

機関番号：11201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20780185

研究課題名(和文)

野菜接木苗における水の動態と形成層発達過程の解明およびその最適養生条件の検討

研究課題名(英文) Studies on water movement and proper curing condition during cambium development period of grafted vegetable seedlings

研究代表者

松嶋 卯月(MATSUSHIMA UZUKI)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：70315464

研究成果の概要(和文)：野菜苗木接合部の水の動態と新たな形成層の発達過程との関係について研究を行った。その結果トマト台木とおよび穂木が未活着のときは茎の水移動はきわめて遅く、未活着部分が水移動に与える抵抗は大きいことが予測された。そこで、活着不良である接ぎ木不親和による水の動態の変化がトマトの光合成代謝産物に与える影響について検討した。穂木と台木の不親和を起こすトマトとナスの接ぎ木では、接ぎ木不親和の程度を示す穂木と台木の茎径差が大きくなることに伴い、通導抵抗も増加した。さらに茎径差は、トマト葉のBrix値と相関があり、接ぎ木不親和による通導抵抗で引き起こされる水ストレスでトマト葉の糖度が増加することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The process of development cambium layer of grafted plants and water movement from scion to stock was investigated. Before grafting process was completed, water movement in grafted tomatoes were significantly slow due to high water transport resistance through the incomplete grafted parts. Accordingly, influence of changes in water movement in stems due to imperfect grafting upon photosynthetic products in grafted tomato leaves. In case of grafting between tomato and eggplant, scion and stock respectively, water transport resistance became large according to increase of degree of imperfect grafting that are indicated by difference of stem diameters of scion and stock. Difference of stem diameters and brix in tomato leaves were also positively correlated. Thus brix in tomato leaves increased by water stress caused by low water transport resistance due to imperfect grafting.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業情報工学

キーワード：活着，水移動，可視化

1. 研究開始当初の背景

野菜苗の接木とその内部における水移動
野菜苗の接木はトマト・キュウリをはじめ
様々な苗に行われ、市場における接木苗の需

要は高い。そのため苗生産の歩留まりを上げるために、効果的に苗の活着を誘導することが求められている。しかし、苗の活着過程において、接合部でどのように水移動が起こり、

また、接合部でどのようにカルス細胞組織が発達し新たな形成層が発達するのか詳細は明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、接木苗の安定生産を目指し、苗木接合部の水移動と新たな形成層の発達過程との関係を明らかにすることを目的とした。形成層発達の過程の観察には、中性子ラジオグラフィ装置およびシンクロトロンX線CT装置を用いる予定であったが、各装置のマシントイムが申請多数のため満足に得られなかった。そこで、蛍光プローブを用い接ぎ木部分の水の流れを可視化および評価することを目的に加えた。さらに、苗木接合部の水の動態と形成層の発達過程の観察研究の過程で明らかになった接ぎ木不親和による水の動態の変化を利用した付加価値の高いトマト果実生産の実現可能性を検討することを目的に加えた。

接ぎ木不親和とは、台木と穂木の種や品種の違いなどにより、接着部における組織の癒合が不完全で維管束が再生しにくく、接ぎ木の接合が妨げられることをいう。同属であるが種が異なり、不親和の起こりやすいナス台木とトマト穂木に実ったトマト果実では、糖含量が上昇するが、それは接ぎ木部における通水性の低下により、水ストレスがかかりやすいためと考えられる。しかし、接ぎ木不親和の程度と果実の高糖度化および水ストレス耐性については明らかになっておらず、そのため、栽培時の水ストレスによっては糖含量が増加しない例や、逆に枯死する例がある。そこで不親和の程度がトマトの生長および葉の糖度に及ぼす影響について検討した。

3. 研究の方法

3.1 中性子イメージングによる水移動の可視化

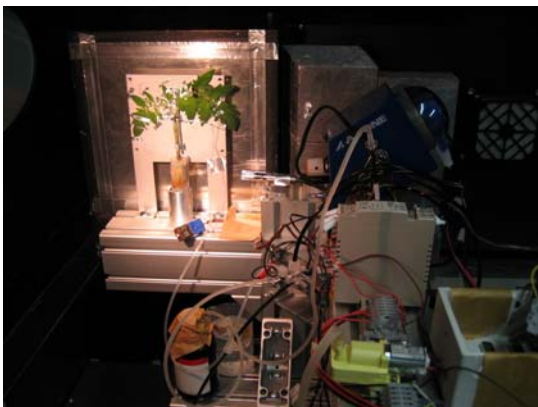


図1: 中性子ラジオグラフィ実験の様子。

中性子イメージング Helmholtz Zentrum Berlin(略称HZB, 旧 Hahn-Meitner-Institut, ドイツ) に設置された CONRAD (V7) の中性子ラジオグラフィ装置を用いて行った。重水トレーサを用いることで、トマト接ぎ木苗の水ストレス前後における吸水変化を可視化することを目的とした。まず試料に重水を供給し、その間冷中性子ラジオグラフィ画像を15秒毎に10秒間の露出で連続撮影した。実験の様子を図1に示す。

