及び 242 nm でそれぞれ最大・最小の値を示し、 $A_{\max}/A_{\min}$ および A_{260}/A_{280} の値はそれぞれ 1.36 および 1.47 であった。No.14 も No. 3 とほ

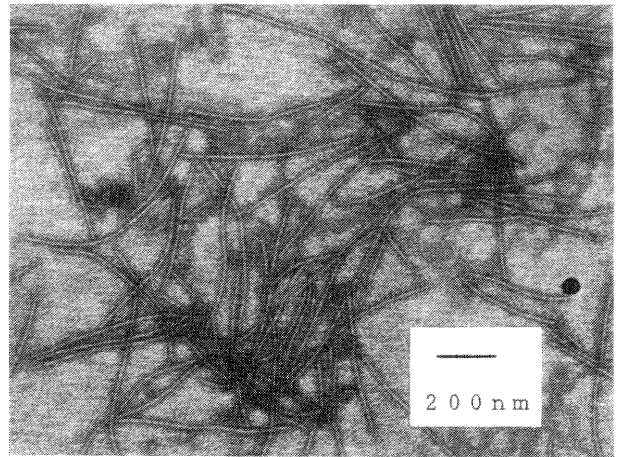


Figure 2 Elongated particles (750 nm in a length and 13 nm in a width) were observed in crude sap of *Vicia faba* leaves inoculated with virus strain No. 70.

ぼ同様の吸光度を示し、 $A_{\max}/A_{\min}$ および A_{260}/A_{280} の値はそれぞれ 1.61 および 1.65 であった。一方、ひも状の粒子形態を示す No.70 では、260 nm および 245 nm で最大・最小の吸光度を示し、 $A_{\max}/A_{\min}$ および A_{260}/A_{280} の値はそれぞれ 1.13 および 1.58 であった。

(5) 血清試験

先の精製ウイルスと CMV-Y 抗血清または BYMV-O 抗血清を用いて寒天ゲル二重拡散法により判定した。その結果、No. 3 および No.14 は CMV-Y 抗血清と明瞭な融合沈降帯を形成した (図 3)。このこと

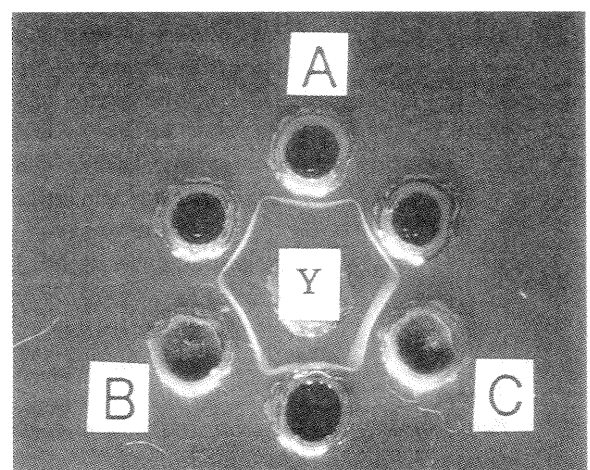


Figure 3 Antiserum against CMV-Y formed precipitin line with No. 3 and No. 14 strains. Y: antiserum against CMV-Y, A: No. 3, B: No. 14, C: CMV-Y type isolate

からNo. 3, 14は血清型Yを示すCMVであることが示唆された。No.70はBYMV-0抗血清との反応は認められなかった。

(6) グラジオラスへの戻し接種

得られたウイルス分離株とグラジオラスの病徴との関係を明らかにするためウイルスフリーグラジオラスに戻し接種を行った。その結果、単独接種では葉身の症状としてNo.3では淡いモザイクを、No.14では奇形を伴う退緑斑を、No.70では明瞭なモザイクをそれぞれ呈した。花卉においては、No.14でのみ斑入り症状を呈した(図4)。またNo.3+No.70の混合接種では、葉身のごく淡いモザイクおよび花卉の斑入り症状を呈した。

