

富山県農林水産総合技術センター 農業研究所研究報告

第 9 号

令和4年3月

富山県農総セ農研研報

Bull. Toyama Agr. Res. Inst.

No. 9 Mar. 2022

富山県農林水産総合技術センター
農業研究所
(富山市吉岡)

富山県農林水産総合技術センター農業研究所研究報告 第9号 (1~50頁)

目 次

- 1 新たな富山米ブランド品種「富富富」の育成
村田和優・伊山幸秀・山口琢也・木谷吉則・村岡裕一・前田寛明・藤田健司・
尾崎秀宣・池川志穂・池田博一・福岡修一・小島洋一郎・蛭谷武志 1

- 2 土壌の可給態ケイ酸の診断におけるリン酸緩衝液抽出法の適用性
山田宗孝・廣川智子・小池 潤・中田 均・清水雅代・東 英男 15

- 3 タマネギ収穫・乾燥方法が細菌性のりん茎腐敗症の発生に及ぼす影響
三室元気・守川俊幸 23

- 4 育苗期のタマネギに発生した *Phytophthora nicotianae* および *Pantoea ananatis* による病害
守川俊幸・三室元気・田村美佳・宮元史登 31

- 5 チューリップ「夢の紫」の組織培養による小球根育成方法
池川 志穂・荘司 和明 39

新たな富山米ブランド品種「富富富」の育成

村田和優・伊山幸秀¹⁾・山口琢也²⁾・木谷吉則・村岡裕一・前田寛明³⁾・藤田健司⁴⁾・
尾崎秀宣⁵⁾・池川志穂⁴⁾・池田博一⁴⁾・福岡修一⁶⁾・小島洋一朗・蛭谷武志⁷⁾

Kazumasa MURATA, Yukihide IYAMA, Takuya YAMAGUCHI, Yoshinori KIDANI, Yuichi MURAOKA,
Hiroaki MAEDA, Kenji FUJITA, Hidenobu OZAKI, Shiho IKEGAWA, Hirokazu IKEDA,
Shuichi FUKUOKA, Yoichiro KOJIMA, Takeshi EBITANI : Development of an Elite Toyama-Rice
Cultivar, "Fu-Fu-Fu"

I 緒言

富山県における2017年の水稲作付面積は、作期別に早生・中生・晩生がそれぞれ5,450ha (14.5%)、27,860ha (74.1%)、4,290ha (11.4%)で作付けされている。このうち、中生の基幹品種は「コシヒカリ」であり、同年の作付面積は27,750haである(富山県調べ)。ほぼすべての中生を「コシヒカリ」が占める状況といえるが、ここには、近年のコメ生産は全国各地でブランド化が進み良食味品種への作付けが集中している背景がある。しかし、「コシヒカリ」は稈長が長く、台風やフェーンによる強風、長雨等によって倒伏しやすい。また、いもち病の抵抗性遺伝子を持たないため、葉いもちや穂いもちに罹りやすい品種である。加えて、「コシヒカリ」は登熟期に高温に遭遇すると白未熟粒、とくに基白粒や背白粒が発生しやすく、玄米外観品質(以後、玄米品質)が低下してしまう等の栽培上の課題を持つ。とくに近年は世界的な温暖化傾向により、記録的な高温や長雨、強大な台風が発生しやすくなっている。本県の早生の基幹品種である「てんたかく」や晩生の基幹品種である「てんこもり」は、ともに「コシヒカリ」よりも短稈で耐倒伏性に優れており、また高温登熟性にも優れていることから安定した生産性を見込むことができるものの、「コシヒカリ」については、気象面からその課題が顕著に表れやすく、生産性が不安定な状況下にある。

富山県と(株)植物ゲノムセンターは、「コシヒカリ」の遺伝的背景に、半矮性遺伝子*sd1*と異なるいもち病真性抵抗性遺伝子を付与することで、短稈化による耐倒伏性といもち病抵抗性を備えた「コシヒカリ富筑SDBL」シリーズ(登録番号第20604号～20612号)を9系統育成している(蛭谷ら2009)。半矮性遺伝子*sd1*は、植物の伸長に重要な役割を担う植物ホルモン「ジベレリン」を合成するGA20酸化酵素(GA20 oxidase 2)遺伝子*Sd1*の変異遺伝子である。遺伝子型が*sd1*ホモ型になると合成系が不完全となり、機能が低いジベレリンしか生産されないため伸長が抑制される(Ashikari et al. 2002)。「コシヒカリ富筑SDBL」にそれぞれ導入されているいもち病真性抵抗性遺伝子の多くは、まだ遺伝子が単離されていないものの、数多くのいもち病菌株を用いた試験により、レース特異的に抵抗性反応をもたらすことが精査されている(林 2005)。「コシヒカリ富筑SDBL」それぞれの収量や食味および玄米品質は、「コシヒカリ」と同等であるが、いずれも稈長が「コシヒカリ」より15cm程度短く、そのため耐倒伏性に非常に優れるとともに、導入された真性抵抗性遺伝子の効果により、葉いもちに極めて強い(蛭谷ら2009)。

しかしながら、イネのいもち病を含め、作物の病害対策として特定の抵抗性遺伝子を連用すると、菌の変異によって抵抗性を獲得した耐性菌が現れる、いわゆる「ブレイクダウン」を起こす恐れがある(浅賀 1995)。この危険性を回避する方

1) 現在:高岡農林振興センター、2) 現在:砺波農林振興センター、3) 現在:富山県農業経営課、4) 現在:富山県農産食品課、5) 現在:富山県農業技術課、6) 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究部門、7) 前農業研究所

策として、異なるいもち病真性抵抗性遺伝子をそれぞれ備えた系統を個別に育成し、これらを混植して栽培する「マルチライン栽培」がある(小泉ら1996)。1994年にいもち病に対する「ササニシキBL」シリーズがマルチラインとして初めて実用化された(佐々木ら2002)。また、新潟県は「コシヒカリ新潟BL」シリーズの実用化に向けて、それぞれの抵抗性遺伝子をもった「コシヒカリ」NILを育成するとともに最適な混合比率を検証した。その結果、2010年から県内で栽培される「コシヒカリ」が全面的に「コシヒカリ新潟BL」シリーズのマルチラインに置き換わっている。すなわち、「コシヒカリ新潟BL1号(*Pia*)」、「BL2号(*Pii*)」、「BL3号(*Pita-2*)」および「BL4号(*Piz*)」を、それぞれ10%、20%、50%および20%で混合したマルチラインによって、高い発病抑制効果を発揮しながらも、原品種の「コシヒカリ」との間に収量等の栽培特性や食味に有意な差は認められず、極めて同質性が高い栽培体系を実現している(石崎2010)。マルチラインは病害抵抗性を永らく持続させるための有効な方策であるが、その育成と同質性の維持の検討には相当の労力を要する。

Fukuoka et al. (2009) は、イネがいもち病に感染しても病斑の拡大を抑制する圃場抵抗性遺伝子 *pi21* を特定し、その作用機作を明らかにした。この遺伝子は、プロリンを多く含むアミノ酸配列と金属結合部位を持つ独特な構造のタンパクをコードする。罹病性の対立遺伝子である *pi21* の作り出すタンパクは生体防御応答を抑制する機能があるため、正常に機能すると、イネへのいもち菌の侵入後に菌糸が拡がりやすく病斑が拡大してしまう。一方、抵抗性の対立遺伝子である *pi21* が作り出すタンパクは、菌の侵入は抑制しないが、細胞内での菌糸の進展を抑制することで病斑が拡がりにくくなることを明らかにした。福岡と坂(2013) はさらに、「コシヒカリ」の遺伝的背景に *pi21* を付与した「ともほなみ」(登録番号 第24013号) を育成した。「ともほなみ」の食味は「コシヒカリ」並みに優れ、収量性は「コシヒカリ」とほぼ同等の評価を得ている(坂ら2012)。これらのことから、真性抵抗性遺伝子と圃場抵抗性遺伝子を組み合わせることで、マルチラインと同様に真性抵抗性遺伝子の有効性を持続させることが可能と考えられる。

近藤ら(2006) は、「コシヒカリ」において、出穂後20日間の平均気温が27℃を超えると白未

熟粒が多発することを明らかにしている。白未熟粒の多発は玄米検査等級の低下を招き、米の買い取り価格に影響するが、近年は全国的に夏場の高温化が顕著であり、白未熟粒が発生しやすい状況となっている。本県においてもこの状況を回避するために、2003年度から「コシヒカリ」の移植時期をGWよりも遅い5月15日を中心とした田植えを実施しているが、栽培技術の改善だけでは環境変動への対応が十分とは言えない。実際に、2010年や2013年には移植時期を繰り下げたにもかかわらず「コシヒカリ」の登熟期に記録的な猛暑に遭遇し、玄米品質が大きく低下している(小島2019)。そのため、優れた高温登熟性をもつ品種を開発することは、本県を含め喫緊の課題となっている。

我々は、「コシヒカリ」を遺伝的背景とするインド型品種「ハバタキ」の染色体断片置換系統群(CSSLs: chromosome segment substitution lines)を用いた解析により、「ハバタキ」の第7染色体に高温下で登熟しても「コシヒカリ」の玄米品質を向上させる対立遺伝子 *Apq1* (*Appearance quality of brown rice 1*) が存在することを明らかにしている(蛭谷ら2011、Murata et al.2014)。後に、この高温登熟性遺伝子 *Apq1* は、子実器官でのデンプン合成系の初端を担うショ糖合成酵素(Sucrose Synthase 3)の対立遺伝子であることが明らかになった(Takehara et al. 2018)。*Apq1* は、高温下でも「コシヒカリ」型の遺伝子(*apq1*)に比べ強く発現し、デンプン合成能がより強いために外観品質が高くなると考えられた(Takehara et al. 2018)。我々は、*Apq1* の各農業形質に対する影響を評価するとともに、品種育成の中間母本として活用するため、*Apq1* に関するコシヒカリ準同質遺伝子系統(NIL)として「富山80号」を育成し(蛭谷ら2013a)、後にこれを「コシヒカリ富山APQ1号」として品種登録出願した(出願番号30061号)。「コシヒカリ富山APQ1号」は、高温登熟条件下で「コシヒカリ」よりも明らかに高い整粒比率を示し、また収量、食味を含む他の農業形質については、「コシヒカリ」と同等であることから、*Apq1* の利用により高温登熟性を向上させる育種の可能性が見出されている(蛭谷ら2015)。

以上のように、本県における中生の基幹品種「コシヒカリ」については、その収量や食味に影響せず、栽培上の諸課題をそれぞれの遺伝子に由

来する根拠に基づいて改良した系統が育成されている。我々は、これら系統のもつ有用な遺伝子を「コシヒカリ」に集積して、「コシヒカリ」の特長を維持しつつ、高温登熟性、耐倒伏性およびいもち病抵抗性に優れた品種「富富富」を育成したので、その育成経過と特性をここに紹介する。

II 選抜手法

1 DNAマーカー選抜

DNA抽出および遺伝子型の決定は、蛸谷ら(2013b)の手法に従って実施した。個体別に1~2cmの葉片をサンプリングし、300 μ lの抽出バッファー(10mM EDTA, 1M KCl, 100mM Tris-HCl(pH8.0))に入れ、マルチビーズショッカー((株)安井器械製)で葉を傷つけることによりDNAを溶出した。次に、DNAを含む抽出バッファーを等量のイソプロパノールと混合し、遠心分離によってDNAを沈殿させた後に上清を捨て、70%エタノールで洗浄した。風乾後、保存液(0.1 \times TEバッファー)にDNAを溶かした。

抽出したDNAの遺伝子型は、PCR(Polymerase chain reaction)により増幅されたDNAのバンドサイズで検出した。PCRの反応液組成は、0.5 μ lの鋳型DNA溶液、1 μ lの10 \times バッファー、1.5 μ lの2mM dNTPs溶液、1.5 μ lのチューニングバッファー((株)北海道システムサイエンス)、0.1 μ lのG-TaqDNAポリメラーゼ((株)北海道システムサイエンス、5U/ μ l)、0.25 μ lの20pMに調整したプライマー対(DNAマーカー)、4.9 μ lの滅菌水とした。PCRの条件は、DNA変性95 $^{\circ}$ C/20秒、アニーリング55 $^{\circ}$ C/60秒、伸長反応72 $^{\circ}$ C/30秒の35サイクルで行った。PCRで増幅したDNAを3%アガロースゲル中で電気泳動し、アガロースゲルを臭化エチジウムで染色し、紫外線照射したDNAバンドのパターンを読みとった。また、選抜系統に対するコシヒカリとの遺伝的同一性を検証するゲノム解析として、ゲノム全体を包含する768個のSNPについてイルミナ社のゴールデンゲートアッセイによるSNP解析を行った(Nagasaki et al. 2010)。

2 特性検定

生産力検定は、農業研究所内圃場(富山市)において、早植え(4月下旬植え)試験と標準植え(5月中旬植え)試験で行った。栽培方法は「コシヒ

カリ」の栽培方法に準じた。特性調査について、出穂期、成熟期、稈長、穂長、穂数、倒伏程度、精玄米重、千粒重は、山本ら(1995)の方法に従った。玄米品質の調査は、1試験区あたり100粒の玄米(1.9mmで選別)を肉眼で整粒、背基白粒、腹白粒、心白粒、乳白粒およびその他粒(青未熟粒、奇形粒および茶米)のいずれかに分類し、それぞれの粒数を100粒あたりの百分率として評価に用いた。食味総合評価値(以後、食味値)は、食味用基準「コシヒカリ」を0として-2(不良)~+2(良)の9段階で評価した。味度は味度メーター((株)東洋精米機製作所製)を、精米蛋白含有率は近赤外分光分析計((株)ビュッヒ製)をそれぞれ用いて測定した。選抜系統に対するいもち病の抵抗性検定は、コシヒカリ、交配親および判別品種をともに供試して、噴霧接種法(山本ら1995)により抵抗性遺伝子型を調査するとともに、畑晩播検定法(山本ら1995)により葉いもちの圃場検定を実施した。

III 育成経過

「コシヒカリ富筑SDBL」のうち、実用に供されている「コシヒカリ富筑SDBL 2号」(半矮性遺伝子*sd1*、いもち病真性抵抗性遺伝子*Pita-2*および*Pii*をもつ)を母本親に、高温登熟性遺伝子*Apq1*をもつ「コシヒカリ富山APQ 1号」を父本親に用いて、2012年夏に交配を行った。得られた交配種子(F₁)を母本親に、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(農研機構)次世代作物開発研究センターが育成したいもち病圃場抵抗性遺伝子*pi21*をもつコシヒカリNIL「12-9367B」を父本親に用いて、2013年夏に交配を行った(図1)。2013年夏の交配で得られた108粒のF₁を同年10月に播種し、翌年3月にF₂種子を確保した。この間に表1に示すDNAマーカー選抜によって、*sd1*(第1染色体)、*Pita-2*(第12染色体)、*Apq1*(第7染色体)および*pi21*(第4染色体)を含む染色体領域がそれぞれヘテロ型の11個体を選抜した(図1)。

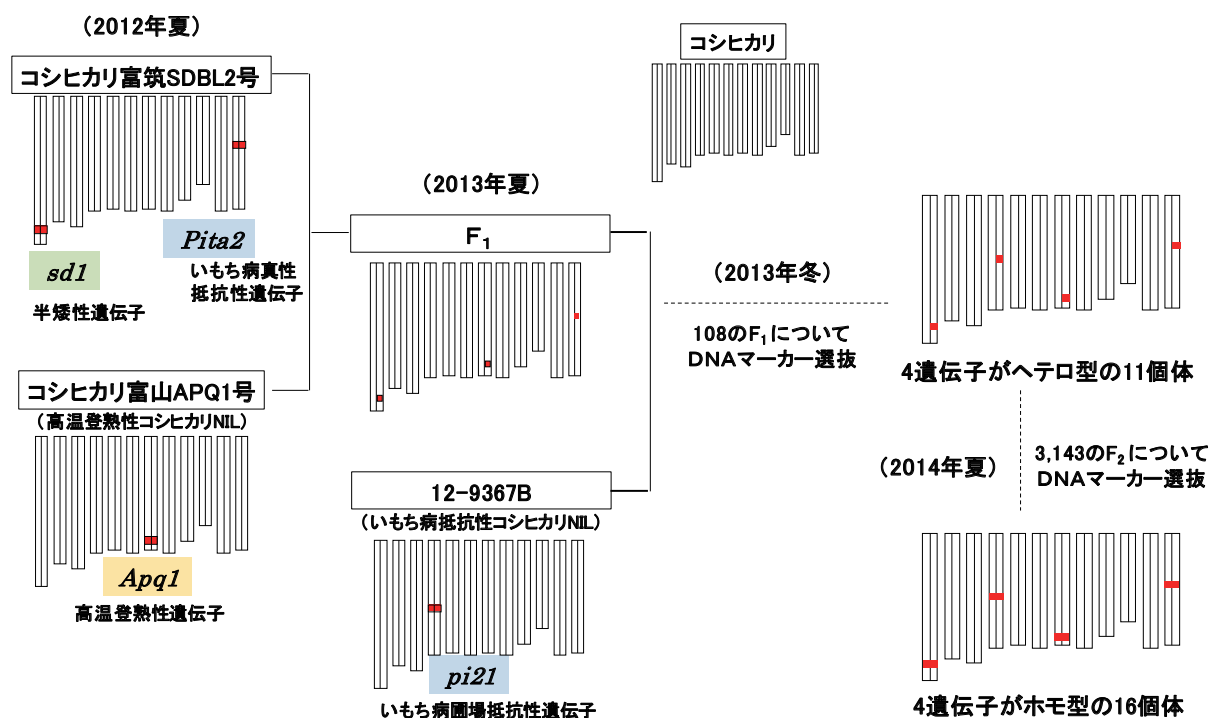


図1 「富富富」育成における交配経過とグラフ遺伝子型（概念図）

表1 選抜に用いたDNAマーカー

マーカー名	対象遺伝子座	染色体番号	プライマー対の塩基配列	
RM11982	<i>sd1</i>	1	5'-CGCGTTCTCCCTTCTTTCTACTCG-3'	5'-GTTACATGGGCCTCCAGCATAGG-3'
RM7102	<i>Pita-2</i>	12	5'-GGGCGTTTCGGTTTACTTGGTTACTCG-3'	5'-GGCGGCATAGGAGTGTTTAGAGTGC-3'
RM21972	<i>Apq1</i>	7	5'-TTCAGCCAAGAACAAGACAGTGG-3'	5'-CTTCTTTCATCCTCCTCCTTGG-3'
#79-37760	<i>pi21</i>	4	5'-GTACGACGTGAAGAACAACAGG-3'	5'-GCTTGGGCTTGCAGTCC-3'

