

学 位 論 文 要 旨

氏 名	渡部 泰希
題 目	<p>アスパラガスのアレロパシー活性における新規生物検定系の開発とその利用に関する研究 (Studies on the development of a new bioassay system for the evaluation of allelopathic activities and its application in asparagus)</p>

多年性であるアスパラガスは、一度定植されると十数年間、長い場合には20年以上栽培が続けられる。栽培年数が長期にわたり株の老化が進むと、収穫量が減少する。そこで、株を更新して改植を行った場合、前作と比較して収量が7割程度まで減収するといった状況が国内の産地で深刻化している。したがって、アスパラガスを改植した場合に発生する低収要因を解明し、その連作障害を回避する技術の開発が急務となっている。本研究は、アスパラガスのアレロパシー作用に注目し、その活性に関する諸要因を検証して、低収要因を明らかにしたものである。

植物根からの浸出物の一部は根圏微生物の代謝により変化するため、土耕栽培では本来根に含まれていない化合物が検出されたり、あるいは目的とした化合物が消失する可能性がある。したがって、アレロパシーの活性検定において、このような根圏微生物の影響を取り除く必要がある。現在、アスパラガスの連作障害に関与するアレロパシー物質は未同定であるが、これは、既報における抽出材料が全て根圏土壌溶液に委ねられていることに起因していると考えられる。そこで第1章では、再分化個体及び脱分化細胞を活用した無菌的生物検定系を作出して、活性検定が可能であることを明らかにした。

植物のアレロパシー活性は、各種野菜・花卉・木本の他、薬用植物や被覆植物などについて非常に綿密かつ広範に検定されているが、活性の雌雄間差異について検討した例はない。第2章では、無菌的生物検定系において雌雄別に得た再分化個体を用いることで、植物において初めて雌雄間差異を検定すると共に、品種間差異も明らかにし、アレロパシー物質の単離・同定に最も有効な検定材料を決定した。また、早期開花個体が、誘導までに長期を要する再分化個体の代替になり得ることを第3章において明らかにした。

生物検定系に放出されるアレロパシー物質の増量は、その後の物質同定に有効である。第4章では、光量と光質がアレロパシー活性に影響を与えることを見出し、被検定材料へ単色光を照射することで、その活性程度を制御することに成功した。これらの知見に基づいて、アスパラガスの根系から放出された浸出液を分析した結果、糖質や有機酸が検出され、特に多量の塩類が存在することが明らかとなった。

第5章では、検出された塩類を定量し、無菌的に生物検定を行った結果、検定植物の生育阻害には塩類の影響が大きいことを明らかにした。生物検定を行った短期間に高濃度の塩が根系から放出されていることから、ハウス内や圃場では塩類集積が速やかに進行し、アスパラガスの生育を抑制していることが推察された。

これらの研究成果は、温室内のプランターや試験圃場において連作障害の再現試験を行うことを可能にし、将来、アスパラガス連作障害の回避技術の作出に寄与することが期待される。

学 位 論 文 要 旨

氏 名	Yasuki Watanabe
題 目	Studies on the development of a new bioassay system for the evaluation of allelopathic activities and its application in asparagus (アスパラガスのアレロパシー活性における新規生物検定系の開発とその利用に関する研究)

Asparagus is a dioecious plant and a perennial vegetable. Throughout the asparagus-growing area in Japan, the asparagus seedlings are cultivated in the same place for over 20 years once they are planted in the field. It is well known that crop yield and quality have gradually decreased as a result of long-term cultivation, and that replanting problem occurs in such fields. One possible reason for the decline in the asparagus crop yield includes the allelochemical(s) released from asparagus plants in continuous cropping fields. This problem has also been attributed to autotoxic or autoallelopathic effects, although autotoxicities are considered a particular type of allelopathy. To date, many kinds of the allelochemicals that were the causative substances of allelopathy have been identified. However, it has not been demonstrated that a decline in asparagus yields would be associated with these compounds, even though they can inhibit seed germination and seedling growth in another species.

