

水耕および組織培養条件下におけるサトイモの自家中毒症状の観察

誌名	京大農場報告 = Bulletin of the Experimental Farm, Kyoto University
ISSN	09150838
著者名	森田,隆史 木村,和夫 片岡,圭子 札埜,高志 河瀬,晃四郎
発行元	京都大学農学部附属農場
巻/号	12号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-6
発行年月	2003年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



水耕および組織培養条件下におけるサトイモの自家中毒症状の観察

森田 隆史・木村 和夫・片岡 圭子・札埜 高志・河瀬晃四郎

(京都大学大学院農学研究科附属農場)

The Observation on Autointoxication of Taro under Hydroponics and Tissue Culture Condition.

Takashi MORITA, Kazuo KIMURA, Keiko KATAOKA, Takashi FUDANO
and Koshiro KAWASE

(Experimental Farm, Graduate School of Agriculture, Kyoto University)

Summary

It was investigated whether the accumulation of the secretion from root causes autointoxication to taro plant under hydroponics and tissue culture conditions. 1) Under hydroponics, using the stair step method, the growth of taro in lower stair was inferior to the growth in upper stair. The secretion from root was collected as yellow substance by Amber Light XAD-4 Resin. As the result of bioassay, it became clear that the substance restricted the germination of lettuce seed. 2) When the plants of taro were grown on the paper bridge in vitro adjusting EC and pH without exchanging culture solution for 5 months, the plants with remarkably slow growth appeared at high rate. 3) When protocatechualdehyde, which is an acrid substance of taro plant, was added to culture medium in vitro, the growth of taro plants were remarkably inhibited.

緒 言

サトイモは連作障害が発生しやすい作物として知られる。続ら(1995)は宮崎県総合農業試験場での試験において、連作によって年々地上部の小型化が進み、収量は3年連作で1年目の70%になり、5年連作では59%にまで低下したと報告している。

サトイモの連作障害の原因については諸説がある。三善ら(1971)および室田ら(1984)はセンチュウが主な原因であるとし、また宮路ら(1979)および続ら(1995)はセンチュウ密度はサトイモの生育に関与せず、何らかの植物の生長抑制物質が関与している、としている。

このような見解の相違は、各生産地の気象条件や土壌条件が異なることに起因するかも知れない。著者らは後者の立場に立て、すなわち、サトイモにおける連作障害の原因として、何らかの物質が、サトイモの根から土壌へ放出され、あるいは栽培終了後のサトイモ残さの鉄込みによって圃場に残存し、後作サトイモ

に悪影響を及ぼしている可能性を検討することにした。そこで他の要因をできるだけ排除するため、組織培養条件と水耕条件下でサトイモを育成し、いくつかの実験を行った。

最初の実験では、根からの渗出物が栽培槽間で濃度勾配を生じるようにした水耕装置でサトイモを栽培し、生育を比較すると共に、アレロケミカルの捕集に用いられるアンバーライトXAD-4樹脂に根からの渗出物を吸着させ、得られた物質の生育抑制効果について生物検定を行った。

次に、ペーパーブリッジを用いた組織培養を行い、培地を常に更新する区と、pHおよびECを調節しながら同じ培地で継続する区を設け、数か月にわたってサトイモ幼苗を培養し、その生育を比較した。

最後に、鈴木ら(1975)によりサトイモのえぐみ成分として明らかにされた、プロトカテキアルデヒド(3, 4-ジヒドロキシベンズアルデヒド)を培地に添加して組織培養を行ったときのサトイモの生育を調

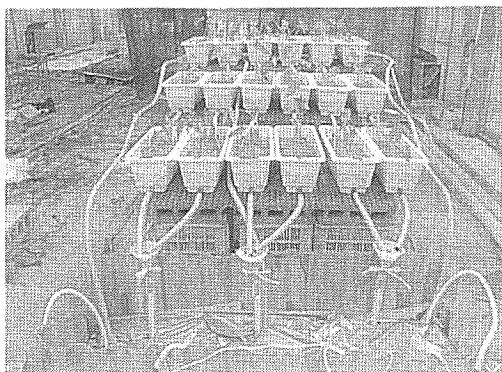
査した。これらの結果について報告する。

材料および方法

実験1. サトイモ数品種の水耕条件下における自家中毒症状の観察

‘京都2号’、‘P51’、および‘唐芋’を供試した。‘京都2号’および‘P51’はえぐいも群に属し、比較的耐寒性があるが、えぐみが強く親芋は食用に適さない品種であり、‘唐芋’は耐寒性劣るがえぐみは少なく親芋や芋茎も食用にする品種である。供試苗はさし木により作成した。1999年7月10日、栽培中の個体から発生した側芽をさし穂とし、ベンレート1000倍液に1時間浸漬して消毒した後、30穴セルトレイにMetro-Mix360を充填したさし木床にさし木した。ミスト施設内で発根させたのち、そのまま定植までミスト施設内で養成した。