IV 考 察

茨城県のグラジオラスに発生する主要ウイルスの分布状況を調べた結果、CMVおよびBYMVが検出された。これらは国内のグラジオラスに発生するウイルスとして福本ら(1982)によって既に報告されており、その中ではCMVの検出率は低く、BYMVが主たる病原ウイルスであろうとされている。本調査の結果から、これら2種のウイルスが本県においても被害をおよぼしていることが再確認された。また、CMVに比べBYMVが広く蔓延していることも明らかとなり、従来の報告(福本ら1982)にはば一致する結果となった。さらにCMVは、検定植物の反応が異なる2種のタイプ(No.3, 14)に分けられたものの、生物検定の結果からいずれも普通系と判断された。血清試験の結果から両者とも血清型Yを示すCMVと推察されるが、別の血清型として報告のあるCMV-P(フキ系)との反応については今後の検討課題としたい。

一方、分離株No.70は血清試験でBYMV抗血清と明瞭な反応を示さなかった。原因については標品の精製の不備・供試量の不足または抗血清の力価の低下等の技術的な理由であると考えられる。しかしながら、その宿主範囲および形態はBYMVの特徴(井上1968, 土崎ら1981, 兼重ら1991)とよく一致した。系統については、インゲンマメの各品種に局部病斑を現さない等、従来の報告と若干異なる反応も見られたが、ゴマに全身感染す

ること、およびソラマメ・インゲンマメに全身えそ症状を現さないことから、BYMV普通系と判断された。

グラジオラスの生産ほ場においては葉身のモザイク、退緑条斑、花卉の斑入り等のさまざまな症状が観察された。福本ら(1982)は、実生グラジオラスを用いた戻し接種の結果から、CMVは低率ながら葉に輪紋およびモザイクを呈し、BYMVは葉のモザイクおよび退緑条斑、また花卉に斑入りを呈するとしている。本実験においても、CMVは葉身に退緑斑及び淡いモザイクを、BYMVは明瞭なモザイクを呈し、異なる病徴が再現された。これらのことから、病原ウイルスによって引き起こされる病徴に違いが認められることが示された。

また、分離されたウイルスを人工的に混合感染させたところ、No.3+No.70, No.14+No.70は共に葉身に淡いモザイクを呈した。さらにNo.3+No.70の混合感染では花卉にも斑入りが認められた。

ところで、現場において最も対策に苦慮するのが「花バイラス」と称されるウイルス症状である。これは生育期間中、葉身には病徴がごく淡く現れるのみであるのに対し、開花すると花卉に明瞭な斑入りが認められる。葉身の病徴が目立たないために抜き取り等の対策が徹底されず、商品性の低下を招いている。福本ら(1982)はBYMVが花卉の斑入りを起こすことを確認しているが、本実験におけるBYMV(No.70)の単独接種では花卉における症状は確認されなかった。一方、No.3+No.70の混合感染では、葉身にはごく淡いモザイクを呈したのみであったにもかかわらず花卉の斑入りが観察された。本実験の結果および、ほ場調査でも58.5%の個体がCMVとBYMVに混合感染していることが明らかになっていることを考え合わせると、「花バイラス」はある種のタイプのCMVとBYMVの両ウイルスの混合感染により引き起こされる可能性もあると考えられる。

本実験で戻し接種した当代では病徴が観察されず、休眠打破後に病徴が明瞭になったことから、次世代用の木子を選抜する際にも注意が必要であると思われる。さらに、各品種における病原ウイルスに対する感受性の差異についても今後調査を要する。

謝 辞

本研究を行うにあたり、農水省農業研究センター藤澤一郎博士にはCMV-Y抗血清を、また鯉淵学園土崎常男博士および山口大学農学部亀谷満郎博士にはBYMV-0抗血清を分譲頂いた。また、農水省農業研究センター本田要八郎、御子柴義郎両博士には、各種マメ科植物の入手にあたりご尽力頂いた。さらに北陸農業試験場福本文良博士には本文のご校閲を頂いた。ここに深く御礼申し上げます。

引用文献

井上忠男 (1968) : 本邦のマメ科植物に発生するPVY群ウイルスの寄生性の比較ならびに判別植物によるウイルスの検索法. 農学研究 52:11-29.

