

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月20日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580034

研究課題名（和文） 高温、強日射下で誘導されるキクの黄斑症発生メカニズムの解明

研究課題名（英文） Studies on mechanism of yellow-leaf-spot occurrence induced by high temperature and irradiation in chrysanthemum.

研究代表者

後藤 丹十郎 (GOTO TANJYURO)

岡山大学・大学院環境生命科学研究科・教授

研究者番号：40195938

研究成果の概要（和文）：キクの葉身部分に発生する黄斑の発生要因を調査した。キトサンや二酸化チタンなどの活性酸素消去系物質により黄斑が軽減した。また、活性酸素を増大させるABA処理により黄斑が増大した。これらのことから、黄斑発生に活性酸素種が関与している可能性が高まった。高温多湿環境下の人工環境内で黄斑を発生させることができた。さらに、発生した黄斑の程度を数値化する試みとして、画像処理により黄斑の面積や色を指標とした黄斑度を定義した。

研究成果の概要（英文）：Factor of yellow-leaf-spot occurrence induced by high temperature and irradiation in chrysanthemum were investigated. Yellow-leaf-spot was decreased by chitosan or titanium dioxide. ABA treatment increased yellow-leaf-spot. Thus, a possibility that reactive oxygen species cause yellow-leaf-spot occurrence increases. On artificial environment under high temperature and humidity, yellow-leaf-spot could be occurred. Graphics processing could define yellow-leaf-spot degree which made yellow area or color the index.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：園芸学

科研費の分科・細目：農学、園芸学・造園学

キーワード：黄斑、キク、活性酸素、高温、強日射

1. 研究開始当初の背景

近年、キクの切り花で葉身部分に黄色の斑点（以下黄斑症）が発生する現象が起っており、切り花品質を低下させ、生産現場では大きな問題となっている。黄斑症は葉の縁から淡黄色の斑点が発生し、症状が

ひどくなるにつれて斑点が濃黄色となり、次第に中心部に拡大していく。大輪白ギク品種で花形がよく花卉が純白である‘精興の誠’も黄斑の発生が重大な要因となり市場評価が大きく低下している。他の品種も

程度は異なるが、特に9～10月の高温期に収穫する作型において発生し、日本で栽培されている品種の約半数で葉身に黄斑が発生すると言われている。これまでの実験結果から黄斑は高温、高日射期に発生度が高く、低温、低日射期に低いことが明らかになっている。また、黄斑を誘発する温度要因としてまず高温があり、その後の温度低下によって症状の進行が促進されると述べている。これらのことから、一般に植物が過剰な光条件下に置かれた際に生じ、生理障害を及ぼす活性酸素種が黄斑の発生に関係している可能性がある。

2. 研究の目的

キクの葉身部分に黄色い斑点が発生し、切り花品質が低下することが大きな問題になっている。申請者らは、高温強日射下で黄斑の発生が著しいことから、黄斑症は光過剰障害によるクロロフィル崩壊、すなわち活性酸素が主要因でないかと考えている。本研究では、黄斑発生の異なる品種を用いて、黄斑発生を増大する条件を特定し、この条件を用いて、活性酸素種の生成量との関連、クロロフィル蛍光測定による光感受性との関連、気孔開孔反応との関連を調査することによって、黄斑発生のメカニズムを明らかにするとともに、その防止策の開発を最終目標とした。

3. 研究の方法

(1)活性酸素消去系物質を含む物質の散布

精興の誠、精興の勝、ウインブルドンを供試した。活性酸素消去系物質を含む物質を5日毎に散布した。散布剤として、過酸化水素(0.1%, 1%), TiO_2 1%懸濁液、キトサン(0.12%, 0.6%), ABA200ppm, 2,6-ジクロロイソニコチン酸(0.01mM, 0.1mM)、水の9処理区とした。また、処理開始10日、20日、30日、40日、50日後に黄斑発生度を調査、

50日後に節数、茎長、新鮮重、茎重を調査した。各処理区の処理開始時に展開直後であった節位の葉を0, 1, 2, 3日目の13:00にサンプリングし、葉内過酸化水素含量、SOD活性、CAT活性を定量した。2ヶ月ごとに実験を行った。