水耕装置は、藤井ら(1991)の階段栽培法(stair step method)を参考に作成し、3段階(上段・中段・下段)に高さを変えた栽培槽3つで1組の装置とした。1組の水耕装置に対して容量70ℓの培養液タンクを1つずつ用意し土中に埋設した。栽培槽は容量約20ℓのプランターを使用し、培地は山砂を単用とした。培養液タンクから培養液をポンプで引き上げて上段のプランターに灌液し、その排水が中段、下段の順につきつぎに灌液されるようにした。下段の排水口にカラムをつけ、カラムの中にはアンバーライトXAD-4樹脂を充填した(第1図)。



第1図. 階段栽培法による水耕装置

培養液は下のタンクからポンプアップされて上段、中段、下段の順に流れる。排水口でカラムを通過してからタンクに戻り、循環する。

アンバーライトXAD-4樹脂はあらかじめソクスレー抽出装置を用いてアセトン、アセトニトリル、および塩化メチレンの順でそれぞれ3時間洗浄したものを使用した。カラムからの排水は再びタンクに回収し

た。この実験装置によって植物体の根から放出され、かつアンバーライトXAD-4樹脂に捕集されるような物質が存在すれば、培養液が循環するうちに各段の培地内でその物質に関して濃度勾配が付くと考えられる。各品種および系統につき上記の実験装置を1つずつ設置した。8月11日、各品種・系統とも1プランター当たり3個体、各段2プランター、各3段の計18個体を定植した。培養液は大塚液肥1号(N:P:K=10:8:17)1000倍液を用いた。培養液タンクには3日おきに培養液を補充し、液量を40ℓに維持するとともにpHを5.7になるよう調整した。栽培期間中葉柄長と葉面積について調査を行った。10月22日に試験を打ち切り、サトイモの茎葉重、球茎重および根重について調査した。またアンバーライトXAD-4樹脂に吸着された物質を以下の手順で抽出し、生物検定試験に供試した。

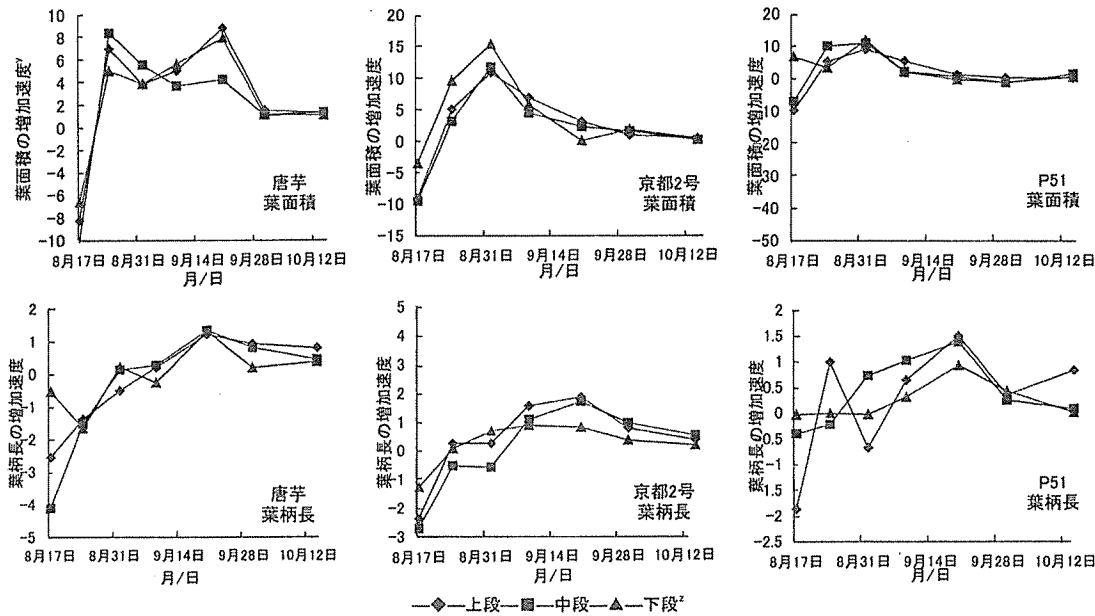
まずカラムに入った状態のアンバーライトXAD-4樹脂を10倍量の蒸留水を通して洗浄した。次にカラムに樹脂の8倍量のメタノールを通して抽出を行い、黄色の液体を得た。得られた抽出物はメタノールを揮発させて固化させたのち、 1×10^5 、 3×10^4 、 1×10^4 および 3×10^3 mg/ℓの4段階に再びメタノールで希釈し、直径9 cmのろ紙を各濃度の希釈液に浸した後、ダクト下で完全に乾燥させた。4段階の濃度で抽出物を染み込ませたろ紙を9 cm径のシャーレに敷き、生物検定に使用した。これらのシャーレの中に検定植物の種子を並べ、3 mlの水を加えて25℃のインキュベータの中で培養し、発芽と生長について調査を行った。検定植物はペレニアルライグラス‘フレンド’とレタス‘グレートレイクス366’を用い、1シャーレ当たりの播種数はペレニアルライグラスは16粒、レタスは20粒とし、各3シャーレ、それぞれ48および60粒を供試した。