福本文良・伊藤善文・栃原比呂志 (1982) : グラジオラスから分離された4種のウイルス. 日植病報 48: 68-71.

———・花田薫・楠木学・伊藤善文・亀谷満朗 (1987) : グラジオラスから分離されたソテツえそ萎縮ウイルス. 日植病報 53: 64.

兼重寛・前田憲・井上成信 (1991) : クロッカスから分離されたbean yellow mosaic virus (BYMV) の諸性質並びにBYMV 3系統の血清学的類縁関係. 農学研究 62: 225-240.

加納健・山下修一・土居養二・與良清 (1985) : ジャガイモから分離されたキュウリモザイクウイルスの性状について. 日植病報 51: 602-605.

佐藤昭二・後藤正夫・土居養二編 (1983) : 植物病理学実験法, 講談社, 東京. 153-154.

高橋実・大石親男・井上有正・反町徳 (1965) : グラジオラスのBYMVおよびCMVの同定. 日植病報 30: 301.

土崎常男・後藤忠則・藤沢一郎・吉田幸二 (1981) : 北海道のマメ科植物, 野菜に発生するウイルス病について. 北海道農試研報 131: 71-93.

上田一郎・小島誠・村山大記 (1975) : インゲンマメ黄斑モザイクウイルスの精製と血清反応. 日植病報 41: 192-203.

與良清・斎藤康夫・土居養二・井上忠男・都丸敬一編 (1983) : 植物ウイルス事典, 朝倉書店, 東京.

**Identification of Viruses Occurring on gladiolus
(*Gladiolus* × *grandiflora*) in IBARAKI Prefecture**

Yasumasa Takatsu, Yasunori Tomita¹⁾ and Shinya Tsuda

Plant Biotechnology Institute, Ibaraki Agriculture Center

¹⁾ *Horticultural Institute, Ibaraki Agriculture Center*

Iwama, Nishi-Ibaraki, 319-0292, JAPAN

Summary

Gladiolus (*Gladiolus* × *grandiflora*) is an ornamental plant which is vegetative propagated and one of the popular cut flower. Although Ibaraki prefecture has the biggest share (48 %) of gladiolus production in Japan, it has been suffered a severe economical damage by virus diseases. The viruses occurring on gladiolus fields in Ibaraki were identified as BYMV (bean yellow mosaic virus) ordinary strain and CMV (cucumber mosaic virus) ordinary strain. BYMV and CMV were detected by ELISA test in gladiolus plants which showed virus symptoms at 86.1 % and 67.7 % respectively. And a multiple infection of both viruses was observed on 58 % of the gladiolus plants. Several different symptoms were observed in the gladiolus production field as a leaf mosaic, a shade of leaf color or a flower color breaking and so on. These symptoms might be caused by the kind of infected virus and its infection style (single infection or co-infection). This was suggested by the results of single infection or co-infection test using isolated BYMV and CMV.