RMのDNAマーカーは、イネゲノムデータベース(GRAMENE)において公開されている。

交配以後の選抜経過を表2に示した。11の選抜個体から由来する3,143のF₂個体を2014年に栽培し、*sd1*、*Pita-2*、*Apq1*および*pi21*を含む染色体領域がそれぞれホモ型の16個体を選抜した(図1)。それぞれの個体から得られたF₃を同年冬季の世代促進栽培で系統化した(と系1570~と系1585)。2015年にこの16系統(F₄)を栽培試験および畑晩播試験に供試し、いずれも優れた玄米品質と強い葉いもち病抵抗性を確認したが、収量性や食味およびゲノム解析による「コシヒカリ」との遺伝的同一性の評価から「と系1579」「と系1580」「と系1585」の3系統を選抜し、それぞれを「富山86号」「富山87号」「富山88号」とした(表3、図2)。

2016年に、この3系統(F₅)を農業研究所内の生産力検定に供試するとともに、県内7か所の農家圃場(入善町、黒部市、富山市、高岡市、小矢部市、南砺市)で「コシヒカリ」栽培体系に基づいた現地試験(手植え、機械植え)を行い、いずれの系統も同等の栽培特性であることを確認した(表4-1)。しかしながら、食味官能値が最も優れる系統は、「富山86号」であり、所内試験、現地試験のいずれの系統比較においてもその結果が同じであった(表4-2)。さらに、この3系統について、日本穀物検定協会、富山米新品種食味評価会、富山米新品種戦略推進会議等における専門家の方々や料理人の評価においても、「富山86号」が旨味、粘り、香りが良く、全体的な食味のバランス面で最も優れていると評価されたことから

表2 「富富富」(系統名：富山86号)の選抜経過

試験年度	2012夏	2013夏	2013冬	2014夏	2014冬	2015夏	2016夏
世代		F ₁	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
	交配	交配					
供試数	コシヒカリ富筑SDBL2号 × 富山80号	F ₁ × 12-9367B		108個体	3,143個体	16系統	16系統
選抜数				11個体	16個体	16系統	3系統
選抜系統名						と系1579 と系1580 と系1585	3系統群 富山86号(富富富) 富山87号 富山88号

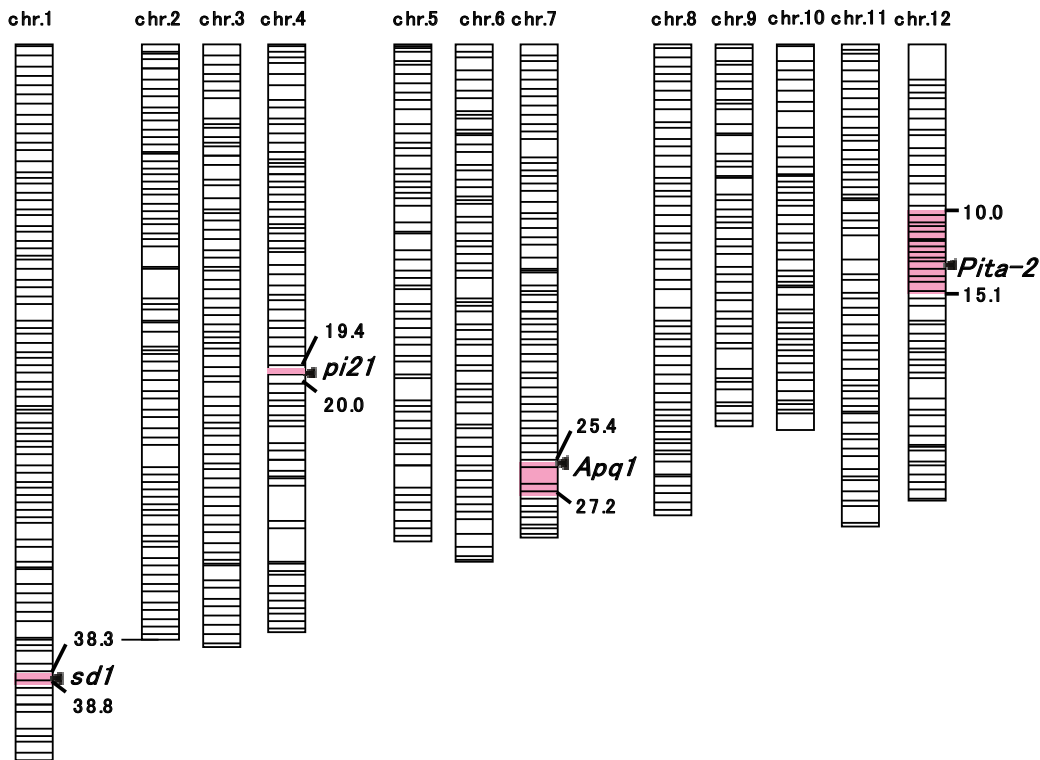


図2 ゲノム解析による「コシヒカリ」との遺伝的同一性の検証(と系1579)

各染色体(Chr.)の白色部はコシヒカリの染色体、色塗部は交配親の染色体断片を現す。数字は各染色体の物理的位置(Mbp)、▲は遺伝子の位置を示す。

(データ略)、「富山86号」を選抜して育成を完了した。2017年3月に、この「富山86号」を農研機構と共同で品種登録出願するにあたり、一般公募で名称を「富富富」※と決定した。2017年には先行販売によって市場評価を行い、2018年には県の奨励品種に設定されるとともに、469経営体の518haで一般栽培された。

※「富富富」の名称には、①富山の水、富山の大地、富山の人が育てた富山づくしのお米であること、②食べた後の幸せな気持ち(ふふふ)を表し、③「富」は、豊かさやめでたさにつながる、という想いが込められている。

表3-1 4遺伝子ホモ型系統(F₄)の特性(2015年標準植え)

品種/ 系統名	出穂期 (月/日)	成熟期 (月/日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m ²)	精玄米重 (kg/a)	精玄米重 対コシヒカリ 比(%)	千粒重 (g)	整粒比率 (%)	精米蛋白 含有率(%)	味度	食味 (総合)	選抜系統
コシヒカリ	8/2	9/11	84.4	20.1	292	54.8	100	23.1	84.3	5.1	81.1	-0.05	
と系1570	8/5	9/14	69.7	19.5	300	52.7	96	22.4	95.0	5.1	81.5	-0.19	
と系1571	8/4	9/14	67.1	19.8	308	53.8	98	22.2	94.3	5.2	79.9	-0.21	
と系1572	8/4	9/14	68.6	19.7	310	54.4	100	22.1	91.8	5.2	80.7	-0.07	
と系1573	8/3	9/13	64.9	19.5	362	51.4	94	22.3	90.0	5.3	80.0	-0.12	
と系1574	8/4	9/14	69.2	19.9	301	53.7	98	22.1	92.0	5.1	81.3	-0.04	
と系1575	8/4	9/14	69.7	19.5	307	52.7	96	22.5	94.5	5.2	81.2	-0.04	
と系1576	8/4	9/14	67.7	19.8	332	53.2	97	22.6	93.0	5.3	81.5	-0.01	
と系1577	8/4	9/14	68.8	19.4	309	52.4	96	22.3	92.5	5.2	80.0	0.00	
と系1578	8/3	9/13	68.2	19.0	308	54.2	99	22.4	89.5	5.3	80.5	-0.06	
と系1579	8/4	9/14	67.4	19.5	307	52.6	96	22.2	92.0	5.2	80.2	-0.06	富山86号
と系1580	8/4	9/14	68.9	19.3	327	55.5	102	22.6	90.8	5.2	81.2	-0.06	富山87号
と系1581	8/3	9/14	69.0	19.4	323	54.2	99	21.9	90.3	5.2	81.0	-0.01	
と系1582	8/4	9/14	69.0	19.3	347	52.9	97	21.9	92.3	5.1	81.8	-0.03	
と系1583	8/4	9/14	67.9	19.3	327	52.6	96	22.1	92.8	5.2	82.4	-0.02	
と系1584	8/5	9/15	70.1	19.5	320	53.0	97	22.0	94.3	5.2	82.3	0.00	
と系1585	8/4	9/14	69.4	19.6	330	53.0	97	22.1	94.5	5.0	82.7	-0.01	富山88号

注1) 試験場所は、富山県富山市吉岡(富山県農林水産総合技術センター農業研究所内)。

注2) 移植日: 2015年5月15日。栽植密度: 23株/m²(株間15cm×条間30cm)。1本植え。

注3) 千粒重および精玄米重は、1.9mm以上の粒厚の玄米についての値。水分15%換算値。

注4) 味度は、マルチ味度メーターMA-90R2(東洋精米機製作所)で測定した値。

注5) 食味(総合)は、農業研究所員をパネラーとして、-2(極不良)~+2(極良)で評価した値。

表3-2 4遺伝子ホモ型系統(F₄)の特性(2015年早植え)

品種/ 系統名	出穂期 (月/日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m ²)	精玄米重 (kg/a)	精玄米重 対コシヒカリ 比(%)	千粒重 (g)	整粒比率 (%)	精米蛋白 含有率(%)	味度	選抜系統
コシヒカリ	7/19	79.6	19.2	352	53.9	100	20.6	65.0	4.9	75.1	
コシヒカリ富山APQ1号	7/20	79.1	18.9	357	51.9	96	20.7	97.0	4.9	76.3	
コシヒカリ富山SDBL2号	7/22	64.0	18.1	395	51.9	96	20.9	-	5.0	74.6	
と系1570	7/20	62.1	17.7	390	52.4	97	20.2	91.0	5.0	74.3	
と系1571	7/19	59.6	17.2	379	50.5	94	19.9	88.0	5.0	73.2	
と系1572	7/19	60.9	17.8	405	49.9	93	19.8	87.0	5.1	72.4	
と系1573	7/19	56.8	16.5	389	46.3	86	20.4	96.0	5.0	73.6	
と系1574	7/19	58.7	18.3	341	47.8	89	19.9	89.0	4.8	75.2	
と系1575	7/19	60.2	17.2	402	49.7	92	20.1	86.0	4.7	75.4	
と系1576	7/19	59.8	18.1	368	48.3	90	20.5	90.0	4.8	77.7	
と系1577	7/19	60.2	17.1	434	49.4	92	19.8	89.0	5.0	76.4	
と系1578	7/19	60.0	17.8	379	49.4	92	20.1	89.0	5.0	75.8	
と系1579	7/19	60.6	17.1	378	51.0	95	20.2	88.0	4.9	76.0	富山86号
と系1580	7/19	60.9	17.3	394	50.3	93	20.3	92.0	5.0	73.1	富山87号
と系1581	7/19	62.9	18.5	410	52.0	96	19.9	87.0	4.9	75.0	
と系1582	7/20	61.2	17.6	405	48.6	90	20.0	91.0	4.9	74.9	
と系1583	7/20	62.6	17.7	446	50.0	93	20.2	84.0	5.0	75.7	
と系1584	7/20	63.3	18.1	378	48.5	90	19.7	85.0	4.9	73.6	
と系1585	7/20	61.5	18.3	410	49.9	93	20.4	89.0	4.7	76.7	富山88号

注1) 試験場所、千粒重、精玄米重および味度は、表3-1に同じ。

注2) 移植日: 2015年4月25日。栽植密度: 16株/m²(株間25cm×条間25cm)。2本植え。

※選抜の第1段階では、明らかに劣る形質をもつ10系統を棄却した。稈長が短すぎる(と系1573)、穂数が少ない(と系1570、1574)、屑米比率が高い(と系1578)、千粒重が小さい(と系1571、1572、1577、1581、1582、1584)。選抜の第2段階では、残る6系統の中から、食味、収量性の観点から、有望とした3系統(と系1579、と系1580、と系1585)を選抜した。

表4-1 選抜された「富山」系統の栽培特性 (2016年)

移植時期/ 移植様式	移植日 (月/日)	品種・ 系統名	出穂期 (月/日)	成熟期 (月/日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m ²)	粗玄米重 (kg/a)	精玄米重 (kg/a)	千粒重 (g)	整粒比率 (%)	背基白粒 比率(%)
早植え/ 手植え	4/26	富山86号	7/27	9/3	66.5	18.2	467	70.4	62.5	21.7	86.8	0.3
		富山87号	7/26	9/2	65.9	17.9	489	72.7	65.8	21.9	87.8	0.3
		富山88号	7/26	9/2	67.8	17.8	474	70.5	62.6	21.7	90.3	0.0
		コシヒカリ	7/24	8/31	87.0	18.8	418	74.7	69.3	23.1	81.3	1.0
標準植え/ 手植え	5/13	富山86号	8/3	9/12	67.2	17.1	445	67.5	60.9	22.0	85.5	0.0
		富山87号	8/3	9/11	68.0	17.1	446	68.1	61.9	22.4	86.0	0.0
		富山88号	8/3	9/12	68.9	17.4	421	67.5	60.1	22.1	89.3	0.0
		コシヒカリ	8/2	9/7	88.0	17.8	401	63.6	59.1	22.7	83.3	0.3
標準植え/ 機械植え	5/13	富山86号	7/28	9/5	67.3	18.6	400	70.2	62.7	21.9	87.0	1.5
		富山87号	7/28	9/5	67.3	18.2	391	70.9	65.0	22.2	82.0	2.5
		富山88号	7/28	9/5	68.4	18.1	410	72.5	64.9	22.0	83.5	1.0

注1) 早植え/手植えは、農業研究所(富山市吉岡)にて実施。栽植密度22.2株/m²、4本植。

標準植え/手植えは、農業研究所、黒部市山田新、富山市浜黒崎、高岡市西藤平蔵にて実施した4区の平均値。栽植密度22.2株/m²、4本植。

標準植え/機械植えは、入善町神子沢、富山市森田、小矢部市水牧、南砺市福光にて実施した4区の平均値。栽植密度70株/坪。

注2) 精玄米重および千粒重は、1.9mm以上の粒厚の玄米についての値。水分15%換算値。

注3) 整粒比率および背基白粒比率は、目視判定による。

表4-2 選抜された「富山」系統の食味特性 (2016年)

移植時期/ 移植様式	品種名	精米蛋白 含有率(%)	味度	食味官能値				
				総合	うまみ	ねばり	かたさ	光沢
早植え/ 手植え	富山86号	5.77	70.9	-0.22	-0.17	-0.13	0.12	-0.14
	富山87号	5.92	69.6	-0.35	-0.22	-0.26	0.12	-0.19
	富山88号	5.66	71.0	-0.24	-0.14	-0.20	0.10	-0.18
	コシヒカリ	5.57	73.5	0.00	0.03	-0.03	0.12	-0.05
標準植え/ 手植え	富山86号	5.77	75.2	-0.19	-0.14	-0.14	0.11	-0.10
	富山87号	5.67	72.4	-0.23	-0.16	-0.15	0.02	-0.15
	富山88号	5.63	73.7	-0.20	-0.13	-0.16	-0.01	-0.15
	コシヒカリ	5.43	78.3	-0.05	-0.05	-0.03	0.08	-0.03
標準植え/ 機械植え	富山86号	5.04	78.2	0.00	-0.01	-0.02	-0.01	-0.06
	富山87号	4.95	76.8	-0.06	-0.04	-0.09	0.00	-0.09
	富山88号	4.89	77.5	-0.02	-0.01	-0.09	-0.07	-0.08

注1) 精米蛋白含有率は近赤外分析計(BUCHI社製)で測定した値。水分15%換算値。

注2) 味度は、マルチ味度メーターMA-90R2(東洋精米機製作所)で測定した値。

注3) 食味官能値は、農業研究所員をパネラーとした-2~+2の9段階評価。

数値が高いほど、総合は良、うまみは強、ねばりは強、かたさは軟、光沢は良。

Ⅳ 富富富の特性

1 高い玄米品質と高温登熟性

「富富富(と系1579、富山86号)」の整粒比率は、「コシヒカリ」に比べ、2015年の早植え試験において23.0ポイント、同年の標準植え試験において7.7ポイント、2016年の標準植え試験において2.2ポイント高く、いずれも玄米品質が極めて良かった(表3、表4-1)。2015年および2016年には、早植えで穂肥を減らすことによって実施した高温登熟検定においても、「コシヒカリ」よりも白未熟粒の発生量が少なく整粒比率が高かった(表5、写真1)。とくに2015年では出穂後20日間の平均気温が28.7℃となり、かなりの高温に遭遇したが、「富富富(と系1579)」の整粒比率は91.0%と高い水準であり、「コシヒカリ」よりも11ポイント高い優れた高温登熟性を示した(表5、写真1)。2016年は出穂後20日間の平均気温が27.2℃であり、近藤ら(2006)が白未熟粒発生の危険域とする27℃を若干上回る程度であったが、「富富富(富山86号)」の整粒比率は86.8%で「コシヒカリ」よりも5ポイント以上高かった。「富富富

では、白未熟粒の中でも出穂後20日間の高温遭遇に起因する背基白粒の発生がとくに少ないが、これは交配親である「コシヒカリ富山APQ1号」より受け継いだ*Apq1*の効果によるものと考えられた。