3.2 X線イメージングによる組織の可視化

X線イメージングは、HZB に設置されたマイクロフォーカスX線CT装置を用いて行った。本装置では、空間分解能約5mmのCT画像を得ることができる。

3.3 蛍光プローブによる水移動の可視化

本研究では一般的でかつ安価な蛍光試薬としてフルオレセイン($C_{20}H_{12}O_5$)を用いた。フルオレセインは蛍光顕微鏡撮影によく用いられる蛍光色素で、また、入浴剤や眼科の診断薬等幅広い分野で利用されている。分子量は332.306 $g\ mol^{-1}$ 、吸収波長の極大は494nm、放出する蛍光波長の極大は521nmである。フルオレセインは固体では赤褐色の粉末状であるが、よく水に溶解し黄緑色の水溶液となる。ここでは、フルオレセイン粉末を水に溶解させ $5 \times 10^{-4} mol/l$ に調製したものを蛍光プローブとした。蛍光プローブを用いた水移動可視化装置の概略を図2に示す。植物試料中の蛍光プローブは、植物試料に吸収された本色素を効率的に可視化するために、目的に適した励起光源(図2-a)、励起フィルタ(図2-b)および蛍光フィルタ(図2-c)を選択する必要がある。植物試料中からの蛍光発光の検出器として市販のデジタルカメラ(D80, ニコン)を用いた。励起光源としてカメラ用スピードライト、励起フィルタには中心波長472nm、半値幅30nmの蛍光顕微鏡用励起フィルタ(Edmond Optics)を用いた。また、蛍光フィルタには中心波長520nm、半値幅10nm

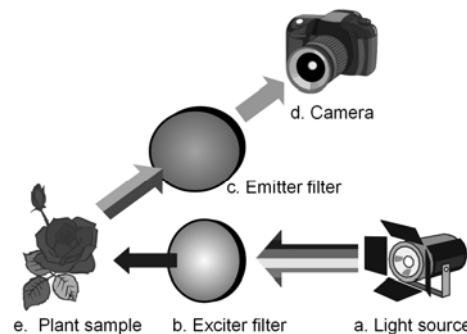


図2: 蛍光試薬を用いた水移動可視化装置の概略図

のバンドパスフィルタ (Melles Griot) を用いた。

3. 4 接ぎ木不親和の評価

実験区として、ナス台木に接ぎ木したトマト (ナス台トマト)、トマト台木に接ぎ木したトマト (共台トマト)、接ぎ木をしないトマト (自根トマト) を用意した。台木用ナス、台木用トマト、穂木用トマトとして用いた品種はそれぞれ、台太郎、影武者、ハウス桃太郎である。各実験区は 8 月 17 日の播種後、屋外で育苗された。9 月 9 日に接ぎ木をし、温度 28℃湿度 90%以上の条件で 3 日間養生した後再び屋外で栽培した。水ストレスと関係の深い根域の水分条件をそろえるために、10 月 13 日から水耕で栽培を行った。8 月 24 日と 9 月 8 日にも播種を行い、ほぼ同様の日程で栽培した。8 月 17 日播種の試料は接ぎ木から 8 週間後の 11 月 4 日に、8 月 24 日と 9 月 8 日播種の試料は接ぎ木から約 8 週間後の 12 月 7 日に栽培を終了した。

生長の指標として、各試料の葉齢、草丈、最大葉身長、茎直径、生体重、乾物重を測定した。葉の糖度の指標として屈折式糖度計 (MASTER-20T, ATAGO) で葉の Brix 測定を行った。接ぎ木接合部の茎部における水輸送能の指標として通導抵抗を測定した。通導抵抗は、接ぎ木接合部を中央に含み 6cm に切りそろえた茎の片端に一定の負圧を与え、茎を通して水を吸引した時の吸引速度より算出した。