(2)環境条件が黄斑発生に及ぼす影響

実験は50%遮光の寒冷紗を被覆した寒冷紗区、50%遮光の寒冷紗で被覆し、さらに細霧冷房を設置した寒冷紗+細霧冷房区、熱線遮蔽フィルム「メガクール」で被覆したメガクール区、紫外線カット区、対照区の5処理区を設けた。寒冷紗区と寒冷紗+細霧冷房区はガザニアハウスに設け、メガクール区は西雨除よけハウスに、紫外線カット区は東雨よけハウス、対照区は西ハウスに設けた。実験開始10, 20, 30日後に黄斑症を調査し、30日後に茎長、新鮮重、茎重、節数を調査した。

(3)気孔コンダクタンスの測定

環境制御室内に設置した棚の側面2方向に32W Hf 3波長蛍光灯を各4本設置し、PPFD 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ を得た。さらに強い光を得るために100W電球型蛍光灯4個と500Wハロゲンランプ3個を設置し、照明時間はタイマで設定した。気孔コンダクタンスの測定はリーフポロメータで行い、供試植物は3品種のキク、精興の勝(黄斑が発生しない品種)と精興の誠、ウインブルドン(黄斑が発生する品種)をそれぞれ2株ずつ用いた。環境条件はPPFD 0~600 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、温度20, 25, 30 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度80%、明期15時間・暗期9時間とした。1株につき3枚の葉を選び、明期開始前にPPFD 0 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の値を測り、気孔開度が安定した点灯30分後から1時間ごとに6回の測定を行った。

(4)黄斑度の設定

環境制御室内において実験を行った。光源は500Wハロゲンランプを使用した。吸熱と集

光のために、水を入れた円柱状の瓶を植物体と光源の間に配置し、植物体付近の温度上昇を2℃以下に抑え、光量は最大PPFD 1200 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ を得た。照明時間は明期15時間、暗期9時間とした。光源は植物体の上方仰角30°に設置し、葉に対して正面から光を当てた。供試植物は、黄斑の発生しやすい品種であるウインブルドンを使用した。温度は前年の研究で気孔応答に差があった25, 30℃に、湿度も気孔応答と関係があると考え40, 70%に設定し、これらを組み合わせた4種類の環境下でそれぞれ10日間実験を行った。黄斑の計測は1株につき異なる光量の3, 4枚の葉を選び、1日1回デジタルカメラで撮影し、画像処理ソフトを用いて黄斑の個数と面積、色情報を求めた。

4. 研究成果

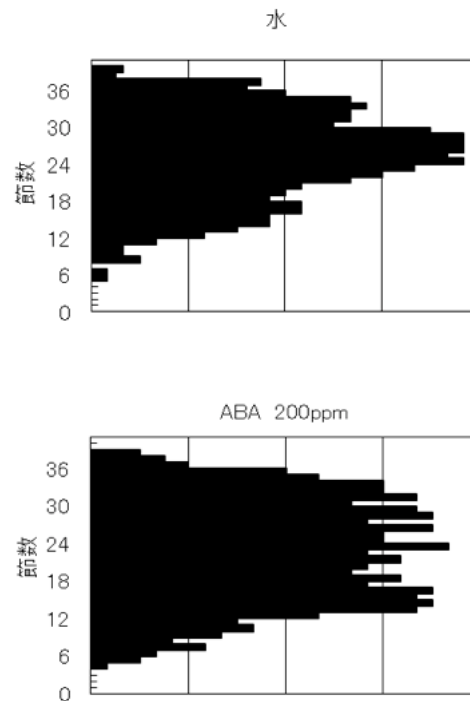
(1) 活性酸素消去系物質を含む物質散布

‘精興の誠’では栽培時期により黄斑発生度に変化が見られた。‘ウインブルドン’はどの栽培時期でも黄斑発生が見られた。両品種とも強光、強日射条件の夏季に黄斑発生度が高まった。‘ウインブルドン’は‘精興の誠’よりも黄斑発生が約1~2週間早く、黄斑発生度も大きかった。‘精興の誠’ではTiO₂1%, 6%キトサン溶液10倍処理で黄斑発生度が減少し、ABA100ppmで増加する傾向が見られた。‘ウインブルドン’でもTiO₂1%, 6%キトサン溶液10倍処理で黄斑発生度が有意に減少した。ABA100ppmで黄斑発生度が増加する傾向が見られた。また‘精興の誠’、‘ウインブルドン’共にH₂O₂含量, SOD活性, CAT活性について一定の傾向が見られなかった。