2 耐倒伏性

2015年および2016年の標準植えにおける生産力検定において、「富富富(と系1579、富山86号)」は、「コシヒカリ」との比較で、出穂期は2日程度、成熟期は4日程度遅くなった(表3、表4-1)。稈長は「コシヒカリ」よりも20cm程度短くなり、倒伏は全く確認されなかった(写真2、表3、表4-1)。「富富富」の普及初年度である2018年9月上旬には、富山県を台風21号が通過した際に「コシヒカリ」は激しく倒伏したが、「富富富」ではほとんど倒伏しなかった(写真3)。これは、交配親である「コシヒカリ富筑SDBL2号」より受け継いだ*sd1*による稈長短縮の効果と考えられた。また、穂長も「コシヒカリ」より0.5cm程度短く、千粒重も0.7g程度小さくなったが、小林ら(2015)は、*sd1*の導入は稈長とともに穂長の短縮および千粒重の低下に影響することを報告し

表5 「富富富」(系統名：と系1579、富山86号)の高温登熟検定

試験年度	品種名	移植日	出穂期 (月/日)	目視による玄米調査(粒数%)								出穂後20日間 の平均気温
				整粒	基白粒	背白粒	乳白粒	心白粒	腹白粒	その他		
2015	富富富(と系1579)	4/22	7/20	91.0	0.0	0.0	1.0	3.0	0.0	0.0	28.7	
	コシヒカリ		7/20	80.0	15.0	3.5	1.5	0.0	0.0	28.7		
2016	富富富(富山86号)	4/25	7/27	86.8	0.0	0.3	2.5	8.3	0.3	1.8	27.2	
	コシヒカリ		7/24	81.3	0.5	0.5	4.8	10.8	0.5	1.6	27.2	

注1) 試験場所は、富山県富山市吉岡(富山県農林水産総合技術センター農業研究所内)

注2) 栽植密度23株/m²(株間15cm×条間30cm)。4本植え。



写真1 高温登熟検定での玄米品質(2015年)

「富富富」は、背白粒や基白粒が少なく整粒比率が高い。

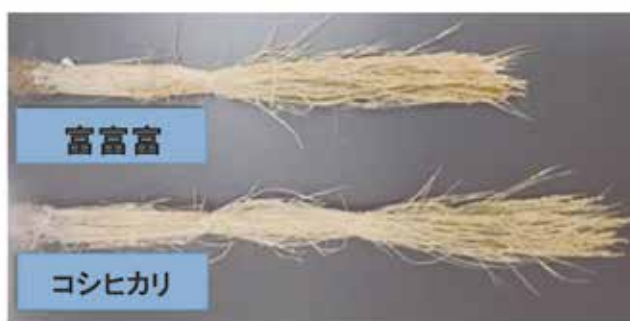


写真2 「富富富」の草姿

「富富富」は稈長が 20 c m 程度短い。



写真3 「富富富」の耐倒伏性（撮影日2018年9月6日）

2018年9月4日に富山県を通過した台風21号の強風により、「コシヒカリ」は倒伏したが、「富富富」は倒伏しなかった。

ており、これらも*sd1*の導入による可能性が考えられた。一方で、穂数は20~40本/m²多くなったことから、収量性は「コシヒカリ」と同等であった（表3、表4-1）。

3 いもち病抵抗性

「富富富（と系1579、富山86号）」は、DNAマーカー選抜によって、交配親から、いもち病真性抵抗性遺伝子*Pita-2*およびいもち病圃場抵抗性遺伝子*pi21*の導入を図っている。2016年にいもち病の接種検定を行ったところ、以下①~③に示すように「富富富」には*Pita-2*および*pi21*が導入されていることを確認した（表6、写真4）。

①「富富富」は*Pii*を侵害する菌株（愛74-134および稲86-137）に対し、*Pita-2*をもつ「コシヒカリ富筑SDBL10号」と同等の高い抵抗性（発病程度0.0および0.2）を示したため、「富富富」には*Pita-2*が導入されていることが確認された。

②「富富富」は*Pita-2*を侵害する菌株（稲093-3）

に対し、弱い抵抗性（発病程度2.2）を示したため、「富富富」には*Pita-2*以外に圃場抵抗性遺伝子*pi21*が導入されていることが確認された。一方、*Pii*をもつ品種（「コシヒカリ富筑SDBL2号」および「同9号」）では、「富富富」の半分ほどの発病程度であったことから、「富富富」に*Pii*は導入されていないと考えられた。

③「富富富」は*Pita-2*および*Pii*を侵害する菌株（Spr-777.3）に対し、*pi21*の存在によって、「コシヒカリ富筑SDBL2号」よりも明らかに発病が少なかった（発病程度3.5）。

また、2015年および2016年に葉いもち病抵抗性を畑晩播試験で評価したところ、「富富富」は交配親である「コシヒカリ富筑SDBL2号」と同程度の発病程度であり、抵抗性遺伝子を持たない「コシヒカリ」や「コシヒカリ富山APQ1号」よりも極めて強い抵抗性を示した。

表6 いもち病接種検定結果(2016年)

品種名・系統名	抵抗性遺伝子	菌株名(カッコ内はレース番号)			
		愛74-134 (477.1)	稲86-137 (007.0)	稲093-3 (301.0)	Spr-777.3 (777.3)
富富富	<i>Pita-2, pi21</i>	0.0 R	0.2 R	2.2 (R)	3.5 (R)
コシヒカリ富筑SDBL2号	<i>Pita-2, Pij</i>	0.0 R	0.0 R	1.1 R	27.8 S
コシヒカリ富筑SDBL10号	<i>Pita-2</i>	0.0 R	0.1 R	49.0 S	23.1 S
コシヒカリ富筑SDBL9号	<i>Pij</i>	24.2 S	29.2 S	1.0 R	-
12-9367B	<i>pi21</i>	3.2 (R)	2.3 (R)	7.5 (R)	3.9 (R)
コシヒカリ	+	28.9 S	34.4 S	44.3 S	19.8 S

注1) 噴霧接種法による。

注2) 表中の値は病斑面積率を表し、値下のアルファベットは、Sは感受性(10%<病斑面積)、Rは抵抗性(病斑面積<2%)、(R)は弱い抵抗性を表す。

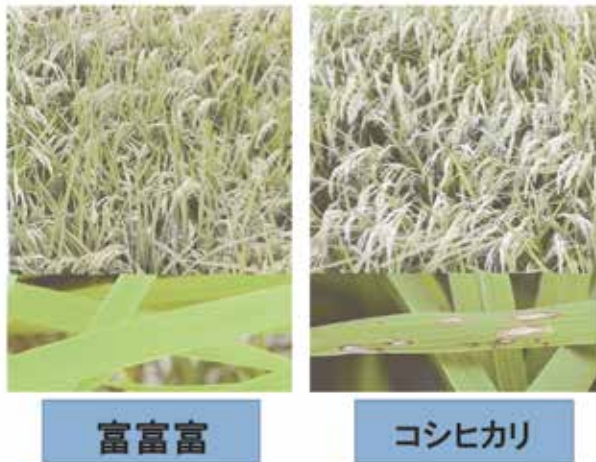


写真4 いもち病接種検定

「富富富」は、穂いもち(上)、葉いもち(下)とも発病していない。

V ピラミディング育種

「富富富」は、主食用の基幹品種およびブランド品種として、我が国で初めてピラミディング(遺伝子の集積)で育成された品種である。育成の交配親である「コシヒカリ富筑SDBL2号」「コシヒカリ富山APQ1号」「12-9367B」は、いずれも遺伝的背景がほぼ「コシヒカリ」で、対象形質のみがピンポイントで改良されたコシヒカリNILである。したがって、「富富富」は、3つのコシヒカリNILから有用な4つの遺伝子をピンポイントで集積(ピラミディング)することで、「コシ

ヒカリ」の良食味を維持しつつ栽培上の課題をすべて克服した品種といえる。従来の交配育種では、原交配以後の遺伝的な固定化に相当な時間を要し、育成までに通常10年以上を要する。また「富富富」のように3系以上の交配を行うとさらに時間を費やすとともに、後代における形質の分離幅が拡大し、選抜対象とすべき集団規模が拡大してしまう。しかしながら、「富富富」の育成にあたっては、2012年および2013年の交配以降、遺伝子情報に基づいたDNAマーカー選抜を適用し、速やかに選抜を完了することができた。2014年に、3,143個体から目的の4つの遺伝領域がホモ型となっている16系統が選抜されたが、これは

256分の1 ($= (1/4)^4$) の確率に沿ったものであった。さらに2年後の2016年には固定化を確認し選抜を完了したことから、NILを利用したマーカー育種が迅速かつ強力な育種手法であることを実証した。背景には有用なコシヒカリNILが育成されていたことによるが、新形質の発掘のためにも、染色体断片置換系統群 (CSSLs) のような育種研究の材料を独自に育成しておくことが望ましい (Ebitani et al. 2005、蛭谷ら 2011、Maeda et al. 2019)。また、NILの育成においては、遺伝子に基づいた栽培特性を検証するためにも、また中間母本として活用するためにも、目的形質に関与する遺伝子を目印としてできる限り同一品種の遺伝的背景に揃え、不良特性をできるだけ排除しておくことが望ましい。

「富富富」に導入された遺伝子 (*sd1*、*Pita-2*、*Apq1*、*pi21*) は全て染色体上の位置が特定され、*Pita-2*を除き遺伝子の機能まで確認されている。いずれもその作用機作は、「コシヒカリ」の最大の長所である食味に直接関与するものではないと考えられた。しかしながら、2017年の先行販売以降、「富富富」の食味は、甘みと旨みが「コシヒカリ」よりも強い、と評価されている (池川 2019)。4つの導入遺伝子が、個別にあるいは集積効果によって、食味に変化をもたらした可能性があるため、「富富富」の美味さを引き出す最適な炊飯体系とともに、今後はその理由を明らかにする必要がある。また、栽培面でも「コシヒカリ」との比較で収量は同等であるが、穂数は増加しやすい傾向にある。これらを踏まえ、「富富富」を本県のブランド品種として今後発展させるためにも、また食味・収量・品質の面で安定した生産を担保するためにも、しっかりとした栽培体系を今後確立していく必要がある。

VI 謝 辞

愛知県農業総合試験場には、いもち病圃場抵抗性遺伝子 *pi21* の活用について、多大なるご助言、ご指導をいただいた。また、ゲノム解析は、農研機構・次世代作物開発研究センターにおけるゲノム育種支援のもとに行った。ともに、ここに感謝の意を表す。

「富富富」の育成および普及には、富山県農林水産部、全農・農協関係者および県内生産者の皆様に多くのご助言、ご支援をいただいた。とくに、

農家圃場での調査では新川農林振興センター、富山農林振興センター、高岡農林振興センター、砺波農林振興センターの方々には、労力、時間ともに多大なご協力をいただいた。ここに深謝の意を表す。

VII 摘 要

1 「富富富」の育成経過

「富富富」は、2012年および2013年に交配を行い、DNAマーカー選抜を適用して、2016年に育成を完了した。遺伝子情報に基づき、短稈性、いもち病抵抗性、高温登熟性を「コシヒカリ」に付与して育成した品種であり、主力品種およびブランド品種として、我が国で初めてピラミディング (遺伝子集積) 育種で育成された品種である。

2 品種特性

- ・ 出穂期および成熟期は、「コシヒカリ」よりそれぞれ2日および4日程度遅い。
- ・ 稈長は「コシヒカリ」より20cm程度短く、耐倒伏性に優れる。
- ・ 収量性は「コシヒカリ」並み。
- ・ 玄米品質は登熟期間に高温に遭遇しても白未熟粒の発生が少なく、「コシヒカリ」より安定して良い。
- ・ いもち病に対しては、真性抵抗性遺伝子と圃場抵抗性遺伝子を組み合わせることで、極めて強い。

引用文献

- 浅賀宏一 (1995) 品種抵抗性による病害防除戦略. 日植病報, 61: 163-165.
- Ashikari, M., A.Sasaki, M.Ueguchi-Tanaka, H.Itoh, A.Nishimura, S.Datta, K.Ishiyama, T.Saito, M.Kobayashi, G.S.Khush, H.Kitano, M.Matsuoka (2002) Mutation in a gibberellin biosynthetic gene, GA20 oxidase, contributed to the rice "Green Revolution". Breed. Sci., 52: 143-150.
- Ebitani, T., Y. Takeuchi, Y. Nonoue, T. Yamamoto, K. Takeuchi and M. Yano (2005) Construction and evaluation of chromosome segment substitution lines carrying overlapping chromosome segments of indica rice cultivar 'Kasalath' in a genetic background of japonica

- elite cultivar 'Koshihikari'. *Breed. Sci.*, 55:65-74.
- 蛭谷武志・王子軒・表野元保・山崎明彦・尾崎秀宣・美濃部侑三・森川真紀子・小島洋一朗・宝田研・山口琢也(2009) 短稈性といもち病抵抗性を併せもつ9種類の「コシヒカリ富筑SDBL」の育成. *日作紀*, 78(別2): 22-23.
- 蛭谷武志・村田和優・山口琢也・伊山幸秀・尾崎秀宣・前田寛明(2011) コシヒカリを遺伝背景とするハバタキの染色体断片置換系統群を用いた玄米外観品質に関するQTL解析. *育種学研究*, 13(別2): 126.
- 蛭谷武志・村田和優・伊山幸秀・山口琢也・藤田健司・園田純也(2013a) コシヒカリの遺伝背景をもち、登熟期間が高温でも玄米外観品質が低下しない系統「富山80号」の育成. *育種学研究*, 15(別2): 233.
- 蛭谷武志・伊山幸秀・森川真紀子・山口琢也・尾崎秀宣・木谷吉則(2013b) コシヒカリの遺伝的背景を維持し耐倒伏性・いもち病抵抗性・高温登熟性を改良した「富山SBA」系統の育成とその特性. *富山農総セ農研報*, 5: 1-6.
- 蛭谷武志・村田和優・伊山幸秀・山口琢也・尾崎秀宣・木谷吉則(2015) 高温登熟性が極めて高い「コシヒカリ富山APQ1号」の育成. *富山県農林水産部 平成26年度農業分野試験研究の成果と普及*, 37-38.
- Fukuoka S, N. Saka, H. Koga, K. Ono, T. Shimizu, K. Ebana, N. Hayashi, A. Takahashi, H. Hirochika, K. Okuno, M. Yano (2009) Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. *Science*, 325, 998-1001.
- 福岡修一・坂紀邦(2013) イネいもち病抵抗性遺伝子*pi21*の発見とそれを利用した育種. *植物防疫*, 67: 214-218.
- 福岡修一(2019) イネのいもち病圃場抵抗性に関する分子育種学的研究. *育種学研究*, 21: 130-133.
- 林長生(2005) 微生物遺伝資源利用マニュアル(18) イネいもち病菌. *農業生物資源研究所*, 1-34.
- 池川志穂(2019) 「富富富」の食味特性. *平成30年度 富山農研 研究成果発表会*, 5.
- 石崎和彦(2010) 新潟県における「コシヒカリ新潟BLシリーズ」の開発と普及. *育種学研究*, 12: 160-164.
- 小林俊也・山本敏央・平沢正・大川泰一郎(2015) 水稻における半矮性遺伝子sd1が強稈性および収量に及ぼす影響—タカナリとコシヒカリの正逆NILs-SD1を用いて—. *日本作物学会講演会要旨集*, 239.
- 小泉信三・谷俊男・藤晋一(1996) イネいもち病防除における多系品種の利用. *農業技術*, 51: 89-93.
- 小島洋一朗(2019) 温暖化に対応した水稻新品種「富富富」の開発と栽培技術の確立. *農業および園芸*, 94: 290-295.
- 近藤始彦・森田敏・長田健二・小山豊・上野直也・細井淳・石田義樹・山川智大・中山幸則・吉岡ゆう・大橋善之・岩井正志・大平陽一・中津紗弥香・勝場善之助・羽嶋正恭・森芳史・木村浩・坂田雅正(2006) 水稻の乳白粒、基白粒発生と登熟気温および玄米タンパク含有率との関係. *日作紀*, 75(別2): 14-15.
- Maeda H, K. Murata, N. Sakuma, S. Takei, A. Yamazaki, MR. Karim, M. Kawata, S. Hirose, M. Kawagishi-Kobayashi, Y. Taniguchi, S. Suzuki, K. Sekino, M. Ohshima, H. Kato, H. Yoshida, Y. Tozawa (2019) A rice gene that confers broad-spectrum resistance to β -triketone herbicides. *Science*, 26; 365: 393-396.
- Murata K, Y. Iyama, T. Yamaguchi, H. Ozaki, Y. Kidani, T. Ebitani (2014) Identification of a novel gene (*Apq1*) from the indica rice cultivar 'Habataki' that improves the quality of grains produced under high temperature stress. *Breed. Sci.*, 64: 273-281.
- Nagasaki H, Ebana K, Shibaya T, Yonemaru J, Yano M (2010) Core single-nucleotide polymorphisms - a tool for genetic analysis of the Japanese rice population. *Breed. Sci.*, 60: 648-655.
- 坂紀邦・富田桂・永野邦明・片岡知守・安東郁男・永吉嘉文・中込弘二・山口誠之・前田英郎・佐藤宏之・石井卓郎・寺島竹彦・水上優子・福岡修一(2012) 複数の栽培環境におけるイネいもち病圃場抵抗性遺伝子*pi21*の収量性に対する影響. *育種学研究*, 14: 77-82.
- 佐々木武彦・阿部員三・松永和久・碍本栄治・永野邦明・丹野耕一・千葉芳則・狩野篤・植松克彦・滝沢浩幸・早坂浩志・涌井茂・黒田倫子・

- 薄木茂樹・千葉文弥・宮野法近・佐々木都彦・遠藤貴司 (2002) ササニシキの多系品種「ササニシキBL」について. 宮城古川農試報, 3: 1-35.
- Takehara K, K. Murata, T. Yamaguchi, K. Yamaguchi, G. Chaya, S. Kido, Y. Iwasaki, H. Ogiwara, T. Ebitani, K. Miura (2018) Thermo-responsive allele of sucrose synthase 3 (Sus3) provides high-temperature tolerance during the ripening stage in rice (*Oryza sativa* L.). Breed. Sci., 68: 336-342.
- 山本隆一・堀末登・池田良一 (1995) イネ育種マニュアル. 養賢堂, 東京: 3-19.