実験2. 組織培養条件下におけるサトイモの自家中毒症状の観察

えぐいも群に属する品種‘TC’を実験材料として供試した。‘TC’を茎頂培養して得られた個体を、植物成長調節物質を添加しないMS培地で育成し、分割でのみ繁殖した系統を実験に供試した。

1999年8月17日、容積100 mlの培養瓶内でペーパーブリッジ法によりサトイモの供試苗の育成を開始した。このとき培地は20 mlのMS液体培地とし、その後1か月毎に培地を更新する更新区と、同じ培地をECとpHを調製しながら継続して使用する継続区を設け、各区10個体とした。継続区の培地はいったん同じ容器に集め、pHを5.7に調整した後、MS培地もしくは蒸留水

水耕および組織培養条件下におけるサトイモの自家中毒症状の観察



第2図. サトイモ3品種における階段栽培法が、各段における葉面積と葉柄長の増加速度に及ぼす影響

² 水耕液として大塚液肥1号(N:P:K=10:8:17)1000倍液を使用した。上段から中段、下段の順に流し、排水口でアンバーライトXAD-4樹脂を詰めたカラムを通した。カラムを通した後にポンプを用いて水耕液を再び上段まで引き揚げ、循環させた。
³ 葉面積及び葉柄長の増加速度(測定値-前回測定値)/前回測定値×100(%)を1日あたりに換算した値。

第1表. 階段栽培法²におけるサトイモの生育

サトイモ品種	設置位置	茎葉重(g)	球茎重(g)	根重(g)
唐芋	上段	77 a ³	85 a	103 a
	中段	72 a	42 a	65 a
	下段	142 a	73 a	130 a
P51	上段	142 a	51 a	83 a
	中段	150 a	42 a	69 a
	下段	52 a	27 a	51 a
京都2号	上段	178 a	51 a	61 a
	中段	102 a	30 a	29 b
	下段	98 a	42 a	30 ab

² ブランターを3段階の高さに置き、上段、中段、下段の順に流した後に、疏水性物質の吸着剤を充填したカラムを通し、再び上段へと揚水する循環型水耕法。本実験では、吸着剤としてアンバーライトXAD-4樹脂を、培地として山砂を用いた。栽培期間は100日。
³ ダンカン多重検定により同品種・同列内の異符号のついた処理区間で有意差有り(P=0.05)。

経過した時点で培地を更新し、その後生育が回復するかどうかを観察した。

実験3. 組織培養条件下におけるえぐみ成分の培地への添加がサトイモに及ぼす影響

実験2と同じく、‘TC’の培養系統を材料とし、培地も同様にMS液体培地を用いたペーパーブリッジ法とした。サトイモのえぐみ成分であるプロトカテキュアルデヒド7.1mg/lを1単位とし、1、10および100単位を培地に添加する区を設けた。なお、この1単位は鈴木ら(1975)の報告を元にサトイモの地上部に含まれる濃度を算出したものである。培養期間は30日とし、生育の様相を処理区間で比較観察した。また、処理の前後に各個体の生体重を測定した。

結果および考察

実験1. サトイモ数品種の水耕条件下における自家中毒症状の観察

生育期間における葉柄長と葉面積の推移を第2図に示した。すべての品種で下段における葉柄長の増加速度は上段および中段よりも低くなり、とくに‘京都2号’で低かった。葉面積の増加速度はどの品種も各段の間に差異は認められなかった。

実験終了時の調査結果を第1表に示した。‘P51’