Since the exudates including allelochemical(s) were prepared from soil and plants grown in a field and a greenhouse, microbial effects on the isolation and identification of some aimed compounds were inevitable. It has been reported about the conversion of exudates produced biosynthetically by plants into allelochemicals with ordinary microorganisms in the soil. Consequently, it has been unclear whether the allelochemicals identified were directly produced by plants or indirectly converted by microbes. These drawbacks will diminish with the application of an aseptic bioassay system where donor and acceptor plants are free from microbial activities. An applicant developed the aseptic bioassay system utilizing regenerants, and could estimate the allelopathic activities in asparagus root systems by taking advantage of female and male regenerants, but the elapse of regeneration was needed over semiannually. Since the degree of inhibition in the growth of acceptor plants obtained by application of an early-flowered plants was similar to that of regenerants, an early flowering system would be a powerful tool for the detection of allelopathic activity. Light is a valid factor for increasing secondary metabolites, and the contents in tissues and cells vary according to the type of light irradiating the plants. Hence, an applicant performed an experiment where blue or red LEDs, which can specifically apply blue or red light, respectively, included in an effective radiation area of light participating in photosynthesis were irradiated to donor materials prior to performing an aseptic bioassay, and then the donors treated with individual LEDs were employed for the assay. As a result, allelopathic activities varied with the light quality.

The aseptic bioassay system established in this study employing a solid medium that is clarified the ingredients and distributed allelochemical(s) could provide a platform for isolating and identifying allelochemicals validly.

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	渡部 泰希
審査委員	主査 佐賀大学 教授 尾野 喜孝
	副査 佐賀大学 准教授 駒井 史訓
	副査 鹿児島大学 教授 岩井 純夫
	副査 琉球大学 教授 安谷屋信一
	副査 佐賀大学 准教授 一色 司郎
審査協力者	
題 目	<p>アスパラガスのアレロパシー活性における新規生物検定系の開発と その利用に関する研究 (Studies on the development of a new bioassay system for the evaluation of allelopathic activities and its application in asparagus)</p>
<p>多年性であるアスパラガスは、一度定植されると十数年間、長い場合には 20 年以上栽培が続けられる。栽培年数が長期にわたり株の老化が進むと、収穫量が減少する。そこで、株を更新して改植を行った場合、前作と比較して収量が7割程度まで減収するといった状況が国内の産地で深刻化している。したがって、アスパラガスを改植した場合に発生する低収要因を解明し、その連作障害を回避する技術の開発が急務となっている。本論文は、アスパラガスのアレロパシー作用に注目し、その活性に関する諸要因を検証して、低収要因を明らかにしたものであり、得られた成果は以下のように要約される。</p> <p>1. 植物根からの浸出物の一部は根圏微生物の代謝により変化するため、土耕栽培では本来根に含まれていない化合物が検出されたり、あるいは目的とした化合物が消失する可能性がある。したがって、アレロパシーの活性検定において、</p>	

このような根圏微生物の影響を取り除く必要がある。現在、アスパラガスの連作障害に関与するアレロパシー物質は未同定である。これは、既報における抽出材料が全て根圏土壌溶液に委ねられていることに起因していると考えられる。そこで第1章では、再分化個体及び脱分化細胞を活用した無菌的生物検定系を作出し、活性検定が可能であることを明らかにした。

2. 植物のアレロパシー活性は、各種野菜・花卉・木本その他、薬用植物や被覆植物などについて非常に綿密かつ広範に検定されている。しかし、活性の雌雄間差異について検討した例はない。第2章では、無菌的生物検定系において雌雄別に得た再分化個体を用いることで、植物において初めて雌雄間差異を検定した。また、品種間差異も明らかにし、アレロパシー物質の単離・同定に最も有効な検定材料を決定した。さらに、第3章において、早期開花個体が、誘導までに長期を要する再分化個体の代替になり得ることを明らかにした。

3. 生物検定系に放出されるアレロパシー物質の増量は、その後の物質同定に有効である。第4章では、光量と光質がアレロパシー活性に影響を与えることを見出し、被検定材料へ単色光を照射することにより、その活性程度を制御することに成功した。これらの知見に基づいて、アスパラガスの根系から放出された浸出液を分析した結果、糖質や有機酸が検出され、特に多量の塩類が存在することが明らかとなった。