Development of an Elite Toyama-Rice Cultivar, “Fu-Fu-Fu”

Kazumasa MURATA, Yukihide IYAMA¹⁾, Takuya YAMAGUCHI²⁾, Yoshinori KIDANI, Yuichi MURAOKA, Hiroaki MAEDA³⁾, Kenji FUJITA⁴⁾, Hidenobu OZAKI⁵⁾, Shiho IKEGAWA⁴⁾, Hirokazu IKEDA⁴⁾, Shuichi FUKUOKA⁶⁾, Yoichiro KOJIMA, Takeshi EBITANI⁷⁾

Summary

A new rice cultivar, Fu-Fu-Fu, was developed at Toyama Prefectural Agricultural, Eorestry and Fisheries Research Center in 2016, applying pyramiding strategy using marker assisted selection. This cultivar is a near isogenic line of Koshihikari possessing 4 kinds of locus responsible to desirable agronomic traits, which are tolerance to lodging by semi-dwarfism (based on *sd1* introduction), high appearance quality of brown rice by tolerance to high temperature during ripening period (*Apq1*) and strong blast resistance (*Pita-2* and *pi21*). Other agronomic traits, including yield and palatability, are similar between Fu-Fu-Fu and Koshihikari.

1) Present Address: Toyama Prefectural Takaoka Agriculture and Forestry Promotion Center, Toyama, 933-0806

2) Present Address: Toyama Prefectural Tonami Agriculture and Forestry Promotion Center, Toyama, 939-1386

3) Present Address: Agricultural Mnagement Division, Toyama Prefecture, Toyama, 930-8501

4) Present Address: Agricultural Food Product Division, Toyama Prefecture, Toyama, 930-8501

5) Present Address: Agricultural Technology Division, Toyama Prefecture, Toyama, 930-8501

6) Institute of Crop Science, National Agriculture and Food Research Organization, Ibaraki 305-8518

7) Former Address: Agricultural Research Institute

土壌の可給態ケイ酸の診断におけるリン酸緩衝液抽出法の適用性

山田宗孝・廣川智子¹⁾・小池潤²⁾・中田均・清水雅代²⁾・東英男²⁾

Munetaka YAMADA, Tomoko HIROKAWA, Jun KOIKE, Hitoshi NAKADA, Masayo SHIMIZU, Hideo AZUMA : Evaluation of Silica Availability in Paddy Soils by the Phosphate Buffer Extraction Method

I 緒言

水田土壌の可給態ケイ酸の評価には、酢酸緩衝液浸出法（今泉・吉田、1958）が広く使用されてきた。しかし、この方法では、ケイ酸資材施用土壌において、水稻のケイ酸吸収と相関関係を示さない場合があることが指摘されている（高橋、1981）。そこで、これに代わる評価法として、湛水保温静置法（高橋、1981）、土壌溶液測定法（岡山・吉野、1989）、易溶出ケイ酸測定法（住田、1991）、逐次上澄液法（北田ら、1992）等が提案されたが、評価の精度や実験操作に一長一短があり、いずれも一般化されていない。一方、加藤（2000）は、より簡便な方法として、土壌によるケイ酸の吸着がリン酸と競合関係にあることを利用したリン酸緩衝液抽出法を開発した。この方法は土壌保全対策事業における標準分析法として採用されている（財団法人日本土壌協会、2001）。

筆者らは、土壌の可給態ケイ酸の診断に関し、ケイ酸資材施用土壌での過大評価の問題がなく、簡便性に優れた加藤のリン酸緩衝液抽出法の適用性を評価するため、水稻のケイ酸濃度との相関を指標に従来法である酢酸緩衝液浸出法と比較検討した。

II 材料および方法

調査は2008年および2009年に実施した。2008年は県内水田圃場49地点（沖積土壌32地点、洪積土壌17地点）、2009年は142地点（沖積土壌95地点、洪積土壌47地点）において、成熟期頃に稲体と作土を採取した。採取方法は、各圃場の中央部付近にて生育中庸な稲株4株を地際刈りし、土壌はそ

の直下の作土1kg程度を採取した。稲株は穂と茎葉に分けて80℃で乾燥した後、粉碎し分析試料とした。土壌は風乾後、粒子の塊を粉碎し、2mmの篩で篩別し、篩通過分を分析試料とした。

稲体のケイ酸含量については試料を硝酸分解した後、重量法により測定した。土壌中可給態ケイ酸は、2008年度に採取した土壌については、酢酸緩衝液浸出法（今泉・吉田、1958）およびpH6.2リン酸緩衝液抽出法（加藤、2000）により測定し、2009年度に採取した土壌ではpH6.2リン酸緩衝液抽出法のみを適用した。

III 結果と考察

1 土壌中可給態ケイ酸の評価法の比較

2008年度に実施した調査結果は表1のとおりであった。酢酸緩衝液浸出法による土壌中可給態ケイ酸含有量は7.2～194mg/100gの範囲であり、リン酸緩衝液抽出法による土壌中可給態ケイ酸含有量は9.5～82.3mg/100gの範囲であった。また、成熟期における水稻茎葉のケイ酸含有率は4.6～12.9%の範囲にあり、平均値は9.1%であった。

酢酸緩衝液浸出法による可給態ケイ酸含有量とリン酸緩衝液抽出法による可給態ケイ酸含有量とは一定の関係はみとめられず（図1）、酢酸緩衝液浸出法による値からリン酸緩衝液抽出法での値へ読み替えることは困難と考えられた。

酢酸緩衝液浸出法およびリン酸緩衝液抽出法による土壌中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率との相関をみたところ、相関係数はそれぞれ0.38および0.56であった（図2、図3）。また、土壌の地質年代別に両者の相関係数をみても、沖積土壌では酢酸緩衝液浸出法で0.49、リン酸緩衝液抽出法で0.69であり（図4、図5）、洪積土壌

1) 前農業研究所

2) 現在：富山県農業技術課

表1 土壤中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年調査)

試料採取地	地質年代	土壤中可給態ケイ酸含有量(mg/100g)		茎葉(成熟期) ケイ酸含有率(%)
		酢酸緩衝液法	リン酸緩衝液法	
入善町桐山	沖積	39.4	23.3	10.2
入善町一宿	沖積	43.4	13.6	6.3
入善町墓ノ木	沖積	27.2	13.7	7.1
魚津市大海寺野	洪積	171.3	50.9	11.8
滑川市大榎	沖積	27.2	9.5	5.0
上市町若杉	沖積	16.4	15.3	8.9
上市町大坪	沖積	7.2	14.2	6.5
立山町利田	沖積	18.8	17.8	8.9
上市町須山	洪積	20.2	40.6	9.7
上市町新屋	洪積	25.5	48.5	11.8
立山町沢端	洪積	46.7	24.8	10.3
上市町西種	洪積	194.0	56.2	11.4
立山町高原八ツ屋	沖積	21.9	32.7	9.7
立山町瀬戸新	洪積	78.4	34.3	11.6
黒部市堀切	洪積	53.5	59.4	12.1
富山市浜黒崎	沖積	8.8	19.1	9.6
富山市町袋	沖積	22.7	26.1	9.7
富山市水橋二杉	沖積	10.8	15.4	5.6
富山市大塚北	沖積	28.4	28.5	10.0
富山市栃谷	洪積	30.9	33.9	6.1
富山市大江干	沖積	36.0	17.4	10.8
富山市大場	沖積	14.9	17.7	5.5
富山市八川	沖積	18.9	20.8	7.7
富山市吉岡	沖積	17.6	21.0	8.1
富山市上千俵	沖積	16.5	21.9	11.1
富山市高内	洪積	63.4	42.3	8.0
八尾町櫻尾	洪積	39.5	53.6	9.0
婦中町蔵島	洪積	73.5	82.3	10.8
氷見市指崎	沖積	33.7	37.5	11.9
氷見市加納	沖積	19.7	23.5	8.1
氷見市久目	洪積	13.1	28.8	11.0
氷見市布施	沖積	9.9	28.0	8.4
高岡市柴野	沖積	65.4	25.7	10.4
高岡市醍醐	沖積	7.7	13.7	9.5
高岡市下麻生	沖積	12.3	12.1	4.6
射水市白石	沖積	25.4	44.6	11.0
射水市上野	洪積	29.9	29.6	4.8
福岡町烏倉	沖積	33.8	62.7	12.0
小矢部市宮中	洪積	54.5	35.8	10.3
小矢部市野寺	沖積	7.3	12.2	7.0
砺波市高波	沖積	18.6	30.0	7.8
砺波市宮丸	沖積	35.2	18.7	10.0
砺波市鷹栖	沖積	44.9	27.9	12.0
南砺市野尻	沖積	18.7	13.1	7.9
南砺市院林	沖積	50.0	51.8	12.9
庄川町天正	沖積	11.6	15.4	9.9
南砺市荒木	洪積	37.9	29.5	7.8
南砺市鍛冶	洪積	54.8	36.5	9.4
南砺市立野原	洪積	57.7	39.2	7.6
最大値		194.0	82.3	12.9
最小値		7.2	9.5	4.6
平均値		37.0	30.0	9.1

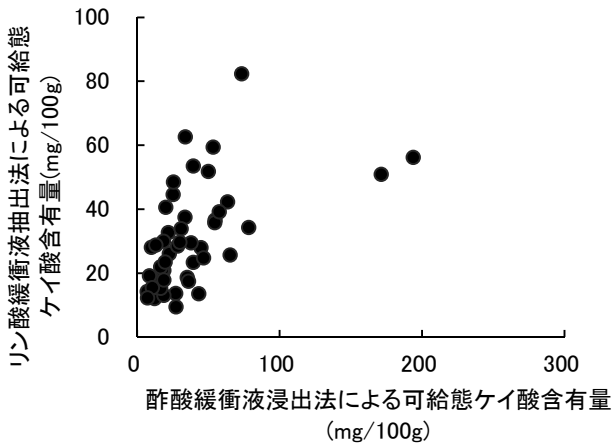


図1 酢酸緩衝液浸出法とリン酸緩衝液抽出法による可給態ケイ酸含有量の関係(2008年調査)

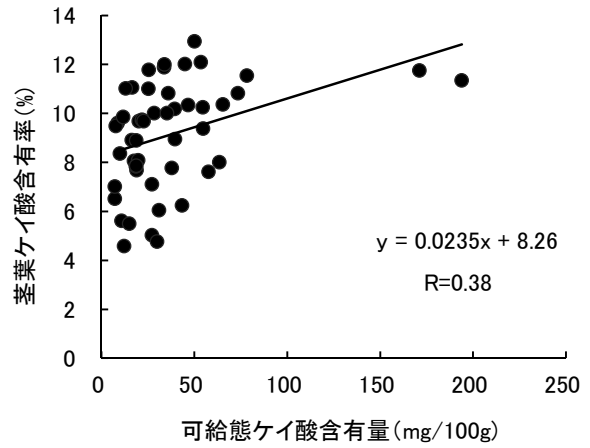


図2 酢酸緩衝液浸出法による土壌中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年調査)

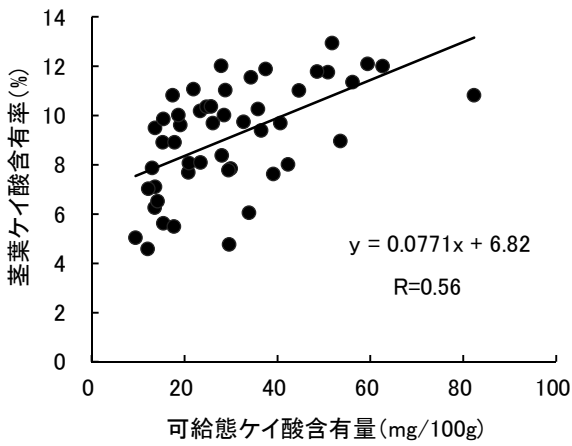


図3 リン酸緩衝液抽出法による土壌中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年調査)

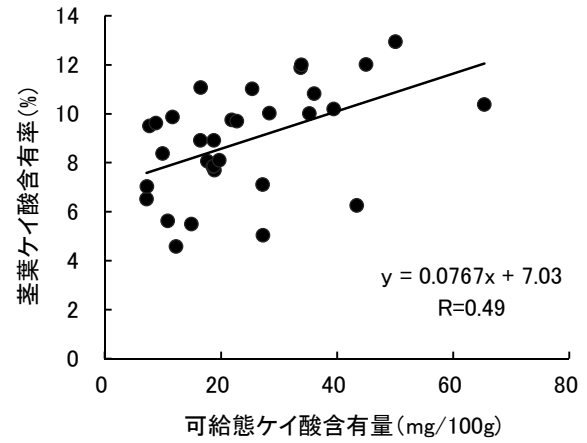


図4 酢酸緩衝液浸出法による土壌中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年調査、沖積)

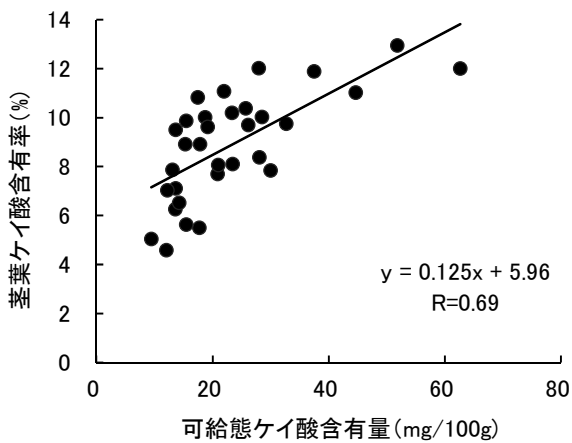


図5 リン酸緩衝液抽出法による土壌中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年調査、沖積)

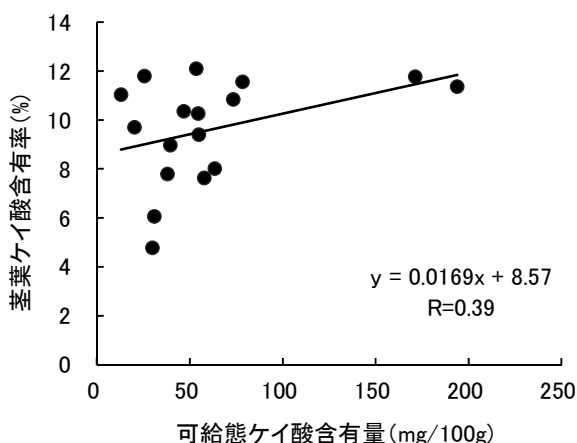


図6 酢酸緩衝液浸出法による土壤中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年調査、洪積)

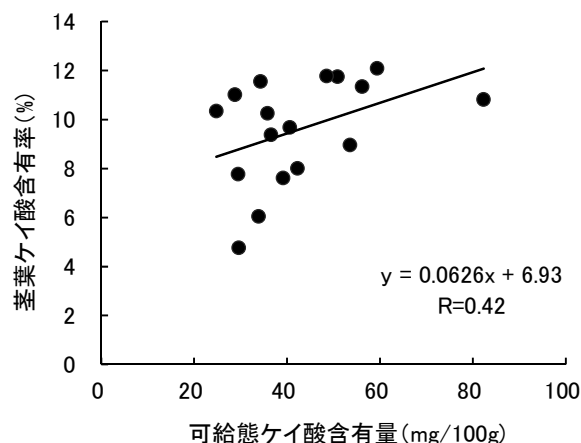


図7 リン酸緩衝液抽出法による土壤中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年調査、洪積)

ではそれぞれ0.39および0.42であり(図6、図7)、リン酸緩衝液抽出法による評価値の方が水稻のケイ酸含有量との相関が高い傾向がみられた。

酢酸緩衝液浸出法による測定値では、170~190mg/100g程度の大きな値を示しても、茎葉のケイ酸含有率は比例して大きくない地点もあり、本評価法では土壤中可給態ケイ酸を過大評価する場合がみとめられた。

これらの結果から、土壤中可給態ケイ酸の評価法としては、従来の酢酸緩衝液浸出法よりもリン酸緩衝液抽出法の方が適用性が高いと考えられた。

2 リン酸緩衝液抽出法の適用について

2009年度に実施した調査結果は表2のとおりであった。リン酸緩衝液抽出法による土壤中可給態ケイ酸含有量は10.0~89.0mg/100gの範囲であり、成熟期における水稻茎葉のケイ酸含有率は4.4~16.3%の範囲であった。

2008年および2009年の全調査結果からリン酸緩衝液抽出法による土壤中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率との相関をみたところ、相関係数は0.57であった(図8)。土壤の地質年代別に両者の相関係数をみると、沖積土壌では0.72、洪積土壌では0.53であり、洪積土壌では相関が低かった(図9、図10)。

これまで本県の水田土壌における改良目標値は、地質年代および土性別に設定されているが、リン酸緩衝液抽出法の評価値からより精度の高い診断を行うためには、同様に土壌タイプによる回

帰式の使い分けなどをさらに検討する必要があると考えられる。リン酸緩衝液抽出法による土壤中可給態ケイ酸含有量から成熟期の茎葉含有率を推定する際に土壤のリン酸吸収係数を考慮した手法が報告されており(岩手県農業研究センター、2005)、回帰式の使い分けの指標として検討するべきものと考えられる。

IV 摘要

富山県内の水田を対象として、土壤の可給態ケイ酸含有量を従来の評価法である酢酸緩衝液浸出法と近年開発されたリン酸緩衝液抽出法で測定し、水稻の成熟期茎葉のケイ酸含有率との相関を比較したところ、リン酸緩衝液抽出法による測定値において相関が高い傾向がみられ、評価法としての適用性が高いと考えられた。

引用文献

- 今泉吉郎・吉田昌一(1958) 水田土壌の珪酸供給力に関する研究. 農技研報告. B8:261-304.
 高橋和夫(1981) 鋤さいの水稲に対する肥効と水田土壌中の有効態珪酸に関する研究. 四国農業試験場報告. 38:75-114.
 岡山清司・吉野喬(1989) 土壤溶液中のケイ酸濃度と水稻のケイ酸吸収. 富山県農技セ研報. 5:1-14.
 住田弘一(1991) 水田土壌におけるケイ酸の溶出および吸着特性. 土肥誌. 62:378-385.