続いて、キトサンとABAにしぼって、季節ごとの影響を調べた。‘精興の誠’:キトサン処理により7月定植実験で黄斑発生度が有意に減少した(図1)。また3月, 5月定植実験でも減少する傾向があった。黄斑発生が多

い時期のキトサン散布は黄斑発生を抑制する性質があると言える。またABA処理により7月定植実験の200ppm区で黄斑発生度が有意に増加した(図1)。3月, 5月定植実験でも増加する傾向があった。

‘ウインブルドン’:キトサン処理により3月定植実験の0.6%と1.2%, 5月定植実験, 7月定植実験, 10月定植実験で黄斑発生度が有意に減少した。キトサンは年間を通じて黄斑発生を抑制する性質があると言える。ABA処理により3月定植実験の300ppm区, 5月定植実験の2日ごと散布100ppm区で黄斑発生度が有意に増加した。以上より‘精興の誠’‘ウインブルドン’ともにキトサン処理により黄斑発生が抑制されていた。ABA処理については時期により影響にばらつきがあるが、黄斑発生を助長させていた。本研究の範囲では、黄斑発生度と活性酸素種との間に明確な関係は認められなかった。本研究では、散布後1日単位で分析しているが、散布数時間後では活性酸素種の変動がみられる傾向があり今後詳細な分析が必要であろう。



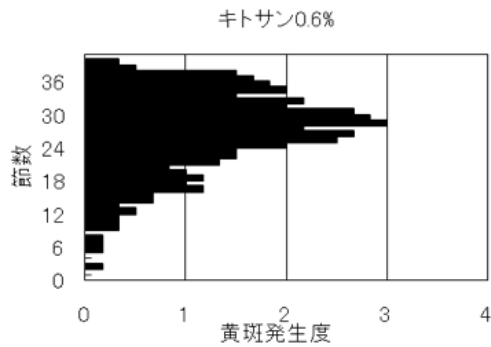


図1. キトサン、ABA 散布が‘ウインブルドン’の黄斑発生度に及ぼす影響 処理開始時に展開中の節位を0とした。

(2) 環境条件が黄斑発生に及ぼす影響

‘精興の誠’は寒冷紗+細霧冷房区で茎長が最も長くなったが、新鮮重は最も小さかった。‘ウインブルドン’でも寒冷紗+細霧冷房区で茎長が最も長かった。寒冷紗区、寒冷紗+細霧冷房区で新鮮重が小さくなり、寒冷紗区新鮮重、茎重が最も小さかった。精興の誠’では寒冷紗区で黄斑発生が早くなった。‘ウインブルドン’は調査開始時にすでに黄斑が発生していた。‘精興の誠’‘ウインブルドン’ともに被覆資材による黄斑発生率の違いは見られなかった。両品種とも黄斑発生率は100%であった。

‘精興の誠’では、全体的に黄斑発生度が高かった。対照区と比較して寒冷紗区で黄斑発生度が増加、寒冷紗+細霧冷房区で減少する傾向があった。‘ウインブルドン’では、全体的に黄斑発生度が高かった。‘対照区と比較して寒冷紗+細霧冷房区で黄斑発生度が有意に減少した。

以上より寒冷紗+細霧冷房区で‘精興の誠’‘ウインブルドン’ともに黄斑発生度が減少する傾向が見られた。一年前の夏季実験の同処理区よりも黄斑発生度が減少した、これは前年の同処理区よりも最高気温が約2℃、平均気温が約1.5℃低かったことによるもの

であると考えられた。これより黄斑が多く発生する温度域が存在するものと考えられる。寒冷紗や細霧冷房などの資材を使用することで黄斑が発生しやすい温度域を避けることにより黄斑発生を抑制できるのではないかと考えられた。