key words : gladiolus, *Gladiolus* × *grandiflora*, virus, BYMV, CMV

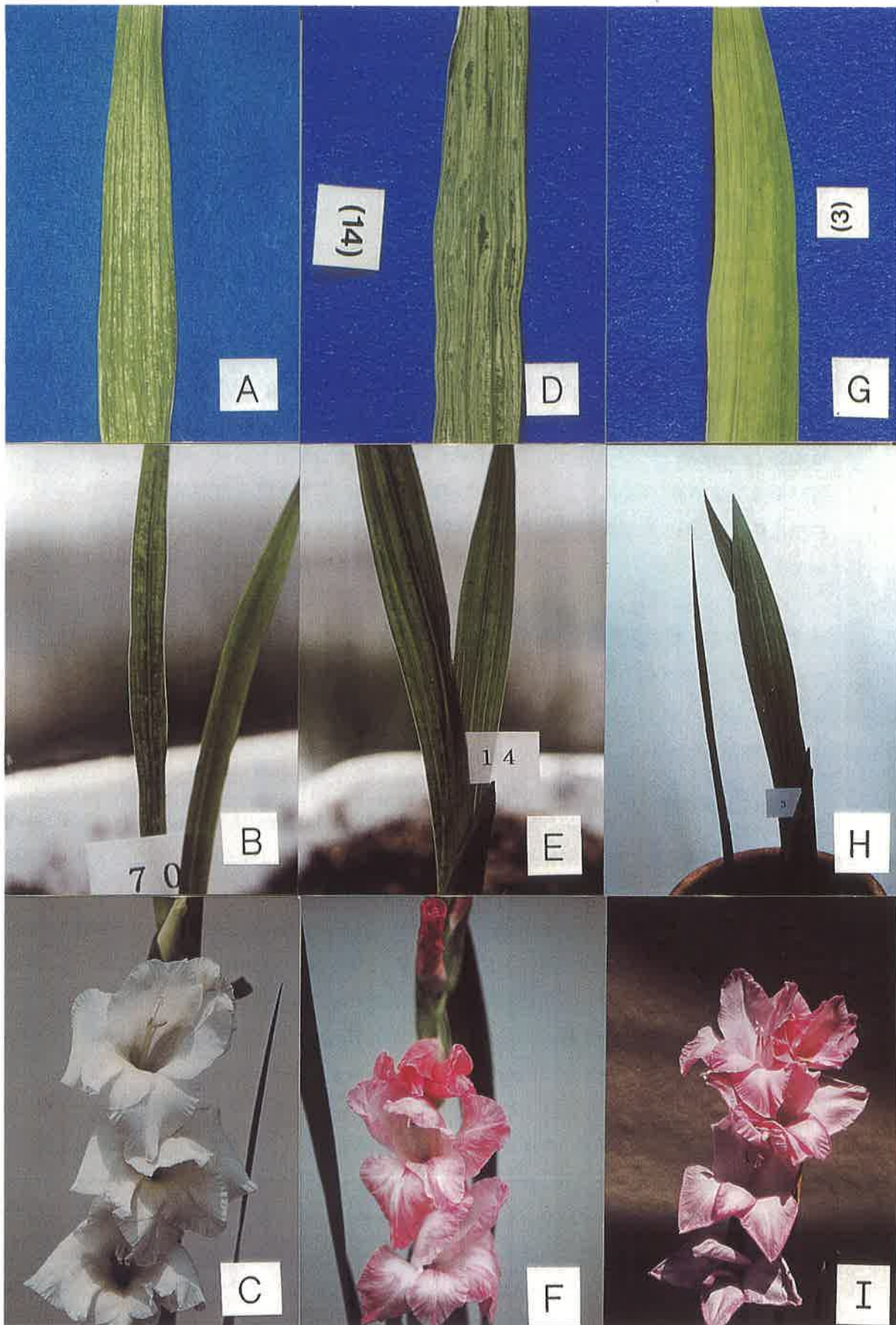


Figure 4 Comparison of original leaf symptoms and back inoculated leaf or flower symptoms among three virus isolates(No. 3, No. 14 and No. 70).

No. 3 A:original B:back inoculated leaf symptom C:back inoculated flower symptom
 No. 14 D:original E:back inoculated leaf symptom F:back inoculated flower symptom
 No. 70 G:original H:back inoculated leaf symptom I:back inoculated flower symptom

ホオズキ (*Physalis alkekengi* L.) の成長点培養による タバコモザイクウイルスの除去とその増殖

友 常 秀 彦

ホオズキの成長点培養によるウイルス症状を示さない個体を得た。0.3～0.5 mm の成長点を0.1 mg/l のベンジルアデニン (BA) を添加した MS 培地で培養したところ、最も多くのシュートが得られた。得られたシュートを植物生長調節物質を含まない MS 培地に移植した結果、茎葉の伸長とともに発根した。その後、1 節ずつ MS 培地に置床することで側芽が生育し、容易に発根した。増殖した個体を馴化した後、汁液接種法によるウイルス検定を行ったところ、22 個体中 20 個体が指標植物に病徴を現さず、残りの 2 個体についてもウイルスとは判定できない程度の症状を示すだけであった。以上の結果、成長点培養によるホオズキのタバコモザイクウイルスの除去とその増殖法が確立された。