を加えてECを5.7mS/cmに調整するとともに各瓶の培養液量が20mlになるように調整した。継続区の培地の滅菌は、培地内の物質の熱変成を防ぐためオートクレーブの使用を避け、0.22μmのメンブレンフィルターで濾過して行った。なお、培養中に著しく生育が緩慢となる個体が認められたのでこれを生育停止個体と呼称し、その発生率を調査した。また生育停止個体と正常個体について縦に2分割したのちTTC反応させてそれらの呼吸活性について調査した。継続区では生育停止個体の発生が多かったので、実験開始5か月

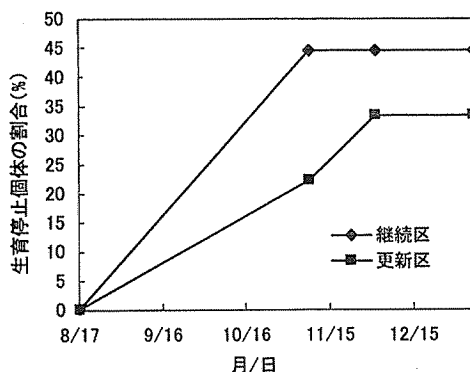
および‘京都2号’では上段, 中段および下段の順で茎葉重, 球茎重および根重がそれぞれ低下する傾向が認められた。しかし有意な差は認められなかった。

‘唐芋’では各段の間の差は調査項目によって傾向が異なり, 明確でなかった。培養液中からアンバーライトXAD-4樹脂に吸着された物質を用いて生物検定を行った結果であるが, レタス‘グレートレイクス366’の種子においては, 処理濃度が高まるにつれて著しい抑制作用が観察され, 発芽率が低下し, 幼根長および胚軸長が短くなった。ペレニアルライグラス‘フレンド’においても同様の抑制効果が認められたが, レタスに比較すると軽微であった(第2表)。このことから, 抽出物は植物種に対して選択的な抑制作用を持つ物質であると推測された。

実験2. 組織培養条件下におけるサトイモの自家中毒症状の観察

継続区では1か月毎の培地補充の直前にはpHが4近くまで低下していたが, ECにはほとんど変化が見られなかった。継続区では3か月後から4個体が生育停止個体となり, 更新区でも2個体が生育停止個体となった(第3図)。

TTC反応の結果では, 生育停止個体および正常個体いずれについても呼吸活性が認められ, すべての個体について枯死していないことが確認された(第4図)。継続区で5か月後に培地を交換したが, そのことによって生育停止個体が正常な生育を開始することはなかった。



第3図. 処理区別にみた生育停止個体の発生する割合(%)の時間的推移



第4図. 正常個体及び生育停止個体のTTC反応における結果

正常個体(上), 生育停止個体(下).
呼吸活性のある部分が赤色(図中では灰色)に呈色している。

第2表. 生育中のサトイモの根からの渗出物^zがレタス‘グレートレイクス366’及びペレニアルライグラス‘フレンド’の発芽および生長に及ぼす影響

処理濃度 (mg/l)	グレートレイクス 366			フレンド		
	発芽率 ^y (%)	幼根長 (mm)	胚軸長 (mm)	発芽率 ^x (%)	幼根長 (mm)	葉身長 (mm)
1×10^5	10 c ^w	2.0 e	0.4 e	53 b	1.0 c	2.1 b
3×10^4	62 b	4.8 d	1.4 d	69 ab	7.0 b	4.8 b
1×10^4	80 ab	6.5 c	2.0 c	75 ab	13.9 a	8.8 a
3×10^3	100 a	12.6 a	2.9 d	75 ab	12.7 a	10.4 a
CONTROL	98 a	8.7 b	3.7 a	77 a	12.6 a	9.5 a

^z 階段栽培法を用いて栽培し, サトイモの根からの渗出物をアンバーライトXAD-4樹脂により捕集した。物質はアンバーライトXAD-4樹脂よりメタノールで抽出して実験に用いた。

^y 実験開始より3日後に測定した。

^x 実験開始より4日後に測定した。

^w ダンカン多重検定により列内の異符号のついた処理区間で有意差有り(P=0.05)。

水耕および組織培養条件下におけるサトイモの自家中毒症状の観察

実験3. 組織培養条件下におけるえぐみ成分の培地への添加がサトイモに及ぼす影響

実験開始1週間後くらいから生育停止個体が観察され始めた。プロトカテキュアルデヒドの培地への添加量が多くなるほど多くの生育停止個体が発生した(データ省略)。生体重は対照区では増加したが、プロトカテキュアルデヒドを添加した区では減少し、添加量が多い区ほど減少量が多くなった(第3表)。