表2 土壌中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率 (2009年調査)

試料採取地	地質年代	土壌中可給態ケイ酸		試料採取地	地質年代	土壌中可給態ケイ酸	
		含有量(mg/100g) (リン酸緩衝液法)	茎葉(成熟期) ケイ酸含有率(%)			含有量(mg/100g) (リン酸緩衝液法)	茎葉(成熟期) ケイ酸含有率(%)
入善町横山	沖積	22.0	8.7	富山市針原	沖積	32.3	12.9
入善町桐山	沖積	13.9	8.9	富山市浜黒崎	沖積	29.5	12.3
入善町新屋	沖積	12.9	6.4	婦中町音川	沖積	41.7	10.2
入善町小摺戸	沖積	10.9	7.1	婦中町鷓坂	洪積	78.5	11.2
入善町飯野	沖積	33.3	10.4	婦中町古里	沖積	34.3	11.1
入善町青木	沖積	13.0	8.0	大沢野町上大久保	洪積	20.8	9.8
入善町上原	沖積	11.3	6.4	大沢野町二松	洪積	37.9	10.5
入善町入善	沖積	12.5	8.1	大山町花崎	沖積	20.0	10.3
入善町野中	洪積	21.0	7.4	大山町中滝	洪積	38.8	7.2
入善町舟見	洪積	32.3	9.1	八尾町新田	洪積	35.3	9.3
朝日町五箇庄	沖積	18.6	7.2	八尾町杉田	洪積	56.8	13.3
朝日町南保	沖積	28.9	9.1	八尾町小長谷	洪積	29.0	9.9
朝日町山崎	洪積	34.7	10.8	八尾町水口	沖積	38.5	11.4
朝日町大家庄	洪積	27.1	8.8	高岡市二上	沖積	35.9	13.2
黒部市東布施	沖積	21.0	9.2	高岡市二塚	沖積	16.3	8.1
黒部市田家	沖積	23.2	12.2	高岡市国吉	沖積	45.0	15.5
黒部市石田	洪積	70.6	9.7	高岡市小勢	沖積	21.7	11.2
黒部市前沢	洪積	29.1	5.5	高岡市東部	沖積	17.8	8.8
黒部市大布施	沖積	14.8	7.0	高岡市中田	洪積	43.7	15.4
黒部市荻生	沖積	14.7	6.6	高岡市戸出	沖積	12.9	8.0
黒部市若栗	沖積	19.1	7.1	高岡市醍醐	沖積	11.3	7.0
黒部市生地	沖積	10.9	7.5	水見市碁石	沖積	42.4	10.4
黒部市牧野	洪積	77.8	11.3	水見市窪	沖積	27.4	8.1
黒部市愛本	洪積	26.8	6.6	水見市十二町	沖積	25.3	10.2
黒部市浦山	洪積	18.4	6.6	水見市久目	沖積	23.2	9.6
黒部市下立	沖積	19.5	9.3	水見市丸三	沖積	23.0	8.3
魚津市上野方	洪積	40.2	9.3	水見市八代	沖積	44.4	14.5
魚津市中島	洪積	10.0	4.4	水見市北八代	沖積	50.1	12.9
魚津市松倉	洪積	54.4	14.7	水見市新保	沖積	56.0	12.2
魚津市下野方	洪積	28.5	7.5	小矢部市正得	沖積	16.1	9.0
魚津市片貝	沖積	28.2	10.3	小矢部市石動	沖積	18.5	8.5
魚津市加積	沖積	23.6	9.7	小矢部市北蟹谷	洪積	24.7	14.4
魚津市天神	沖積	19.1	8.7	小矢部市南谷	洪積	24.2	8.2
魚津市道下	沖積	19.8	9.3	小矢部市藪波	沖積	33.9	13.6
富山市太田	沖積	21.7	10.9	小矢部市若林	沖積	17.8	11.0
富山市山室	沖積	18.6	7.8	小矢部市水島	沖積	12.4	7.7
富山市蜷川	沖積	26.4	11.3	小矢部市埴生	洪積	24.7	11.4
富山市新保	洪積	72.9	11.3	小矢部市荒川	沖積	11.9	6.9
富山市熊野	沖積	21.4	8.3	福岡町西五位	沖積	26.3	11.3
富山市月岡	沖積	18.4	8.8	福岡町五位山	洪積	33.6	14.8
富山市水橋上条	沖積	26.1	11.4	福岡町福岡	沖積	36.0	11.2
富山市水橋三郷	沖積	28.7	10.2	福岡町大滝	沖積	14.9	8.3
富山市水橋三郷	沖積	21.7	10.0	射水市橋下条	沖積	38.8	11.9
富山市水橋東部	沖積	20.5	10.4	射水市大江	沖積	42.5	11.6
滑川市山加積	洪積	31.9	12.8	射水市下村	沖積	30.2	10.4
滑川市中加積	沖積	12.0	7.5	射水市浅井	沖積	20.4	8.8
滑川市浜加積	沖積	15.5	10.0	射水市櫛田	洪積	33.4	9.9
滑川市東加積	洪積	26.0	9.0	射水市大島	沖積	26.1	12.1
滑川市早月加積	沖積	12.9	6.9	射水市作道	沖積	25.2	10.5
滑川市北加積	沖積	14.6	7.7	射水市野村島	沖積	21.0	13.9
上市町上市	沖積	15.1	9.9	南砺市江田	洪積	56.2	13.0
上市町大岩	洪積	38.9	10.6	南砺市野能原	沖積	30.1	8.9
上市町宮川	沖積	16.8	9.1	南砺市院瀬見	洪積	41.2	11.0
上市町白萩	洪積	20.0	8.4	南砺市竹内	洪積	38.1	11.4
上市町南加積	洪積	34.0	9.8	南砺市遊部	沖積	23.9	9.5
立山町上段	洪積	38.7	6.4	南砺市天池	洪積	35.2	8.0
立山町東谷	沖積	35.2	13.3	南砺市嫁兼	洪積	26.1	6.1
立山町利田	沖積	16.7	7.7	南砺市是安	洪積	38.0	10.6
立山町高野	洪積	35.3	10.3	南砺市井口	洪積	40.4	11.9
立山町五百石	沖積	22.8	10.6	砺波市出町	沖積	16.9	8.0
立山町下段	沖積	21.1	8.4	砺波市林	沖積	23.6	10.3
立山町釜ヶ淵	沖積	21.9	11.1	砺波市高波	沖積	38.6	12.9
立山町新川	洪積	34.5	11.6	砺波市太田	沖積	22.2	10.7
舟橋村舟橋	沖積	27.1	11.0	砺波市東般若	沖積	40.3	11.6
富山市神明	洪積	89.0	16.3	砺波市梅檀野	洪積	32.6	6.7
富山市神明	洪積	87.3	14.1	南砺市野尻	沖積	17.0	10.7
富山市百塚	沖積	20.3	9.8	南砺市広塚	沖積	59.6	14.7
富山市八幡	沖積	34.5	8.9	南砺市東石黒	沖積	25.4	11.4
富山市寒江	沖積	24.9	10.7	砺波市種田	沖積	29.2	7.1
富山市古沢	洪積	31.3	7.0	最大値		89.0	16.3
富山市池多	洪積	30.7	7.3	最小値		10.0	4.4
富山市豊田	沖積	29.9	14.3	平均値		29.2	9.9
富山市藤ノ木	沖積	11.5	6.2				

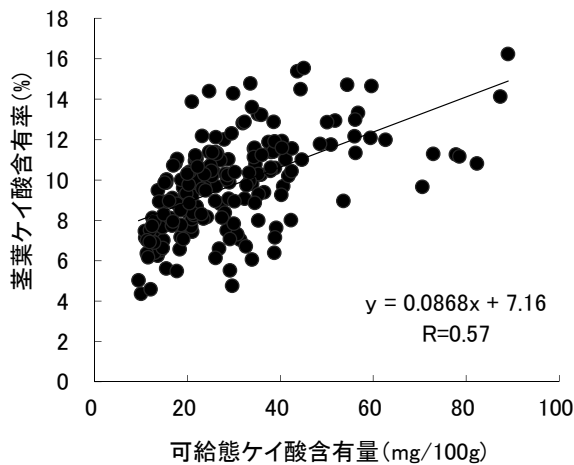


図8 リン酸緩衝液抽出法による土壤中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年および2009年調査)

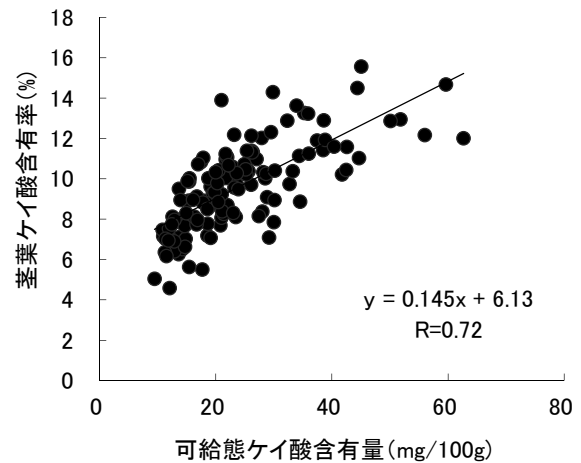


図9 リン酸緩衝液抽出法による土壤中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年および2009年調査、沖積)

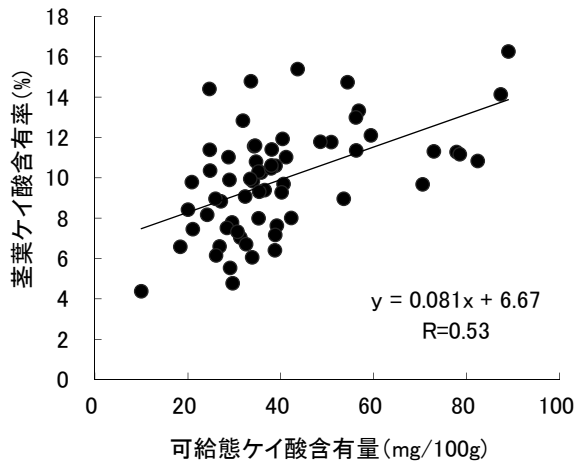


図10 リン酸緩衝液抽出法による土壤中可給態ケイ酸含有量と水稻茎葉ケイ酸含有率(2008年および2009年調査、洪積)

北田敬宇・亀川健一・秋山 豊(1992) 逐次上澄液法による輪換田土壤ケイ酸の有効化過程の解明. 土肥誌. 63: 31-38.

加藤直人(2000) pH6.2のリン酸緩衝液抽出による水田土壤の可給態ケイ酸の簡易評価法. 総合農業の新技术.13: 146-150.

財団法人日本土壤協会(2001) 土壤機能モニタリング調査のための土壤、水質及び植物体分析法. 84-86.

岩手県農業研究センター(2005) リン酸緩衝液抽出法を用いた水田土壤におけるケイ酸施用法. 平成17年度試験研究成果書

Evaluation of Silica Availability in Paddy Soils by the Phosphate Buffer Extraction Method

Munetaka YAMADA, Tomoko HIROKAWA¹⁾, Jun KOIKE²⁾, Hitoshi NAKADA,
Masayo SHIMIZU²⁾, Hideo AZUMA²⁾

Summary

We measured available silica content of paddy soils in Toyama by the acetate buffer extraction method and the phosphate buffer extraction method that was developed in late years.

And we compared the correlation between those available silica content and silica content of the paddy-rice straw in maturing stage.

As a result, the correlation was tighter with the phosphate buffer extraction method, and it was thought that this method had better applicability as the analysis method of available silica in paddy soil.

1) Former Address: Agricultural Research Institute

2) Present Address: Agricultural Technology Division, Toyama Prefecture, Toyama, 930-8501

タマネギ収穫・乾燥方法が細菌性のりん茎腐敗症の発生に及ぼす影響

三室元気・守川俊幸

Genki MIMURO and Toshiyuki MORIKAWA : Influence of Harvest Proceeding and Maintenance on Occurrence of Post-harvest Bacterial Bulb Rot of Onion

I 緒言

富山県の砺波地域では、主産地である西南暖地と北海道の端境期を狙った新たなタマネギの産地化に2008年頃から取り組んでいる。現在、本県で一般的となっている秋まき作型は、農業機械や乾燥施設を整備して栽培面積を2015年産で83haまで急拡大させてきたが、毎年のように各種病害虫が顕在化し、問題となっている。これまで、秋まき作型で問題となった乾腐病については、追肥量と病害発生・収量との関係（守川、2013b）、品種感受性の差異（三室、2015a）が明らかにされ、これらに基づく適正な施肥量への誘導や栽培

品種の選定により解決に向かっている。一方、富山県では長期の積雪に伴う株の消失あるいは消雪後の生育の遅れが課題となっており、これらを回避するために、1月中旬に播種し、4月上旬に定植する新たな春まき作型の導入にも取り組んできた。ただし、この春まき作型では収穫時期が7月の梅雨と重なるため、収穫後の細菌性のりん茎腐敗症（以下、腐敗症）（図1）の発生が問題になっており、この腐敗対策が春まき作型成立の大きな要件となっている（守川、2013a）。

春まき作型において問題となる腐敗症は富山県のみならず、これから本格的に春まき作型での産地化を目指している東北地域においても顕在化しており、対策技術の開発が急務となっている。そ



図1 腐敗症の地上部症状（上段）およびりん茎の腐敗（下段）

ここで、これらの原因とされる病原菌について秋まき、春まき作型の両作型における発病様相を調査するとともに、これらを踏まえた耕種的な防除対策を検討したのでその概要を紹介する。

本研究を実施するに当たり、農研機構野菜花き研究部門白川 隆博士、および元北海道立道南農業試験場 田中 民夫博士には貴重な菌株を分譲頂いた。ここに感謝の意を表す。

なお、本研究は農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「東北・北陸地域における新作型開発によるタマネギの端境期体系の確立」に於いて実施したものである。

II 材料および方法

1 供試細菌

本研究にはタマネギのほかネギから分離された *Burkholderia gladioli* (To8701株)、*Pantoea ananatis* (T25-08株、Pa-ana0807株)、*Pseudomonas syringae* (T25-01株)、*Pectobacterium carotovorum* (9214cc株、6214cc株)、*Dekeya sp* (9237chr) の5属7種類の病原細菌を用いた。各病原細菌はスキムミルク培地で長期凍結保存したものを培養し、滅菌水に懸濁したものを4℃で保存し、ストックとして用いた。必要に応じてこれをPPGA斜面培地の表面に約0.5ml分散し、25℃で2日間培養したものを接種源に用いた。

2 耕種概要

本研究では、448穴のセルトレイ育苗した苗を用い、春まき作型では1月下旬に播種して無加温のガラス温室内で育苗し4月下旬に黒マルチを展張した畝に定植した。秋まき作型では8月下旬に同様に播種し、雨よけハウス内で育苗した苗を10月中旬に定植した。定植は畝幅170cm、株間10cm、4条植えて行い、肥培管理は富山県の栽培指針に準じた。

3 各種細菌による病原性の確認(試験1)

試験は「ターザン」、「オホーツク222」、「もみじ3号」、「TTA735」を供試して2013年と2014年に実施した。菌株は両年とも *B. gladioli* (To8701)、*Pan. ananatis* (T25-08)、およびタマネギ軟腐病菌の *Pec. carotovorum* (9214cc) を用いた。生育期に病原菌を 10^9 cfu/m³ 相当量散布して、葉身および葉鞘の病斑の有無を調査した。2013年は、4

月25日に各品種を圃場に定植し、6月2日および6月15日に病原菌を散布し、6月24日および7月1日に調査した(68株/区、3反復)。2014年は4月15日に定植し、6月19日に病原菌を散布し、6月23日に調査した(72株/区、3反復)。

また、収穫時の発病が貯蔵中の発病に及ぼす影響を調査するため、2013年4月23日に定植した「ターザン」に、*Pec. carotovorum* (6214cc)、*B. gladioli* (To8701)、*Pan. ananatis* (Pa-ana0807)、および *Pse. syringae* (T25-01) をそれぞれ接種した区から、地上部健全株と発病株に分けて7月4日に収穫し、貯蔵した(14~41株/区、3反復)。収穫したりん茎の貯蔵は試験区ごとにプラスチックコンテナに入れ、コンクリート建屋内にて常温で貯蔵した。その後8月21日に発病株率を調査した。貯蔵中の発病は、りん茎を縦に切断し、断面のりん片の褐変により判断した。

4 剪葉がりん茎腐敗症の発生に及ぼす影響(試験2)

りん茎腐敗症に対する剪葉と収穫時期の影響を明らかにするため、2013年4月25日に定植した春まき作型の「ターザン」に、収穫適期の7月3日(圃場全体の8割程度倒伏した10日後)に剪葉し収穫する区、適期5日後の7月8日に剪葉し収穫する区、および適期の7月3日に剪葉し5日後の7月8日に収穫する区を設けた。収穫後は各区とも2日間、コンクリートパネルと小型電動送風機(昭和電機製)で作製した強制通風装置により通風乾燥し(以下、風乾と記す)、貯蔵中の8月20日に発病を調査した(50株/区、3反復)。貯蔵およびりん茎の発病調査は試験1と同様の方法で行った。剪葉は葉鞘基部から5cmの位置で行い、病原菌の接種は行わなかった。

次に、りん茎腐敗症の発生と剪葉位置との関係を調査するため、2013年は4月25日定植の春まき作型、2014年は前年10月22日定植の秋まき作型および4月15日定植の春まき作型で試験を行った。両年とも春まき作型は自然発病条件とし、秋まき作型は2014年5月15日、24日に *B. gladioli* (To8701)、*Pan. ananatis* (Pa-ana0807) を 10^8 cfu/m³ 相当量を散布した。剪葉位置は2013年が2cm、6cmおよび10cm、14年は3cm、8cmおよび13cmとした。また剪葉位置の影響を乾燥条件と組み合わせて調査するため、剪葉後、当日に収穫し風乾する区と圃場に1週間放置して収穫し風乾する区を設け、収穫から1ヵ月後に発病を調査し