キーワード : *Physalis alkekengi*, ホオズキ, TMV, 成長点培養, ウイルス除去

I 緒 言

ホオズキ属には、*Physalis alkekengi* L. に代表される観賞用ホオズキと、*P. pruinosa* L., *P. minima* L. のような食用ホオズキがある。本実験では観賞用に用いられる鉢物栽培用のホオズキ *Physalis alkekengi* L. を材料とした。ホオズキの増殖は、形質の安定と繁殖・栽培の容易さから、優良系の地下茎を分割して行われている。そのため、近年、タバコモザイクウイルス (TMV) によるモザイク症状が蔓延し、生産に影響が出ている。そこで、カーネーション、イチゴ (今泉 1986)、グラジオラス (高津 1982) 等で実用化されている茎頂培養法によるウイルスフリー化に取り組むことにした。食用ホオズキについては、フィザリン生合成のための組織培養 (Benjamin, et al. 1979, Siphimalani, et al. 1981) の報告はあるが、観賞用ホオズキについては成長点培養の報告がない。本研究では、*Physalis alkekengi* L. の成長点培養の条件、ウイルス除去の確認及びその増殖法

について検討し、いくつかの知見を得たので報告する。

II 材料および方法

植物材料 : 現地 (茨城県猿島郡三和町) より採集した観賞用ホオズキ *Physalis alkekengi* L. の地下茎を温室内のポットで栽培し、萌芽してきた芽が 10 cm 程度になった時に上部 5 cm 程度で採取した。余分な葉を除去した後、アンチフォルミンの 1 % 溶液で 15 分間表面殺菌し、その後、滅菌水で 3 回 (各 5 分間) 洗浄し、実体顕微鏡下で茎頂を 0.3～0.5 mm の大きさに摘出し、培地に置床した。

節培養 : 誘導されたシュートを増殖するために、節培養を行った。シュートを 1 節ずつに切り分け、節培養用培地に挿し、生育および発根を調査した。

培地および培養条件 : 成長点培養用培地としては、Murashige and Skoog (1962) の培地に 30 g/l ショ糖および 2 g/l ゲルライト (pH 5.8) を加え、ベンジルアデニン (BA) 0～1.0 mg/l を添加してその効果

を調査した。培地は実験に先立って 24×90 mmの試験管に5 ml ずつ分注し、アルミホイルでキャップ後、 121°C 、15 分間オートクレーブで滅菌後、斜面培地とした。培養は、 25°C 、3,000 lx、16 時間/日照明下で行った。節培養および発根用培地は植物生長調節物質無添加の MS 固形培地を 30×120 mmの試験管に10 ml ずつ分注し、アルミホイルでキャップ後、 121°C 、15 分間オートクレーブで滅菌したものとした。培養は、 25°C 、3,000 lx、16 時間/日照明下で行った。

馴化：誘導されたシュートは節培養で増殖した後、馴化した。馴化に先立ち、流水で培地を良く洗い落とし、バーミキュライトを入れたポットに植え付けた。3 日間ビニール袋で密閉し、その後、袋から出して栽培した。

ウイルス検定：TMV の検定植物であるタバコ (*Nicotiana glutinosa*) を用いてウイルス検定を行った。ウイルス検定は再分化植物の展開葉 100 mg を 50 mM リン酸バッファー 1 ml とともにすり潰し、カーボンランダムを加えて綿棒でタバコの葉に擦りつける方法により、病徴が現れるのを観察した。対照としてモザイク症状の出ている親株の展開葉を同様に処理して接種し、病徴が