第3表. in vitroにおける培地へのプロトカテキュアルデヒド添加がサトイモの生育に及ぼす影響

処理区	生体重の増加率 ^Y (%)
100単位区	-18.5 a ^X
10単位区	-8.3 a
1単位 ^Z 区	-0.1 a
CONTROL	3.6 a

^Z 1単位は培地当たりのプロトカテキュアルデヒド添加量を7.1mg/lとした。

^Y 培養30日後における生体重の増加率(%)。

^X ダンカン多重検定により異符号のついた処理区間で有意差有り(P=0.05)。

ま と め

実験1で樹脂に捕集された黄色物質はサトイモの根から水耕液中に滲出した物質と考えられ、サトイモに対していくらかの生育抑制効果を持つと考えられた。この物質はレタスの種子に対しても発芽と発芽後の伸長に阻害的な効果があった。

しかしながら生物検定でレタスに効果のある濃度が10,000mg/lと非常に高いことから、アレロケミカルとして必ずしも活性の高い物質とは言えない。組織培養を継続した場合にも同様の物質が根から放出していると考えられるが、生育停止状態になるものの、枯死に至ることはなかった。サトイモの根から滲出する黄色の物質は有機酸などの比較的植物に対する障害が起りにくい物質であるかもしれない。一方、サトイモのえぐみ物質であるプロトカテキュアルデヒドは低濃度でもサトイモの生育に強い抑制効果があった。

ライムギのアレロケミカルであるDIBOA(ベンゾキサジノン)を同定したBarnes(1987)の報告によると、この物質は植物体中では無害な配糖体の形で存在するが、外傷を受けるとβ-グルコシターゼの作用により結合している糖が外れ強い生物活性を持つとして

いる。プロトカテキュアルデヒドも植物体中ではグリコシドで存在するが、DIBOAと同様の挙動を示すとなると、サトイモの茎葉を傷付けた場合には生物活性の高い形態で放出される可能性がある。

サトイモでは根からの滲出物自体の生物活性は比較的低いと推測されるが、収穫後、生の残さを圃場に鍬込んだ場合には、後作作物に影響するかもしれない。

摘 要

サトイモからの滲出物の蓄積が自家中毒症状を引き起こすかどうかを水耕および組織培養条件下で調査した。

1) 階段栽培法を用いた水耕では、上段に比べて下段の生育が劣った。アンバーライトXAD-4樹脂で滲出物を捕集し、得られた黄色物質を用いて生物検定を行ったところ、レタスの種子の発芽を抑制した。

2) サトイモ幼苗をペーパーブリッジを用い、培養液は更新せずECとpHを調節しながら培養した。高い割合で著しく生育の緩慢な個体が出現した。

3) 組織培養条件下でサトイモのえぐみ成分であるプロトカテキュアルデヒドを培地に添加して培養を行うとサトイモに著しい生育障害が起きた。

引用文献

Barnes, Jane P., Alan R. Putnam, Basil A. Burke and Arne J. Aasen. 1987. Isolation and characterization of allelochemicals in rye herbage. *Phytochemistry*. 26 (5):1385-1390.

藤井義晴・安田 環・渋谷知子. 1991. 無影日長栽培法と階段栽培法によるトマトの他感作用の検証. *日本土壌肥科学雑誌*. 62:150-155.

宮路龍典・白沢禾雄. 1979. サトイモの連作障害の発現と対策に関する研究. *鹿児島農試研報*. 7:5-15.

三善重信・小宮正寛・吉鹿正三・吉田桂輔・吉村大三郎・仲 列. 1971. サトイモの連作障害に関する研究. 第2報 さといも連作障害と薬剤防止効果. *福岡農試研究報告*. 9:49-54.

室田 昇・坂元義明・富山一男・尾崎正美・真鍋雅晴・岩崎哲彦・福川利玄. 1984. 宮崎県のサトイモ産地における作付けの実態と連作障害対策. *宮崎総農試研報*. 18:39-51.

鈴木 雅子・加納三千子・三谷璋子・持田房江・有本美恵. 1975. サトイモの中のえぐみ成分, 3, 4-

森田 隆史・木村 和夫・片岡 圭子・札埜 高志・河瀬晃四郎

ジグリコシックベンズアルデヒドの検索, 栄養と食料,
28 (2):55-59.

続 柴治・島崎 敦・ロサパティ ウルカラ ナイバ

ルレブ・富山一男, 1995, サトイモの連作障害とそれ
に關与する要因, 日作紀, 64 (2):195-200.