た(50株/3反復)。貯蔵およびりん茎の発病調査は試験1と同様の方法で行った。

更に、多発時の剪葉部からの病原菌の感染を想定し、2013年は剪葉するはさみに*B.gладиoli*(To8701)、*Pan.ananatis*(Pa-ana0807)およびD.sp(9237chr)の菌液を付着させ、2cm、5cmおよび8cmの長さで剪葉し、収穫翌日に風乾し、48日後に発病を調査して、剪葉位置がりん茎腐敗症の発生に及ぼす影響をみた(60株/3反復)。

5 りん茎腐敗症に対する収穫時の条件および収穫後の乾燥条件の影響(試験3)

上記試験2において、収穫時の葉身の病斑の有無、葉鞘断面の褐変の有無によって仕分けした株について、収穫時のりん茎の乾湿と収穫後の乾燥条件を変えて貯蔵中の発病株率を調査した(30株/区、3反復)。収穫時のりん茎の乾湿は収穫時に乾燥している株と濡れている株とし、濡れている株はジョウロを使用してかん水することで、収穫時の降雨を模した。収穫後の乾燥条件は風乾な

し、収穫当日風乾および収穫翌日風乾とした。試験は自然発病条件下で行った。

III 結果

1 各種細菌による病原性の確認(試験1)

品種によって葉の発病に違いが認められた(図2)。2013年では、3種の細菌とも「オホーツク222」で発病株率が最も高かった。3種の細菌を用いた2014年でも同様に「オホーツク222」で最も発病株率が高かった。

圃場でのりん茎腐敗症の発病と貯蔵中の発病との関係を見ると、圃場で細菌性病害の発生が認められた株は、病原細菌の種類を問わず貯蔵中に高頻度に発病した(表1)。特に、りん片腐敗病菌の*B.gладиoli*および*Pan.ananatis*を接種した区は82.5%や75.0%と軟腐病菌の*Pec.carotovorum*および斑点細菌病菌の*Pse.syringae*と比べて顕著に高かった。

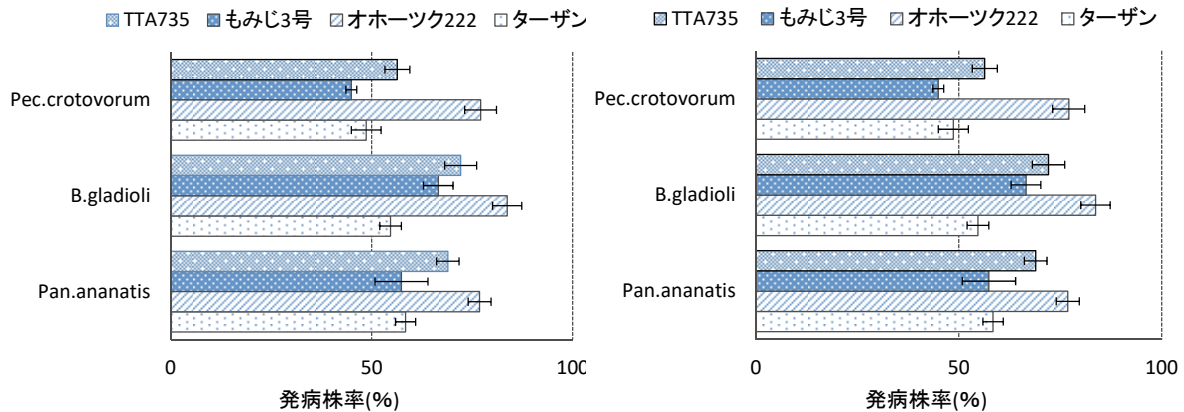


図2 葉の腐敗症に対する品種感受性の差異

左: 2013年(7月1日調査の発病株率)

右: 2014年

注) 図中の横棒は標準誤差を示す。

表1 圃場における発病の有無と貯蔵中の発病との関係

病名	病原菌	貯蔵中の発病株率(%)	
		圃場発病(無)	圃場発病(有)
りん片腐敗病	<i>Burkholderia gladioli</i>	10.7 (n=56)	82.5 (n=93) **
	<i>Pantoea ananatis</i>	5.5 (n=91)	75.0 (n=56) **
軟腐病	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	8.2 (n=121)	37.9 (n=74) **
斑点細菌病	<i>Pseudomonas syringae</i>	10.2 (n=87)	45.8 (n=41) **

注1) 各細菌病を接種した区から発病の有無に分けて収穫した。

注2) **は2群の比率の差の検定により、1%水準で有意差があることを示す。

2 剪葉がりん茎腐敗症の発生に及ぼす影響(試験2)

剪葉および収穫時期の影響をみると、収穫適期の7月3日に剪葉して収穫した区における貯蔵中の発病株率は8.3%であったが、適期から5日後の7月8日に剪葉し、収穫した場合、発病株率は21.6%と増加した。さらに、7月3日に剪葉し、7月8日まで圃場に放置して収穫した場合は29.5%と著しく発病株率が増加した(図3)。

剪葉位置と風乾時期の影響をみると、いずれの年次、作型においても収穫当日に風乾した場合、貯蔵中の発病株率は剪葉位置が短いほど低く、剪

葉位置が長いほど高かった。一方で、風乾せずに圃場に放置した場合には貯蔵中の発病株率に剪葉位置の影響は認められなかった(図4)。

また、無接種の自然発病条件下で剪葉した翌日に風乾を開始した場合、葉鞘基部からの剪葉位置を2cmとして、りん茎に残る葉鞘の長さを短くした場合、発病率は低下した。はさみに細菌を塗布させた場合は、自然発病条件下とは異なり、短く剪葉することにより発病株率が増加する傾向が認められた(図5)。

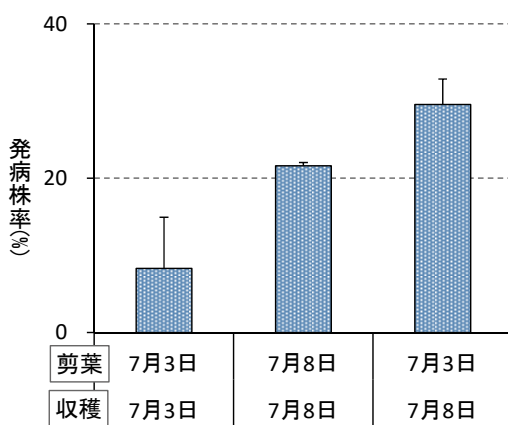


図3 剪葉と収穫の時期がりん茎腐敗症の発生に及ぼす影響
注) 図中の横棒は標準誤差を示す。

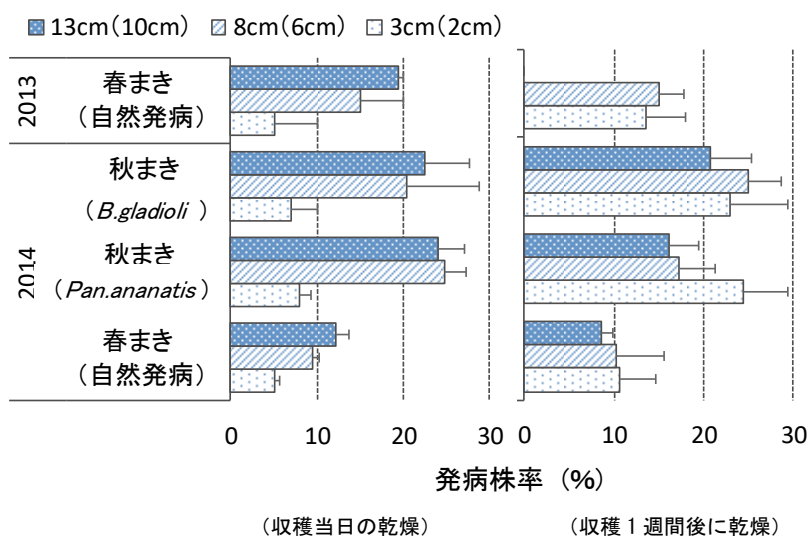


図4 剪葉位置が貯蔵中の腐敗症の発生に及ぼす影響

注1) 図中の凡例は葉鞘基部からの剪葉位置を表す。(())無しは2014年, ()有りは2013年
注2) 図中の横棒は標準誤差を示す。

3 りん茎腐敗症に対する収穫時の条件および収穫後の乾燥条件の影響 (試験3)

貯蔵中の腐敗症の発病株率は、収穫時の葉身や葉鞘断面に病斑が認められず、りん茎表面が濡れていない状態のものを収穫当日に直ちに風乾する区が最も低かった。また、葉身と葉鞘断面に発病が認められた区では、発病株率が最も高く60%となった (図6)。

IV 考察

本研究では、まず4品種を用いて、地上部におけるりん茎腐敗症の発生を調査し、発病に対する品種間差を認めた。これらは本研究で用いた複数

の異なる細菌病に対して共通する感受性の差異であった。なお、本試験では「オホーツク222」は細菌性病害に弱いと判定されたものの、乾腐病には比較的強く(三室ら、2015b)、問題になる病害種類に応じて品種を選定する必要があると考えられた。

また、試験1の結果より、圃場におけるりん茎腐敗症の発生が貯蔵中の発病に直結することが明らかとなり(表1)、まずは薬剤防除などで圃場での発生を防ぎ、貯蔵工程に発病株を持ち込まないことが防除対策に重要であることが示唆された。さらに、収穫時期が遅れるとりん茎腐敗症の発生は増加し、収穫後の風乾は抑制的に働くことが示唆されたが、これは、在圃期間が長くなることに

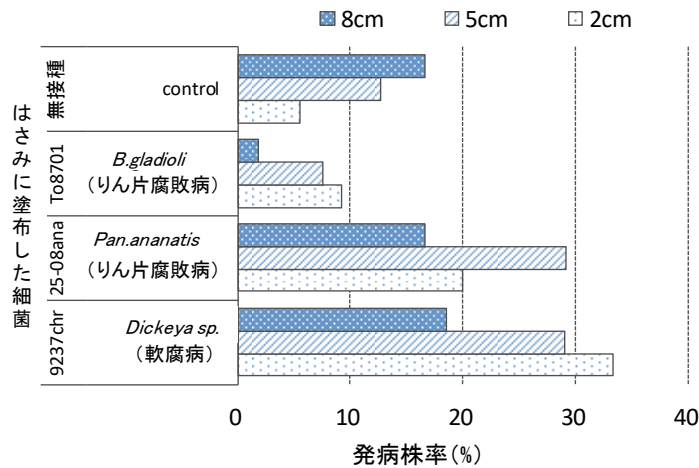


図5 剪葉位置とはさみへの菌の塗布が腐敗症に及ぼす影響

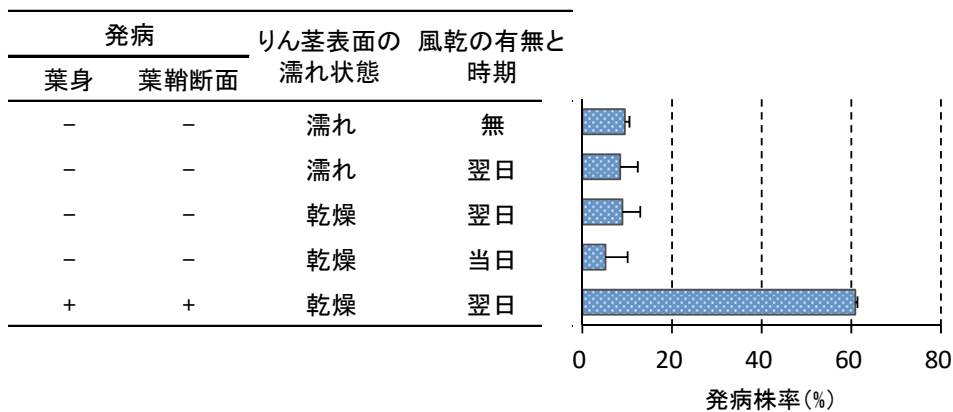


図6 収穫時の各条件が貯蔵中の腐敗症の発生に及ぼす影響

注1) 図中の+および-は発病の有り(+)/無し(-)を示す。

注2) 図中の横棒は標準誤差を示す。

より、葉身や葉鞘の発病リスクが高まるとともに、病原菌の植物体への侵入深度も深くなるためと推察された。北陸地域では、特に春まき作型において、収穫時期が遅れると梅雨と重なり、気温も高くなることから収穫適期を迎えたタマネギは速やかに乾燥工程へ移行する必要があると考えられた。

タマネギのこれら一連の作業は、気候や作型、設備によって大きく異なり、地域によって収穫時の剪葉の有無、残す葉鞘の長さも様々である。そこで、りん茎腐敗症の発生リスクを軽減させるために、剪葉の位置やその後の収穫・乾燥方法が発病に及ぼす影響を調査した。剪葉時に罹病部位を含めて除去出来れば、病原菌を貯蔵工程に持ち込まず、発病株が低減すると考えた。その結果、無接種の自然発病条件では、短く剪葉して早期に風乾することにより、発病が減少した。一方、短く剪葉し圃場に放置した区では発病抑制効果は認められなかった。また、病原細菌を塗布したはさみで剪葉した場合は、逆に短く剪葉した区でりん茎腐敗症の発生が増加した。これは、短く剪葉し、患部を除去することにより病原菌のりん茎への移行が阻止され、さらに早期に風乾することにより、切除した部位が固化・収縮し、それ以降の病原菌の侵入が起こりにくくなるためと考えられた。一方、切除後、圃場に放置することにより、切り口の乾燥が遅れるため、病原菌の二次汚染のリスクが高くなると考えられた。また、放置期間の降雨の影響により、泥の跳ね上がりや、雑菌の繁殖による外皮の汚損が認められていることから、圃場放置が貯蔵中のりん茎腐敗症の発生を増加させた一つの要因であることが推察された。海外でも圃場に放置した期間中の降雨リスクについて指摘されており(Wright et al.,1993、Howard et al.,2008)、本結果と一致するものであった。また、試験3では、りん茎表面が濡れていない状態のものを収穫当日に直ちに風乾する区が最も発病株率が低かったことなどから、収穫時に降雨が予想されている場合は、剪葉後、速やかに回収して乾燥施設に搬入するなど一連の作業を当日中に終了できるよう計画的に行う必要があると考えられた。生産現場において、圃場での葉身の発病が少ない場合は、短く切って早期に乾燥させることが望ましいが、発病が多い場合は剪葉作業の合間に切刃をアルコール類で消毒して刃物による二次伝染を防ぐ必要があると考えられた。

以上の結果から、剪葉後、すみやかに乾化作業

を行うことにより貯蔵中の発病を軽減させることが可能であることを示した。富山県では大型の乾燥施設が導入されており、短期間に集中して大量のタマネギを機械乾燥させることができるため、今回の試験結果を応用した対応が可能であると考ええる。生産現場においては、生産規模が急激に拡大する中で、適期の収穫作業と乾燥施設の受入れ体制の間でミスマッチが生じた場合、剪葉後のタマネギが速やかに施設に搬入されないリスクも懸念されることから、収穫・乾燥工程が円滑に進行するよう周回の調整を図ることが重要と考える。

引用文献

- Howard F. Schwartz & S.Krishna Mohan. (Eds.) (2008) Compendium of Onion and Garlic Diseases and Pests : 63. APS Press.
- 三室元気・守川俊幸(2015a)タマネギの収穫調製条件が細菌による貯蔵病害の発生に及ぼす影響. 日植病報 81:88.
- 三室元気・守川俊幸・田村美佳・西畑秀次・浅井雅美・宮元史登(2015b)タマネギ乾腐病の耕種的な防除方法. 富山県成果情報
- 守川俊幸(2013a)新しい産地化に向けたタマネギ病害対策. フザリウム研究会資料集 9:23.
- 守川俊幸・西畑秀次・田村美佳・中田均・浅井雅美・宮元史登(2013b)追肥がタマネギ乾腐病の発生と収量に及ぼす影響. 北陸病害虫研報62:23~27.
- 守川俊幸・西口真嗣・白川隆・宮元史登・長谷川優・田村美佳・山崎篤(2014) *Pantoea ananatis* によるタマネギの被害と育苗期の防除. 関東病虫研報 61 : 175.
- 大西忠男・岸本基男・置塩康之(1978)タマネギの機械収穫と乾燥貯蔵に関する研究 第2報剪葉位置および打撲傷が腐敗に及ぼす影響. 兵庫県農総セ研究報告 27 : 19~22.
- 佐々木純(1997)タマネギ鱗片腐敗病の病徴の推移. 日植病報63(6) : 533.
- 白川隆・西口真嗣・山内智史(2010) *Pantoea ananatis* によるタマネギ鱗茎腐敗症の発生. 日植病報76(3) : 176.
- Wright, P. J., Hale, C. N., and Fullerton, R. A. (1993) Effect of husbandry practices and water applications during field curing on the incidence of bacteria soft rot of onions in store. N. Z. J. Crop Hortic. Sci. 21 : 161-164

Influence of Harvest Proceeding and Maintenance on Occurrence of Post-harvest Bacterial Bulb Rot of Onion

Genki MIMURO and Toshiyuki MORIKAWA

Summary

The effects of onion harvesting and preparation methods on bacterial storage rot were investigated, under natural disease conditions where *Burkholderia* spp and *Pantoea ananatis* dominate, late harvest resulted in increased rot, furthermore harvesting under wet conditions and delayed drying after harvesting promoted rot. Moreover, as a result of investigating the effect of the position which cuts a leaf at the time of harvest on bulb rot, the disease rot decreased when the leaves were cut to about 3 cm and dried immediately. On the other hand, the effect was not recognized when leaving to the field without drying. In addition, onion diseased in the field was frequently increased in bulb rot after harvest. From the above, in order to reduce storage rot caused by bacterial diseases, it was considered desirable to reduce the onset of diseases in the field by chemical control, avoid rainfall at harvest time, cut short leaves and dry immediately.