現れるのを観察した。

III 結果および考察

成長点培養では、供試したほとんどの培地でシュートの形成が観察された。 0.1 mg/l の BA を添加した区で 75 % と最も高いシュート形成率を示した (表 1)。発根させるために植物生長調節物質を含まない MS 固形培地に継代したところ、BA を添加しなかった培地で得られたシュートは茎葉の伸長とともに発根した (表 2)。BA を添加した培地で得られたシュートは茎葉の伸長とともに発根する個体もあるが、発根しないシュートも観察され、BA を 0.5 mg/l または、 1.0 mg/l 添加した培地で得られたシュートの約 60 % は発根しなかった。また、不定芽を発生したり、赤く着色した地下茎様のシュートを発生させる個体が観察された。このような個体は添加した BA の濃度が高くなるとともに増加する傾向にあった。しかし、そのようなシュートも、再度、節培養を行うと正常な茎葉の伸長と発根が観察された。また、節培養で増殖している過程ではすべての系統で地下茎様のシュートが観察されるようになった。節培養用培地には BA が

Table 1. Effect of benzyl adenine(BA) on shoot tip culture of ground cherry (*Physalis alkekengi* L.)

BA(mg/l)	No. of meristem	No. of Callus	No. of Shoot	Shooting rate(%)	No. of Rooting
0.0	10	0	2	20	2
0.1	20	0	15	75	3
0.5	10	0	7	70	1
1.0	10	0	7	70	0

Table 2. Effect of benzyl adenine(BA) on shoot induction on stem node culture using original shoot of ground cherry (*Physalis alkekengi* L.)

BA(mg/l)	No. stem node used	No. of rooting	Rooting rate(%)	No. of adventitious shoot
0	2	2	100	0
0.1	24	21	88	20
0.5	18	7	39	27
1.0	12	5	42	6

含まれていないことから地下茎様のシュートの発生が BA による影響かどうかは明確ではない。増殖後、馴化した個体では、培養中に観察された地下茎様のシュートを地上に形成する個体は無かった。

発根した 31 個のシュートを節培養によって増殖した。増殖したシュートの内 22 系統を馴化し、ガラス温室内で栽培した。馴化個体は生育旺盛で、モザイク症状を示す個体は無かった(図 1)。葉の形態は親株のばらつきの範囲に入る形態であった。これらの個体を用いてウイルス検定を行ったところ、22 個体中 20 個体で検定植物のタバコに病徴が観察されなかった(表 3, 図 2)。残りの 2 個体もタバコに明らかなウイルスの病徴は示さな

かった。以上述べたように、ホオズキのウイルス除去を目的とした成長点培養は、生長点を含む茎頂部を約 0.3 mm 程度の大きさで切り出し、BA 0.1 mg/l を添加した MS 培地で培養するのが効果的であった。また、節培養で容易に維持増殖ができた。今後、開花結実等の特性調査を行い、変異や品質を検討する必要がある。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、ご協力下さった茨城県農業総合センター生物工学研究所果樹花き育種研究室スタッフに深く感謝します。

Table 3. Virus assay in regenerated plants from meristem culture of ground cherry (*Physalis alkekengi* L.)

Plant origin	No. of tested plants	Symptom				
		—	±	+	++	+++
Regeneration plant	22	20	2			
Virus infection plant	2					2

Test plant : *Nicotiana glutinosa*

— : no symptom, ± : slight symptom, + : little symptom, ++ : middle symptom, +++ : many symptom