(3) 気孔コンダクタンスの測定

図2～4に光強度と気孔コンダクタンスの関係を示す。なお、気孔コンダクタンスの値は個々の葉で異なるので最小値を0、最大値を100として正規化した。黄斑が発生しない品種(図2)はどの温度条件下でもPPFD 300 μ mol/m²/sまで増加し、それ以上の光強度では減少する傾向が見られた。これは活性酸素の生成を少なくするため、気孔開度を小さくしようとする応答と考えられた。これに対して黄斑が発生する品種(図3, 4)は、強光下で減少する場合も見られたが、再び増加するなど気孔応答は一定ではなかった。特にウインブルドンの25℃では強光下でも減少せず、高い値を保った。30℃よりも25℃以下で気孔開度が大きいことは、秋口に黄斑が発生しやすいという現象と関係があると思われる。黄斑が発生する品種では強光条件だけではなく、温度など他の環境条件の影響も受けることが示唆された。

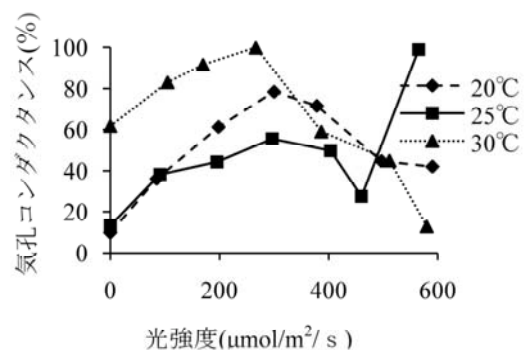


図2 精興の勝

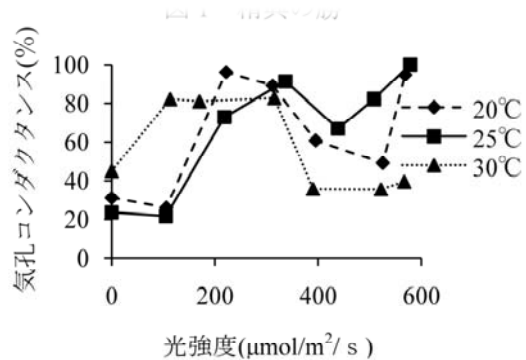


図3 精興の誠

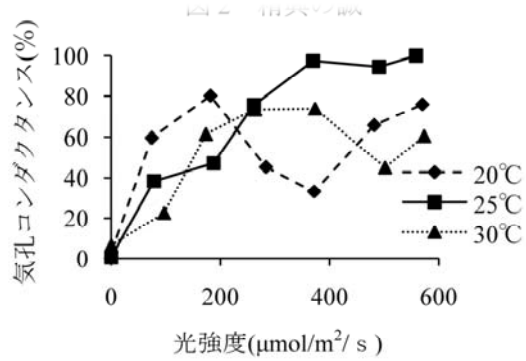


図4 ウィンブルドン

(4)黄斑度の設定

実験の結果、今回の環境下で黄斑を発生させることができた。発生は強光や高温、高湿下で顕著であった。黄斑の程度は、まず面積を比較した。葉の大きさはそれぞれ異なるため、葉面積に対する黄斑の合計面積の割合を黄斑面積比とした(図5)。面積比により、6日目から発生した黄斑が増えていく様子を計測できた。つぎに黄斑の色は、進行に伴って緑色から黄色、茶色と変化したのでG成分に着目しRG比($G/(R+G)$)を算出した(図5)。RG比は黄斑の進行に伴う色変化を計測できた。面積比、RG比のいずれかでも黄斑の程度を計測可能だが、同じくらいの面積比でも色が異なれば程度は違うと考え、黄斑度はこれらの和とした。RG比の値は、今回の黄斑では最大0.55で時間とともに減少するので、0.56からの差分が面積比の0.1~1倍となるように係数を設定した。

$$Y = A + 10A(0.56 - C)$$

ここで Y は黄斑度、 A は面積比、 C はRG比である。 Y が大きいほど黄斑が進行していることを示している。黄斑度(図5)により、9日目から10日目の面積比はあまり変化しないが黄斑は進行した様子も数値化できた。