4. 研究成果

4. 1 中性子ラジオグラフィおよび重水トレーサを用いた苗木内蒸散流の可視化

トマト接木苗の台木にはカゲムシャを、穂木にはモモタロウを用い、斜め接ぎの苗木を育成した。冷中性子ラジオグラフィ装置にはドイツ、HZB 研究所の CONRAD を用いた。本イメージングに適した台木、穂木の支え方法について検討したところ、中性子ビームを比較的透過するシリコンチューブが適することが

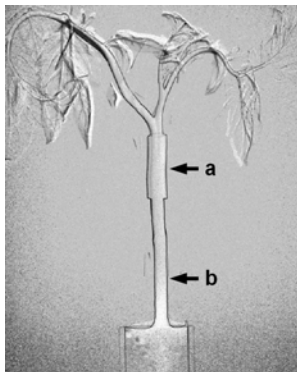


図 3 : 接ぎ木苗における D_2O トレーサの移動. a.接ぎ木部位 b.供給後 2 時間 30 分後における重水トレーサの位置

明らかになった。また、接木作業から 3 日から 5 日経過しても台木と穂木が未活着のときは D_2O トレーサの移動がきわめて遅く (図 3)、未活着部分が水移動に与える抵抗が大きいことが予測された。

4. 2 X線マイクロ CT を用いた接木部位の組織観察

ドイツ、HZB 研究所の X 線マイクロ CT を用いたトマト接木部位の組織観察を行ったところ、各組織の X 線に対する透過度がほぼ同じで、組織の状態を可視化することはできなかった。一方、BAM-Line のシンクロトロン X 線 CT 装置を用い、バラ茎の CT では、Phase retrieval アルゴリズムを用い画像を改善することで個々の細胞が識別でき、接木部位の組織観察に適用できることが明らかになった。よってシンクロトロン X 線 CT を利用することで接ぎ木部位の組織観察が可能であると考えられた。

4. 3 斜め接ぎおよびピン接ぎにおける接木部位の組織観察

トマト接木苗の台木にはフレンドシップを、穂木にはハウス桃太郎および麗容を用い、斜め接ぎ、および、ピン接ぎの苗木を育成した。根の上部で切断した苗に蛍光プローブを与えたところ接ぎ木部位における水の流れを可視化可能であることが明らかになった。斜め接ぎおよびピン接ぎにおける接ぎ木部位の観察を行ったところ、ピン接ぎで認められた組織癒合部の肥大は、斜め接ぎでは現れなかった。また、ピン接ぎにおいては組織癒合部上部にアントシアニンによると考えられる紫色の発色が認められたが、斜め接ぎでは見られなかった。アントシアニンはストレス反応によって発現することが多いため、ピン接ぎは斜め接ぎより水ストレスのかかる程度が高いと推察された。

4. 4 苗木接合部の水の動態と形成層の発達過程

ナス台木に接ぎ木したトマト (ナス台トマト)、トマト台木に接ぎ木したトマト (共台トマト)、接ぎ木をしないトマト (自根トマト) の接ぎ木部分の通導抵抗と、形成層上部および下部の発達の程度を示す茎径比を比較した。その結果、茎径比の値が高いほど通導抵抗値も高い傾向にあり、特にナス台トマトで顕著であった (図 4)。接ぎ木不親和の程度が増すことで、通導抵抗も増加すると推察された。