引用文献

- Bapat, V.A. and O.Schieder (1981) Protoplast culture of several members of the genus *Physalis*. Plant Cell Reports 1 : (2) : 69—70.
- Benjamin, B.D. and N.B.Mulchandani (1979) Isolation of physalin D, a 13, 14-seco-16, 24, cyclo-steroid from tissue cultures of *Physalis minima*. Planta Medica 37 : (1) : 88—90.
- 今泉和光 (1986) ウイルスフリー植物の培養, 現代化学, (増刊 5), 植物バイオテクノロジー : 124—133, 東京化学同人, 東京都.
- Murashige, T. and F.Skoog (1962) A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol.Plant. 15 : 473—497.
- Ramirez - Malagon, R. and N.Ochoa - Alejo (1991) Adventitious shoot formation and plant regeneration from tissue of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 25 : (3) : 185—188.
- Sipahimalani, A. T., V.A.Bapat, P.S.Rao and M.S.Chadha (1981) Biosynthetic potential of cultured tissues and regenerated plants of *Physalis minima*. Journal of Natural Products, 44 : (1) : 114—118.
- 高津 勇 (1982) グラジオラスの生長点培養によるウイルス無病化とその実用性. 茨城園試研報. 10 : 11—19

**Production and the propagation of virus free plants by shoot tip culture
and stem node culture in ground cherry (*Physalis alkekengi* L.)**

Hidehiko Tomotsune

Plant Biotechnology Insutitute, IBARAKI Agriculture Center
Ago, Iwama, Nishi—ibaraki, Ibaraki 319—0292

Summary

Virus free plants showing no symptom of virus disease were obtained by shoot tip culture in ground cherry (*Physalis alkekengi* L.). The most number of regenerated plants were grown on the MS solid medinm (Murashige & Skoog, 1962) supple mented with 0.1 mg/l benzyle adenine (BA). Regenerated shoots were transplanted on the MS medium withoutplant growth regulator. Shoot growth the rooting were occurred on this medium. Stem nodes with a lateral bud of the plants obtained were cultured on MS medium. Lateral bud of stem nodes easily grew to shoot and root. The plansa obtained by stem node culture were acclimated in the soil covered with plastic bag. Virus free of clutured plants were examined by inoculation method to tobacco plants. Twenty of 22 plants did not show the disease symptom of virus in tobacco leaf.