4. 第5章では、検出された塩類を定量し、無菌的に生物検定を行った結果、検定植物の生育阻害には塩類の影響が大きいことを明らかにした。生物検定を行った短い期間に高濃度の塩が根系から放出されていることから、ハウス内や圃場では塩類集積が速やかに進行し、アスパラガスの生育を抑制していることが推察された。

これらの研究成果は、温室内のプランターや試験圃場において連作障害の再現試験を行うことを可能にし、将来、アスパラガス連作障害の回避技術の作出に寄与することが期待される。したがって、本論文は博士（農学）の学位論文として十分に価値があるものと判定した。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏 名	渡部 泰希
審査委員	主査 佐賀大学 教授 尾野 喜孝
	副査 佐賀大学 准教授 駒井 史訓
	副査 鹿児島大学 教授 岩井 純夫
	副査 琉球大学 教授 安谷屋信一
	副査 佐賀大学 准教授 一色 司郎
審査協力者	印
実施年月日	平成 23年 1月 27日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) (口答) 筆答	
<p>主査及び副査4名は、平成23年1月27日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、その内容および関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者

渡部 泰希

【質問 1】被検定植物へ与える光質によって塩類の溶出量に違いはありますか。

また、知見はあるのでしょうか。

【回答 1】溶出量は不明だが、阻害活性の程度に差が認められます。光質と溶出量に関する知見については、自分の知る限りでは見当たりません。

【質問 2】連作障害が認められる圃場において、塩類濃度が100mMに達する事例はあるのでしょうか。

【回答 2】施設園芸では65mMまで集積する例が報告されております。

【質問 3】検定植物にレタスを用いているが、それ以外の植物を使って生物検定を行ったことはありますか。

【回答 3】ありません。本研究ではアレロパシー活性の検定に多用されるレタスのみを使用しております。

【質問 4】被検定材料である擬葉の乾物中の塩類は測定しましたか。

【回答 4】測っておりません。今後、測定したいと思います。

【質問 5】アレロパシー活性の品種間差を検定する際、個体数を増やして統計処理を行えば、さらに確からしい結果が得られると思いますが、如何ですか。

【回答 5】是非、検討したいと思います。

【質問 6】アスパラガスの性決定遺伝子がありますか。また、カルス由来の再分化個体の性表現が保存されていることは確認できていますか。

【回答 6】再分化個体を早期開花させる技術を開発して、実際に性表現を確認したところ、材料と再分化個体の性表現が対応していることを確認しております。

【質問 7】連作障害には塩類がかなり関与しているようだが、排土や客土などは大変な作業で、容易に回避する方法としてどのようなことを考えていますか。

【回答 7】施設栽培用のパイプや屋根などは一度設置すると次の場所に移すのは難しいですし、ご指摘の通り、排土や客土も安易に行える作業ではありませんので、土壌診断によって硝酸やカリウムなどの集積状況を把握して、トウモロコシやソルガムなどのクリーニングクロープを導入することが有効であると思います。

【質問 8】浸出液中の無機イオンの分析結果において、アニオンとカチオンのそれぞれの総量が等しくならぬことを、どのように考えていますか。

【回答 8】一般的な土壌にはアニオンとカチオンは等量含まれていますが、カチオンで不足している2mM分は有機酸であると考えています。

【質問 9】全阻害活性のうち、3～4割は有機酸によるものであると考えているのですか。

【回答 9】有機酸は関与していると思います。塩がある状態で有機酸が阻害的に働くことも考えていますので、今後、明らかにしていきたいと思います。

【質問 10】浸出液中の有機酸は測定したのでしょうか。

【回答 10】有機酸は測定したのですが、同定するに至りませんでした。有機酸の各種標品による生物検定は行ってまして、アレロパシー活性を認めております。

【質問 11】今後、本研究を進めるとしたら、どのように発展させるつもりですか。

【回答 11】ここでは、塩類で阻害活性が認められましたが、塩類だけで全てを説明できないところがあるので、塩類存在下での他種成分によるアレロパシー活性を検出しながら研究を進めたいと考えております。