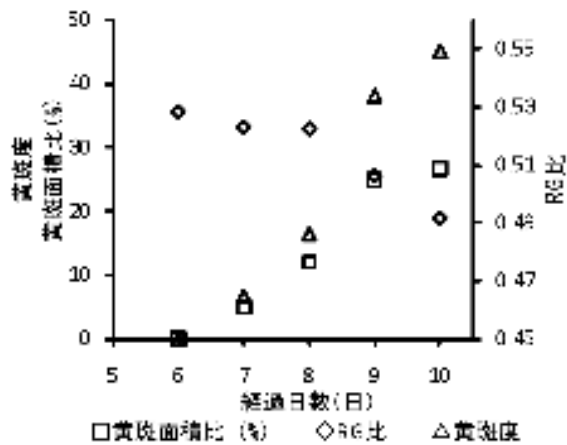


図5 日数経過に伴う変化

(PPFD $924 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)

黄斑度と環境条件の関係の一例として、光量が多いほど黄斑が進行している様子を図6に示す。このように黄斑度を設定し、数値化することによって客観的な評価を得ることができ、環境条件との関係も計算することが可能になった。

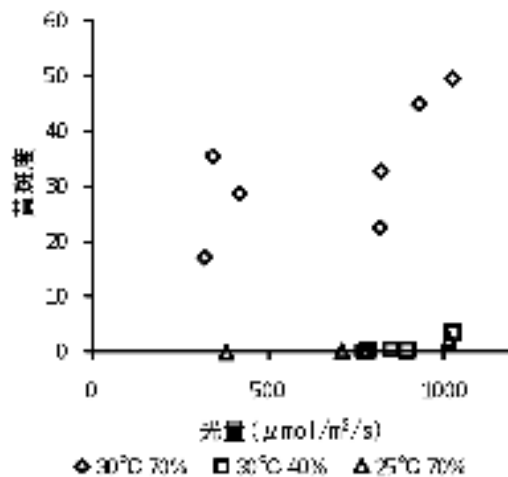


図6 黄斑度と光量(10日目)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

- ① 後藤丹十郎・山口訓史・藤田紫乃・四谷

亮介、気温および地温がキク‘精興の誠’の黄斑発生に及ぼす影響、岡大農学術報告、査読無、101巻、2012、33-37、<http://ousar.lib.okayama-u.ac.jp/journal/srfa/101>

- ② 難波和彦・門田充司・後藤丹十郎・成松明洋、キクの黄斑発生に関わる環境条件に関する研究-黄斑度の設定-、農業機械学会関西支部報、査読無、110、2011、42 (2011)

[学会発表] (計7件)

- ① 四谷亮介・後藤丹十郎、活性酸素消去系物質を含む物質の散布がキクの黄斑症および活性酸素種に及ぼす影響、生物環境工学会2011年札幌大会、2011年9月7日、札幌市
- ② キクの黄斑発生に関わる環境条件の検討-黄斑の計測方法-、江口直輝・難波和彦・門田充司・後藤丹十郎、生物環境工学会2011年札幌大会、2011年9月7日、札幌市
- ③ 難波和彦、門田充司、後藤丹十郎、成松明洋、キクの黄斑発生に関わる環境条件に関する研究-黄斑度の設定-、農業機械学会関西支部第125回例会、2011年3月2日、堺市
- ④ 活性酸素誘発剤の散布がキクの黄斑発生および活性酸素種に及ぼす影響、後藤丹十郎・藤田紫乃・四谷亮介：生物環境工学会2010年福岡大会、2010年9月9日、京都市
- ⑤ Goto, T., Yamaguchi N., Fujita S. and Yotsuya R.、Occurrence of leaf-yellow-spot in chrysanthemum as

affected by air, medium temperature and solar irradiation, : 28th 国際園芸学会2010年8月25日、リスボン

- ⑥ 後藤丹十郎・山口訓史・藤田紫乃、キクの黄斑発生に関する環境要因、生物環境工学会2009年福岡大会、2011年9月7日、福岡市
- ⑦ 山口訓史・藤田紫乃・内田みどり・後藤丹十郎、地温および気温がキクの黄斑発生に及ぼす影響、：園芸学会平成21年度春季大会、2009年3月19日、東京

[図書] (計1件)

- ① 後藤丹十郎、農文協、キクをつくりこなす。生理障害、2011、215 (180-190)

[産業財産権]

出願状況 (計0件)

[その他]

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤丹十郎 (GOTO TANJYURO)
岡山大学・大学院環境生命科学研究所・教授
研究者番号：40195938

(2) 研究分担者

難波和彦 (NANBA KAZUHIKO)
岡山大学・大学院環境生命科学研究所・准教授
研究者番号：90263623