育苗期のタマネギに発生した *Phytophthora nicotianae* および *Pantoea ananatis* による病害

守川俊幸・三室元気・田村美佳¹⁾・宮元史登²⁾

Toshiyuki MORIKAWA, Genki MIMURO, Mika TAMURA, and Fumito MIYAMOTO : Occurrence of Onion Seedling Diseases Caused by *Phytophthora nicotianae* and *Pantoea ananatis*

I はじめに

富山県の水田化率は全国で最も高く、水稻に特化した農業構造を有している。一方では、コメの消費は減少し、その他の水田転換畑作物と組み合わせた水田農業のありようが求められている。県西部の砺波地区において、2009年頃からダイズ、オオムギにかわる有望な新たな品目として、タマネギの産地化がすすめられ、急速にその栽培面積は増加してきた。栽培開始の当初、従事者の多くが園芸作物の栽培経験が少ないため、様々な課題に直面したが、その後、栽培技術は向上し、単収および栽培面積は増加してきた。2017年産の砺波地区の栽培面積は100haを超え、さらに全県的な生産拡大が図られようとしている。

砺波地区では、機械移植を前提とした96穴セルトレイの育苗を基本としており、育苗には既設の水稻育苗ハウスが活用されている。セル育苗では一粒まきのため、種子の発芽不良や育苗中の病害による欠株・生育不良が生じると、本圃での機械移植時の欠株や、生育の不揃いが生じる。このため、発芽率の高い種子の利用、苗の健全な均質栽培が強く求められる。ところが、2010年9月に砺波市の育苗ハウスの播種2~3週頃の苗で、スポット状あるいは全面に立ち枯れ性の病害が発生した。その後も、いくつもの施設で同様な病害の発生が数年間続いた。また、同じころから、育苗の中後期に、剪葉作業の後に切り口から白く枯れあがる被害が生じた。2013年、施設によってはこの症状が全面に発生し、大きな問題となった。調査の結果、前者はタマネギ疫病の病原である

*Phytophthora nicotianae*が、後者はりん片腐敗病の病原細菌である*Pantoea ananatis*に起因する病害であることが明らかになった。

本稿では、これら育苗期に発生して問題となった病害の同定や発生要因を調査した結果を報告する。なお、本研究の一部は、農林水産省食品産業科学技術研究推進事業(24006)「東北・北陸地域における新作型開発によるタマネギの端境期生産体系の確立」で実施したものである。また、本研究を行うにあたり、鳥取県農業試験場長谷川優博士、兵庫県立農林水産技術総合センター西口真嗣氏、農研機構野菜花き研究部門白川 隆博士には有益な情報を頂いた。この場を借りて篤くお礼申し上げる。

II *Phytophthora nicotianae* による苗の立枯症

1 病徴

この立枯症状は、苗の地際部付近が水浸状に腐敗することから始まり、その部分を境に倒伏した。地上部はやがて暗緑色に枯れ上がるか腐敗消失した(図1)。小さい苗ほど被害が大きい傾向にあり、発生は数株のスポット状のものからトレイ全体に広がるものまで様々で、灌水のたびに被害は拡大した。なお、患部を顕微鏡観察すると、無色の無隔壁菌糸が組織内に広がり、罹病組織片を滅菌水中に浮遊させておくと水中に乳頭突起を有する倒卵型の遊走子嚢の形成が観察された(図2)。

1) 現在：富山農林振興センター

2) 現在：富山県農産食品課

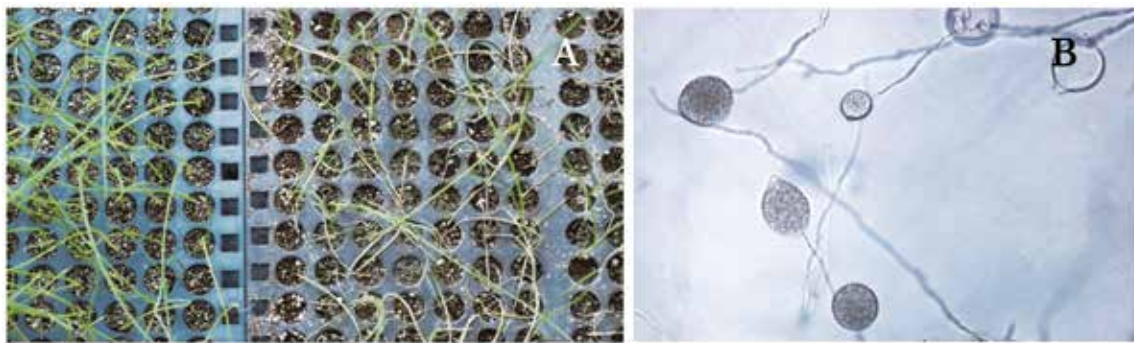


図1 セルトレイ育苗で発生した疫病菌による苗立枯症状 図2 水中に形成される疫病菌の遊走子のう



図3 農業用水からのニラ葉片を用いた菌の捕捉と分離

A: 採集した農業用水(20Lポリタンク)にニラ葉片を投入、B: 一晩置いたのち、ニラ葉片を回収し、蒸留水で洗浄、C: 疫病菌選択培地に置床し、菌を分離(左・中の4枚は農業用水、右2枚は対照の蒸留水からの検出例)

2 材料および方法

1) 菌の分離と病原性の検定

罹病切片の表面殺菌には70%エタノールを用い、素寒天平面培地に置床して単菌糸片を摘出し、CMA培地(Difco)上で純粋培養が確認されたものを分離菌とした。分離菌は、CMA斜面培地(魚粉入)で保存するとともに、CMA培地あるいは素寒天培地上での形態を観察した。また、*P. nicotianae*(2)-1株(Maiting tye A1)と対峙培養し、卵胞子形成の有無から交配型を決定した。また、播種2週間後のタマネギおよびネギの苗(15~20株/ポット)の地際にCMAで培養した含菌片を接種し、発病の有無を調査した。

2) 農業用水からの菌の分離

伝染源として農業用水が疑われたことから、2011年10月12日に3か所の農業用水からポリタンクに水を採集し、菌を捕捉するためのニラ葉片を投入した。室温で18時間放置した後にニラ葉片を回収し、BNPRA-HMI培地に葉片を置床して培養した(図3、A~C)。分離菌は、タマネギお

よびネギの苗に含菌寒天接種して病原性を調査した。

3 結果

1) 病原菌の同定

タマネギの苗から分離された疫病菌はネギとタマネギの両方に病原性を示し、現地と同様な苗立枯症状が再現された。また、分離菌の遊走子のうは、乳頭突起を有する卵形で非脱落性、単独の菌株で卵胞子は形成せず、*P. nicotianae*(2)-1株交配型A1との対峙培養で、卵胞子の形成が認められた(表1)。以上から、分離菌はタマネギ疫病菌と同じ*P. nicotianae*と同定され、今回発生した苗立枯性病害はタマネギ疫病の一症状であると判断された。

2) 農業用水からの菌の分離

多くのニラ葉片の切断面からPythium等の藻菌類が発育した。検出率は水道水区0%、太田用水50%、野尻用水72%、安清用水67%であった。次に、用水から分離された菌をタマネギ苗に接種

表 1 分離菌のタマネギとネギに対する病原性

接種菌	分離源	交配型	発病株数/供試株数		
			タマネギ		ネギ
			ターボ	ネオアース	ホワイトスター
a2	タマネギ	A2	16/17	14/15	14/14
b3	タマネギ	A2	17/18	13/14	11/12
2101	ネギ	A1	16/16	13/14	14/14
無接種			0/12	0/16	0/15

表 2 農業用水からのニラ葉片を用いた菌の捕捉と分離菌の病原性

	捕捉用 ニラ葉片数	菌生育 葉片数	検出率 %	分離 菌株数	分離菌のタマネギ苗 に対する病原性	
					+	-
太田用水	60	30	50	12	7	5
野尻用水	60	43	72	14	5	9
安清用水	60	40	67	14	7	7

したところ、それぞれの用水から分離された菌の約半数に病原性が確認された（表2）。その多くは、野菜類の主要な苗立枯病菌である *Pythium* 属菌（種未同定）で、*Phytophthora* 属菌は検出されなかった。

4 考察

本研究により、育苗期の立枯れ性病害として、疫病菌が関与していることが明らかになった。本病が問題となった施設では、セルトレイが遮根シートを敷いた地表面に置かれ、排水は悪く多湿条件で、疫病の発生しやすい環境であった。また、育苗施設は、既設の水稲育苗ハウスが転用され、農業用水が直接汲み上げられ、灌水に用いられていた。

水稲の育苗施設では、面積が大きい場合に農業用水を灌水に用いることがあり、*Pythium* 属菌によるムレ苗の大きな発生要因となっている。今回の調査では用水から疫病菌は検出されなかったものの、タマネギ苗に病原性を示す *Pythium* 属菌（種未同定）がいずれの農業用水からも検出された。今後、*Pythium* 属菌による苗立枯病の発生も予見される。なお、今回、疫病菌は検出されなかったが、灌水に用いられている河川、農業用水（ため池）から様々な疫病菌が検出され、これらが野菜や果樹の各種疫病の伝染源になることが知られている（Yama k et al. 2002, Gevens et al. 2007, Tjosvld and Chambers 2008, Loyd et al. 2014）。疫病菌の中でも *P. nicotianae* は、寄主範囲が広く

（Erwin and Ribeiro 1996）、広く野外に生息していると考えられることから、調査を重ねることにより、本県の農業用水からも本疫病菌が検出されるものと推察される。

なお、疫病菌に限らず、灌水が様々な植物病害の伝染源となることは、経験的に知られており、園芸品目の苗生産では、一般には井戸水などの清澄な水の使用が心がけられている。一方、水田地帯に新たに形成された園芸産地では、急速な生産拡大にその施設整備が追い付かない状況にあり、このことが苗における疫病の発生要因の一つになっていると考えられた。今後は、育苗施設の有効利用を図りながらも、灌水設備の充実をすすめる必要があると考えられた。

III *Pantoea ananatis* による白色葉先枯症状

1 発生の様相と病徴

セルトレイ育苗では、倒伏の防止と機械移植の作業性の向上を目的に、動力式の剪葉機で葉を切りそろえるが、処理の数日後から切り口から白く枯れあがる現象が認められた。発生は剪葉機の進行方向に筋状に広がるが多く（図4、左）、当初は動力の機械油の飛散によるものとする意見もあったが、剪葉のたびに被害が全面に広がる様子からは（図4、右）、何らかの病害の関与が疑われた。また、顕微鏡観察で、患部から細菌の菌泥の溢泌が認められた。



図4 剪葉機の進行方向に沿って発生した葉先枯症状(左:中発圃場、右:多発圃場)

2 材料および方法

1) 病原細菌の分離と同定

健全との境界部の組織片を70%エタノールで表面殺菌し、滅菌水中で磨砕した液を普通寒天培地に画線して、生じたコロニーから純粋培養を得て、保存菌株とした。分離された細菌250nTL-01株は、タマネギりん片への病原性を確認した後、API 20 NEによる生理的性状調査、16s rDNA領域の相同性調査を行って分類学的な所属を決定した。なお、所内圃場で発生したりん片腐敗症状から分離された類似の細菌250nTL-2株も同様に調査した。

2) 刃物による伝染と消毒法

*Pan. ananatis*による葉先枯症の刃物での伝染の有無を調査するとともに、刃物の除菌法について検討した。伝染試験では*Pan. ananatis* 250nTL-01株の接種発病葉を剪葉し、刃物(ハサミ、刃渡7cm)を汚染させた。また、刃物の除菌試験では発病葉の2倍量脱イオン水磨砕液を刃物に塗抹し、24時間後に除菌処理を行った。刃物の消毒には調理器具等の除菌に用いられるアルコール製剤(食品添加物、68%エタノール含有)を用い、除菌処理後の刃物は滅菌水中で超音波処理(20秒間)した後、NSVC-In培地(長谷川ら, 2003)を用いて液中の菌濃度を測定した。

3) 薬剤防除試験

70穴にカットした448穴セルトレイで育苗した苗(品種:ターザン)に、軟腐病の防除に使用されるオキシテトラサイクリン・ストレプトマイシン水和剤(アグリマイシン-100水和剤)、銅水和剤(コサイド3000)、オキシソリニック酸・有機銅水和剤(ナレート水和剤)を用い、剪葉前日(24

時間前)、剪葉直後(1時間後)、剪葉翌日(24時間後)に各薬剤の1000倍液(展着剤加用)を散布し、剪葉の9日後に任意27~35株の発病の有無を調査した。なお、剪葉の際、*Pan. ananatis* 250nTL-01株の懸濁液(108cfu/ml)にハサミを浸し、接種源とした(11月19日)。

3 結果

1) 病原細菌の同定

発病苗から分離された細菌250nTL-01株およびりん片腐敗症状株から分離された250nTL-2株は、両者ともタマネギに病原性を示した。また、普通寒天培地上では黄色の集落を形成し、グラム陰性で通性嫌気性で運動性を有し、硝酸塩の還元、アルギニンジヒドラーゼ、ウレアーゼ、エスクリンとゼラチンの加水分解は陰性、インドールの産生、 β -ガラクトシダーゼ活性は陽性、グルコース、アラビノース、マンノース、N-アセチル-グルコサミン、マルトース、グルコン酸、リンゴ酸、クエン酸を同化し、カプリン酸、アジピン酸、酢酸フェニルは利用しなかった。API20NEのプロフィールインデックスは、606,7741で、西山(1997)のAPI20NE簡易同定(web版)によると、99.9%の確立で*Pan. ananatis*であると同定された。また、16SrDNA領域の塩基配列は既往の同菌と99%の相同性を示したことから、分離菌はいずれも*Pantoea ananatis*と同定された。

2) 刃物による伝染と消毒法

本病発病株を切除した刃物(ハサミ)で剪葉することにより、葉先枯症が発病した(表3、図5)。次に、汚染された刃物の除菌法について検討した結果、流水洗浄のみでは付着菌量を1/10程度ま

でしか減らせなかったが、洗浄後にアルコール製剤を噴霧することにより1/3000以下に除菌することができた(表4)。

3) 薬剤防除試験

3種の薬剤を剪葉の前日、剪葉直後(1時間後)、翌日に散布したところ、オキシリニック酸・有機銅水和剤やオキシテトラサイクリン・ストレプトマイシン水和剤では前日~剪葉直後の散布に高い防除効果が認められた。一方、銅水和剤には十分な防除効果が認められなかった(図6)。



図5 刃物による伝染
上：汚染ハサミ
下：非汚染ハサミ

表3 刃物による伝染試験

	発病株数/供試株数	
	試験1	試験2
汚染ハサミ	12/12	10/12
非汚染ハサミ	0/12	0/12

注) 発病株と健全株をそれぞれ切除したハサミ(汚染ハサミおよび非汚染ハサミ)で剪葉した苗の発病を剪葉1週間後に調査

4 考察

剪葉後に発生した白色の葉先枯症状は *Pan. ananatis* に起因する病害であることが明らかとなった。本菌は、*Burkholderia gladioli* とともに、りん片腐敗病の病原として記載されており(日本植物病理学会 2018)、育苗期ばかりでなく、生育期間中あるいは収穫後に発生して問題となっている(白川ら 2010、守川ら 2014、三室・守川 2016)。また、兵庫県における本菌による育苗期の被害についても西口らによって調査されている(私信)。*Pan. ananatis* は、イネ内穎褐変病など

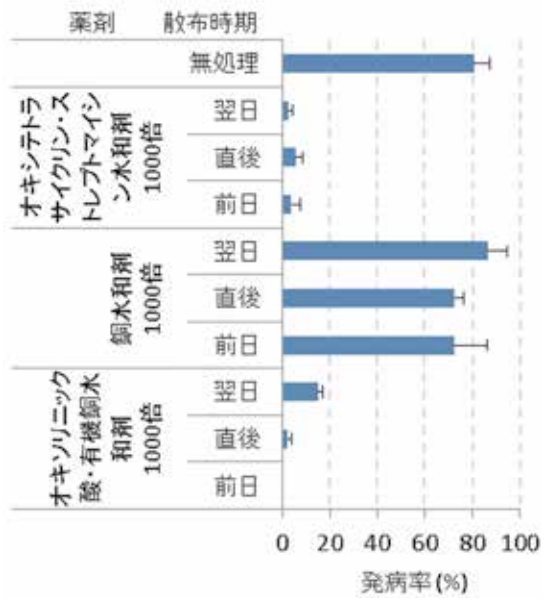


図6 苗の剪葉時の薬剤散布が *Pan. ananatis* による葉先枯症の発生に及ぼす影響
注) 病原細菌に汚染されたハサミで剪葉

表4 ハサミの洗浄・消毒が *Pan. ananatis* の残存に及ぼす影響

処理	残存菌数(cfu/ハサミ)				対無処理比
	1	2	3	平均	
無処理	6,160,000	9,240,000	2,660,000	6,020,000	
洗浄	749,000	511,000	518,000	592,667	1/ 10
洗浄+アルコール消毒	2,100	3,150	0	1,750	1/ 3,440
アルコール消毒	133,000	20,650	5,600	53,083	1/ 113

の病原として知られるものの、葉面細菌の一種として知られ、雑草を含む様々な植物から病原性を有する系統とそうでない系統が分離されている(畔上 2016)。また、タマネギやイネでは種子伝染するばかりでなく(Walcott *et al.* 2002、長谷川 2004)、アザミウマが媒介するケース(Dutta *et al.* 2014)も知られており、本菌は自然界に広く生息し、多様な伝染源があると推察される。よって、本病菌の育苗施設への侵入を防ぐことは容易ではないと予想されるが、感染の機会を減らすため、もみ殻やわらなどを施設内に放置しないこと、剪葉後は切り口が早期に乾くよう、午前中に作業を行って風通しを良くすること、剪葉後に灌水しないことなどが基本的な対策として考えられる。また、初発を見逃さず発病したセルトレイを除去し、定期的な剪葉機の清掃・消毒を行うこと、また、剪葉前あるいは直後のりん片腐敗病や軟腐病を対象にした薬剤散布は、圃場での細菌性病害の発生を防ぐ上でも有効な対策だと考えられた。なお、今回は刃物の消毒に70%エタノールを用いたが、その他の消毒剤の実用性についても今後は検討する必要がある。