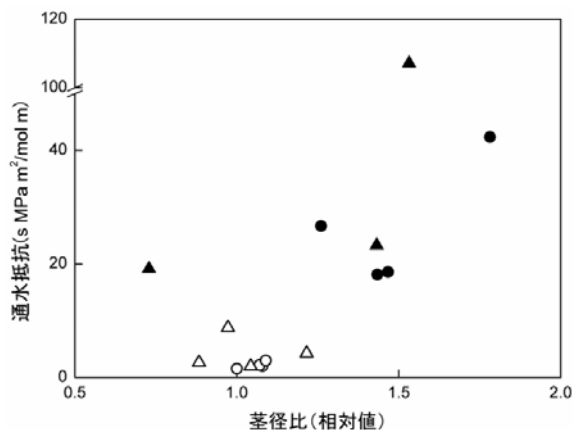


図4：茎径比と通導抵抗の関係

○:8/24 播種共通トマト, △:9/8 播種共通トマト
●:8/24 播種ナス台トマト, ▲:9/8 播種ナス台トマト

4. 5 接ぎ木不親和と Brix 糖度の関係

不親和の起こりやすいナス台木とトマト穂木に実ったトマト果実では、糖含量が上昇し甘い果実が収穫できる。ナス台トマトの茎径比は共通トマトの約 1.5 倍以上の値となり、また、茎径比の値が高いほど Brix 値も高くなる傾向がみられた (図5)。一方、接ぎ木部における通水性の低下により水ストレスがかかりやすい。すなわち、茎径比は接ぎ木不親和の程度を表し、不親和の程度が大きいほど糖度が増加すると推定された。通導抵抗は植物にかかる水ストレスと関係が深いことから、まず接ぎ木接合部の不親和による通導抵抗の増加によってナス台トマトに水ストレスがかかり、その結果 Brix 値が上昇したと考えられた。また、地上部の乾物重と根の乾物重の比である s/r 比は、Brix 糖度および通導抵抗と相関が見られた。すなわち、根の生長も接ぎ木不親和によって抑制されることが明らかになった。

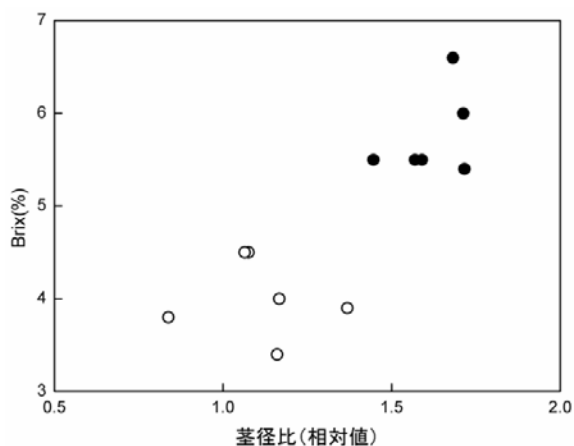


図5：茎径比と Brix の関係

○:共通トマト ●:ナス台トマト

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① U. Matsushima, W. Graf, N. Kardjilov and W.B. Herppich, Non-Destructive Measurement of Water Flow in Small Plants Using Cold Neutron Radiography – an Application to Investigate Bent-Neck Symptom of Cut Roses, Acta Hort., 858, 2010, 378-392.査読有
- ② Matsushima, U. et al., Estimation of water flow velocity in small plants using cold neutron imaging with D₂O tracer, Nucl. Inst. Met. Phys. Res. A, 605, 2009,146-149.査読有
- ③ Matsushima, U. et al., Application potential of cold neutron radiography in plant science research, J. Appl. Bot. Food Qual., 82, 2008, 80-98.査読有

[学会発表] (計7件)

- ① Matsushima, U., Yamada, Y., Shono, H., Okada, M., Simple spectrography by using fluorescent dye to evaluate water-uptake capability of cut flowers, 28th International Horticultural Congress,2010, August 22-27,Lisbon, ポルトガル
- ② 松嶋卯月ら, 温度を変化させたトマト根域における水移動の可視化, 農業環境工学関連学会 2009 年合同大会, 2009 年 9 月 15 日-18 日, 東京大学, 東京
- ③ Matsushima, U. et al., Calculation of flow vector in plants by non-destructive imaging using neutron radiography, Imaging analysis for agricultural products and processes, 2009 年 8 月 27 日-28 日, ポツダム, ドイツ
- ④ Matsushima, U. et al., Investigation of water movement in plants using cold neutron radiography with D₂O tracer, The 9th Japan-Korea Meeting on Neutron Science, 2009 年 2 月 9 日-10 日, 釜山, 大韓民国

- ⑤ Matsushima, U. et al., In-situ visualization of water flow in seedlings - Application of cold neutron radiography with D₂O tracer and the influences for plants -, Agricultural and Biosystems Engineering for a Sustainable World AgEng 2008, 2008年6月23日-25日, クレタ島, ギリシャ
- ⑥ Matsushima, U. et al., Non-destructive evaluation of water movement and water relations in plants using cold neutron radiography with D₂O tracer, Neutrons and X-rays meet Biology, Berlin, 2009年2月25日-17日, Helmholtz Center of Berlin Materials and Energy, ドイツ
- ⑦ Matsushima, U. et al., Estimation of water flow velocity in small plants using cold neutron imaging with D₂O tracer, 6th International Topical Meeting on Neutron Radiography ITMNR-6, Kobe, 2008年9月14日-18日, 神戸大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松嶋 卯月 (MATSUSHIMA UZUKI)

岩手大学・農学部・准教授

研究者番号：70315464