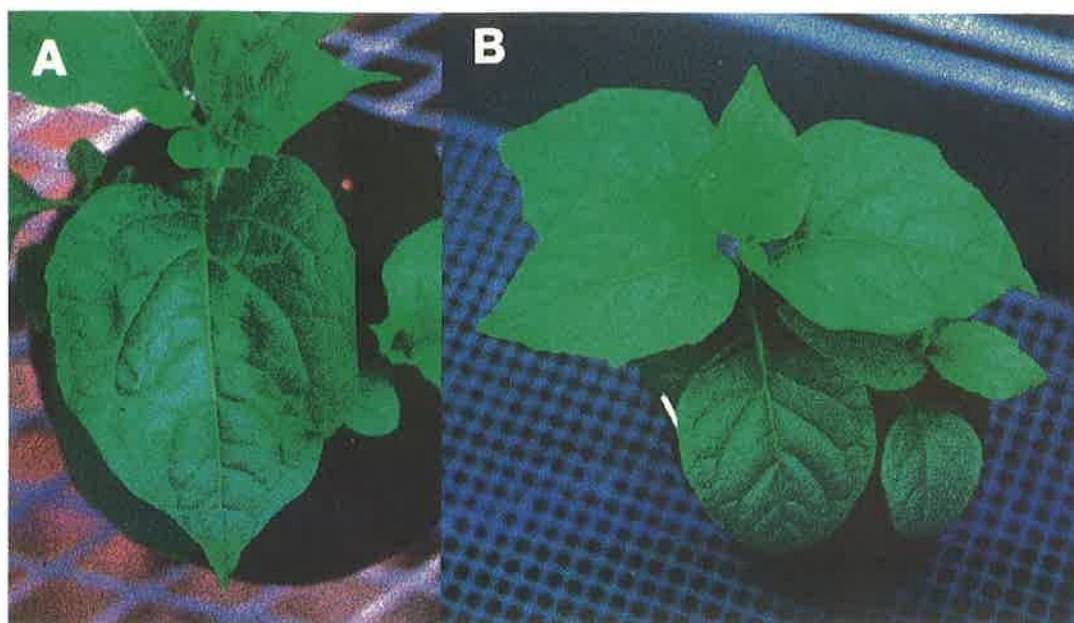


Fig. 1 TMV infected plant (A) and free plant (B) of ground cherry

A : Plant multiplied in vegetative propagation

B : Regenerated plant from meristem culture

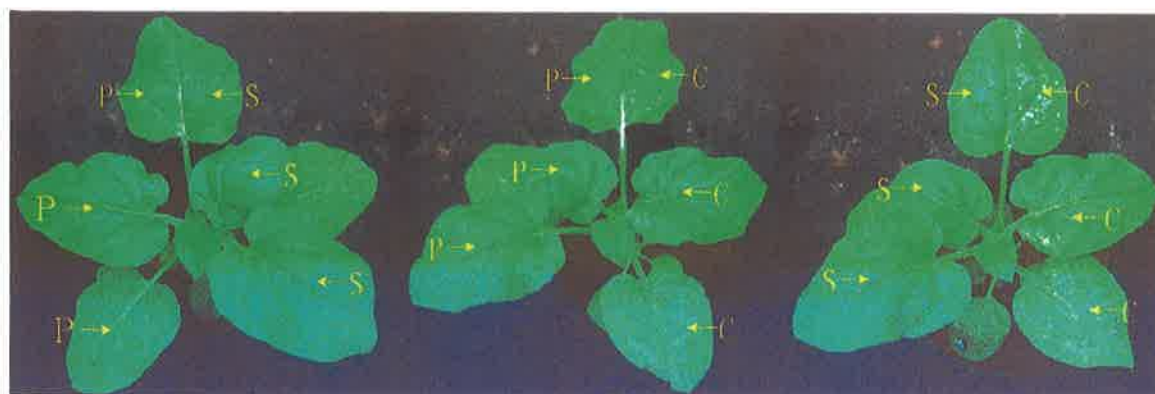


Fig. 2 Virus assay by inoculation of leaf extract to *Nicotiana glutinosa*

P : 50mM phosphate buffer was inoculated

S : Rough extract of regenerated plant was inoculated

C : Rough extract of TMV infected plant was inoculated

茨城県農業総合センター生物工学研究所研究報告 第2号

平成10年2月20日発行

発行所 茨城県農業総合センター生物工学研究所
〒319-0292 西茨城郡岩間町安居 3165-1
電話 0299-45-8330

印刷所 有限会社 新 生 プ リ ン ト
〒310-0912 水戸市見川2丁目28-18

Bulletin
of the
Plant Biotechnology Institute
Ibaraki Agricultural Center
No.2 (1998)

Contents

Study on the Mechanism of Decreasing the Continuous Cropping Injury of the Vegetables by the Upland Rice Cultivation	1 - 56
Mikio Hayashi	
Yumenohatamochi, a New Upland Rice Variety in Japan	57 - 74
Hiroshi Nemoto, Masakata Hirayama, Kazuyuki Okamoto, Masaru Miyamoto and Ritsuo Suga	
A New Strawberry Variety 'Anteher' Derived from Somaclonal Variant of callus Culture	75 - 82
Hiroshi Ezura, Hiroshi Amagai, Masakazu Kasumi and Yoshiyuki Ishizuka	
Somatic Embryogenesis, Organogenesis and Plant Regeneration from Leaf of in vitro grown gladiolus	83 - 90
Masakazu Kasumi, Yasumasa Takatsu, Hidehiko Tomotsune and Fumio Sakuma	
Identification of Viruses Occurring on gladiolus (<i>Gladiolus</i> × <i>grandiflora</i>) in IBARAKI Prefecture	91 - 98
Yasumasa Takatsu, Yasunori Tomita and Shinya Tsuda	
Production and the propagation of virus free plants by shoot tip culture and stem node culture in ground cherry (<i>Physalis alkekengi</i> L.)	99 - 102
Hidehiko Tomotsune	

Plant Biotechnology Institute
Ibaraki Agricultural Center
Ago, Iwama, Nishi-Ibaraki, Ibaraki 319-0292, Japan