IV 総合考察

本稿では、疫病とりん片腐敗病の育苗期における発生について紹介した。この他に、乾腐病など *Fusarium* 属菌による苗立枯病が発生しており、その対策の一部についても提案されたところである(三室ら、2015)。

これら病害を効率的に防除するには、病原の解明はもとより、発生生態を明らかにする必要がある。今回、①疫病は、水稻の育苗方式がそのままタマネギに転用されたこと、②りん片腐敗病は、機械移植を前提とした剪葉作業がそれぞれの主要な発生要因と考えられた。このように発生生態や発生要因を明らかにし、未然に被害を回避しながら効率的な対策(効果的で意味のある防除)を講じる必要がある。新興産地の栽培技術は未熟ではあるものの、一つ一つの技術的課題を克服し、学ぶことによって、今後も地域の特性や時代に応じた栽培体系に改良されてゆくものと期待される。対応すべき病害虫は1つではなく、年次や圃場によって採るべき対策も異なるものと考えられる。将来の持続的な安定生産をも視野に入れながら、一連の対応策から何を選択し、栽培管理に組み込

むかについて、柔軟に考え、最適化を図る必要がある。そのためには、技術を単にマニュアル化するのではなく、最適化を図り、これを実現できる人材の育成が必要であると考えられる。

引用文献

- 畔上 耕児 (2016) *Pantoea* 属菌の雑草等からの分離とタマネギおよびネギに対する病原性. 微生物遺伝資源探索収集調査報告書(農業生物資源ジーンバンク) 25: 45-56.
- Dutta, B., Barman, A. K., Srinivasan, R., Avci, U., Ullman, D. E., Langston, D. B., and Gitaitis, R. D. (2014) Transmission of *Pantoea ananatis* and *P. agglomerans*, causal agents of center rot of onion (*Allium cepa*), by onion thrips (*Thrips tabaci*) through feces. *Phytopathology* 104:812-819.
- Erwin, D.C. and Ribeiro, O. K. (1996) *Phytophthora*, Diseases Worldwide. APS Press, Minnesota. 562pp.
- Gevens, A. J., Donahoo, R. S., Lamour, K. H., and Hausbeck, M. K. (2007) Characterization of *Phytophthora capsici* from Michigan surface irrigation water. *Phytopathology* 97:421-428.
- 長谷川優 (2004) イネ内穎褐変病の発生生態に関する研究. 鳥取県農業試験場特別研究報告 6: 1-48.
- 長谷川優・畔上耕児・吉田浩之・尾谷 浩 (2003) イネ内穎褐変病菌 *Erwinia ananas* 検出のための選択培地. 69: 224-228.
- Loyd, A. L., Benson, D. M., and Ivors, K. L. (2014) *Phytophthora* populations in nursery irrigation water in relationship to pathogenicity and infection frequency of *Rhododendron* and *Pieris*. *Plant Dis.* 98:1213-1220.
- 三室元気・田村美佳・守川俊幸 (2015). タマネギ乾腐病の耕種的防除法の検討. 日植病報 81: 88.
- 三室元気・守川俊幸 (2016) タマネギ収穫調製法が細菌性の鱗茎腐敗症の発生に及ぼす影響. 植物防疫 70: 582-587.
- 守川俊幸・西口真嗣・白川 隆・宮元史登・長谷川優・田村美佳・山崎 篤 (2014). *Pantoea ananatis* によるタマネギの被害と育苗期の防除. 関東東山病虫研報 61: 175.
- 日本植物病名目録(2018年版) 日本植物病理学会

編集・発行（農業生物資源遺伝バンク・日本植物病名データベース）

西山幸司（1997）アピ20NEキットおよび追加した11項目の細菌学的性状に基づく植物病原細菌の鑑別表の作成．農業環境技術研究所報告 14：1-35.

白川 隆・西口真嗣・山内智史（2010）*Pantoea ananatis*によるタマネギ鱗茎腐敗症の発生．日植病報 76: 176（講要）.

Tjosvold, S. A., Chambers, D. L., Koike, S. T., and Mori, S. R. (2008) Disease on nursery stock as affected by environmental factors and seasonal inoculum levels of *Phytophthora ramorum* in stream water used for irrigation. Plant Dis. 92:1566-1573.

Walcott, R. R., Gitaitis, R. D., Castro, A. C., Sanders, F. H., Jr., and Diaz-Perez, J. C. (2002) Natural infestation of onion seed by *Pantoea ananatis*, causal agent of center rot. Plant Dis. 86:106-111.

Yamak, F., Peever, T. L., Grove, G. G., and Boal, R. J. (2002) Occurrence and identification of *Phytophthora* spp. pathogenic to pear fruit in irrigation water in the Wenatchee River Valley of Washington State. Phytopathology 92:1210-1217.

Occurrence of Onion Seedling Diseases Caused by *Phytophthora nicotianae* and *Pantoea ananatis*

Toshiyuki MORIKAWA, Genki MIMURO, Mika TAMURA¹⁾, and Fumito MIYAMOTO²⁾

Summary

Two seedling diseases have commonly occurred in onion nursery beds (cell tray seedlings) in Toyama Prefecture, Japan. The causal agent of seedling rot and damping-off disease was identified as *Phytophthora nicotianae*. All nurseries where the diseases occurred were irrigated with water pumped directly from nearby agricultural canals. Pathogenic *Pythium* spp. were isolated from the agricultural canals in this area using a baiting method.

A pathogenic bacterium identified as *Pantoea ananatis* was isolated from leaves showing white rot symptoms. This disease occurred after leaf cutting using leaf pruning machine. Some pesticides effectively controlled the disease when applied just before or after leaf cutting.

1) Present Address: Toyama Prefectural Toyama Agriculture and Forestry Promotion Center, Toyama, 930-0088

2) Present Address: Agricultural Food Product Division, Toyama Prefecture, Toyama, 930-8501

チューリップ「夢の紫」の組織培養による小球根育成方法

池川 志穂¹⁾・荘司 和明²⁾

Shiho Ikegawa, Kazuaki Shoji : Bulb-producing method by the tissue culture of the "Yumenomurasaki" tulip

I 緒言

富山県では、チューリップ栽培に適した気候を生かし、チューリップの球根栽培が盛んである。平成30年の栽培面積は62ha、出荷量は1,334万球と球根出荷量日本一を誇る。チューリップは、開花時期や花卉の形、咲き方、花色、茎の形態などが多種多様であり、オランダ王立球根生産者協会における登録数は6869品種（2020年4月7日現在）となっている。富山県農林水産総合技術センター園芸研究所では、交配育種による品種育成が行われ、1969年に第1号となる「サクラ」が発表されてから2020年までに35品種が育成されている。この従来法によると、1品種の育成に20年もの長い年月が必要とされ、中でも多くの時間を費やすのが球根の増産である。チューリップは自然状態では1年に数球しか分球しないため、良い形質を持つ1つの球根から球根生産に必要な2,000球の開花球を得るために、毎年球根を植付けては異形株や病害株などを抜き取り、収穫、保存を繰り返す必要がある。

そこで、1994年に富山県農業技術センター農業研究所生物工学課（当時）で、チューリップ球根を大量に増殖し育種に活用するための組織培養法の確立を目指した試験研究を開始し、県育成品種を中心にりん片培養の増殖法を開発した（小泉ら、2002）。その後、組織培養の過程において、遺伝子導入や変異誘導などの手法を適用して、従来の交配育種では得られない新奇形質を持つ個体の育種法の開発に取り組んできた。近年においては、本県育成品種の中でも組織培養の効率がよい「夢の紫」を主な供試品種として取り組んできた。その花型は倒釣鐘型のユリ咲きで、花色は濃赤紫

色を呈し、新奇性の高い花色への変異が期待できる品種である。

本報告では、本県育成の「夢の紫」をモデル品種として、これまでに構築した標準的な組織培養法を記録するとともに、組織培養を効率的に進めるための諸条件について検討した結果及び組織培養の効率を品種間で比較検討した結果について報告する。

II 材料および方法

1 「夢の紫」の組織培養標準法

1) 培養部位と組織の採取法

培養には球根のりん片と花茎を用いた。

りん片の培養には富山県農林水産総合技術センター農業研究所および園芸研究所（砺波市太郎丸）内で通常栽培および促成栽培した球根を用いた。収穫した球根の外皮と根を取り除き、中の球根をすべて分けた後、水道水で洗浄し、1週間程度常温保存した後供試した。この際、傷があるものや腐敗しているものは取り除いた。球根をプラントボックスに数個入れ、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度5%）を10倍希釈して球根が浸る程度加え、超音波で5分間処理して球根表面に行き渡らせた後、次亜塩素酸ナトリウム希釈液に浸したまま30分間放置して殺菌処理を行った。その後クリーンベンチ内に移動し、次亜塩素酸ナトリウム希釈液を捨て、残った球根を滅菌水で2,3回洗浄した。球根を1つずつろ紙の上に取り出し、メスで一番外側のりん片を除去し、内側のりん片を2~3mmの大きさに切り分けて培地へ置床した。

花茎の培養には、富山県花卉球根農業協同組合（砺波市大門）より購入した秋植え用球根を用い、

1) 現在：富山県農産食品課
2) 前農業研究所

15℃で2週間予冷後、7℃で8週間本冷し、常温で5日間程度根盤部を水に浸して発根および花茎伸長を促した。花茎が球根頂部から3～4cm程度伸長した頃に、球根からりん片を除去して花茎のみを切り出し、プラントボックスに入れてりん片同様に次亜塩素酸ナトリウム希釈液による殺菌処理後、クリーンベンチ内で滅菌水により洗浄した。花茎の根元、つまり根盤の上部1cm程度を1mm程度の厚みに切り分け培地へ置床した(写真1)。

2) 組織培養の展開と培地組成及び温度・光条件
組織培養の各段階における培地組成と培養時の温度と光の条件を表1に示した。カルス誘導培地は、Murashige & Skoog培地(MS培地; MURASHIGE, S KOOG, 1962)を基本とし、硝酸アンモニウムを1/4量、ビタミン以外の他の要素を1/2量に改変し、添加する植物ホルモンは、オーキシシンとして2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)1mg/l、サイトカイニンとして6-ベンジルアミノプリン(BA)1mg/l、シヨ糖2%、pH5.8、ゲランガム0.2%の培地(C培地)を用いた。培養温度は18～20℃とし、光を遮断する暗条件で培養を行った。なお、置床からカルス形成(写真2)までは、培地の乾燥やコンタミがなければ、継代は行わなかった。

カルス形成後、シュート形成を促すためシュート誘導培地へ継代した。シュート誘導および伸長

促進の培地は、改変MS培地(硝酸アンモニウム1/4量、ビタミン以外1/2量)をベースに、2,4-D 0.01mg/l、BA 0.1mg/l、シヨ糖2%、pH5.8、ゲランガム0.2%に調整した培地を用いた。培養温度は18～20℃、光条件は蛍光灯下で照度3,000ルクス程度の明条件とした。なお、シャーレで育成中は約1～2ヶ月毎に、プラントボックスで育成中は、約2～3ヶ月毎に継代を行った。きれいなカルスの状態になっていないものからシュートを形成し、その後も通常通り生育する場合があるので、コンタミや褐変、極端な肥大化など継代にそぐわない個体以外はすべて継代した。シュートが形成された後、シャーレの蓋に接する程度にまで伸長したら(写真3)、プラントボックスの培地に移植(写真4)し、さらにシュートの伸長を促進した。

シュートが50mm程度に伸長したら、1株ごとに試験管の小球根誘導培地に継代し5～7℃の低温で12週間、明条件(照度400ルクス程度)で処理した後、18～20℃明条件(照度3,000ルクス程度)へ戻した。小球根誘導培地は、改変MS培地(硝酸アンモニウム1/4量、ビタミン以外1/2量)をベースに、ホルモンフリー、シヨ糖2%、pH5.8、ゲランガム0.2%に調整した。低温処理終了後3ヶ月程度でシュートの基部に小球根が形成された(写真5)。小球根が形成され、シュート

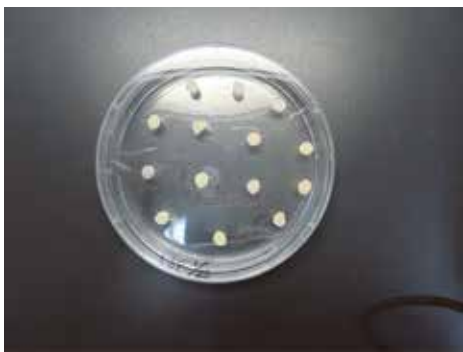


写真1 花茎の置床

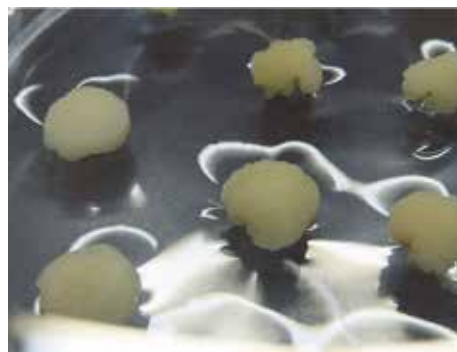


写真2 カルスの形態



写真3 シュートの形成



写真4 シュートの伸長



写真5 小球根形成誘導

表1 培地組成と培養条件

培養のステージ (培地俗称)	カルス誘導		シュート誘導	小球根誘導	
	(C)	(51)	(R)	低温処理中 (MS)	低温処理後 (MS)
培地組成	MS培地	MS培地	MS培地	MS培地	MS培地
硝酸アンモニウム	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4
ビタミン以外の要素	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
植物ホルモン 2,4-D	1mg/L	1mg/L	0.01mg/L	—	—
BA	1mg/L	1mg/L	0.1 mg/L	—	—
ショ糖	2%	3%	2%	2%	2%
ゲランガム	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8
培養条件	18~20°C	18~20°C	18~20°C	5~7°C	18~20°C
培養温度	18~20°C	18~20°C	18~20°C	5~7°C	18~20°C
光条件*	暗	暗	明(3,000Lx)	明(400Lx)	明(3,000Lx)

* 光条件の“明”は蛍光灯による(括弧内はおおよその照度)

が枯れた頃に、クリーンベンチ内で小球根を収穫した。なお、低温処理開始から小球根収穫まで、培地の継代は行わなかった。

2 「夢の紫」組織培養条件の検討と培養効率の評価

1) 供試品種

本県育成品種の「夢の紫」を供試した。

2) 組織培養の条件

組織培養の条件として、供試する球根の大きさ(外周)、組織の置床時期の違い及びカルス誘導培地のショ糖濃度について検討した。球根の外周は、6 cmから13cmまでを1 cm刻みで区分して評価した。組織の置床時期は、りん片組織について4月から8月までの期間で、花茎組織について12月から翌年3月までの期間で置床時期の違いの影響を評価した。また、カルス誘導培地のショ糖濃度を2% (C培地) から3% (51培地) に変えた場合(表1) のりん片組織のカルス形成率やシュート形成率に及ぼす影響を調査した。

3) 培養効率の評価

培養条件の異なる個体グループについて、カルスとシュートの形成率や小球根の大きさ及び小球根を収穫するまでの培養日数を調査した。

カルス形成率は、置床した個体数のうちカルスを形成した個体数の割合とした。シュート形成率は、シュート誘導培地に継代した個体数のうちシュートを形成した個体数の割合とした。小球根の大きさは、収穫後、乾いたシャーレに入れて室温で1週間程度乾燥させた後、1球ずつの直径(幅)と重さを測定した。

3 培養効率の品種比較

培養する組織に花茎を用いることとし、本章1節に示した組織培養標準法に従って培養し、カルスの形成率や小球根の大きさを調査した。

2013年では、富山県育成品種である「夢の紫」、「白雪姫」、「紅ずきん」、「ウエディングベール」、「春乙女」及び「黄小町」の6品種に「レッドマタドール」、「アクイラ」、「フラッシュバック」、「ベップヴァンホーケン」、「レッドインプレッション」、「イエロースパイダー」、「カムバック」、「ラッキーストライク」、「あこがれ星」、「プリンスチャールズ」、「モンペリエ」及び「モダンタイムス」を加えて合計18品種を供試した。

2014年では、富山県育成品種である「夢の紫」、「白雲」、「白雪姫」、「紫水晶」及び「紅輝」の5品種に「ゴールデンエンパイヤステート」、「アペルドーンエリート」、「ベイビーブルー」、「エンパイヤステート」、「ジョージグラッペ」及び「ネプチューン」を加えて合計11品種を供試した。

III 結果と考察

1 組織培養条件と培養効率

1) 球根及び花茎の大きさ

(1) リン片組織培養

培養する組織を採取する球根の外周について、りん片組織の培養での、採取できる組織(切片)の数やカルスの形成率及び収穫した小球根の大きさへの影響を検討した。

球根の外周とりん片組織採取数の関係を図1に示した。りん片組織採取数は、球根の外周の増加に伴い直線的に増加しており、回帰式より球根の

外周が1cm大きくなることにより、リン片組織を約70個多く採取できることがわかった。

球根の外周別のカルス形成率を表2に示した。カルス形成率は10%前後で変動し、最大値は球根外周6cmで13.6%であった。外周が大きくなると、カルス形成率が9%前後まで低下する傾向を示した。一方、外周6cm未満の小さい球根でも、カルス形成率は10%程度であった。

球根の外周別の小球根の大きさ及び小球根収穫までの培養日数を表3に示した。小球根の直径は7mm前後で変動し、球根外周6cmで6.3mmとやや

小さくなったが、外周7cm以上の領域では6.8～7.9mmの範囲で有意な差は認められなかった。小球根の重さは0.3g前後で、球根外周との関係は、小球根の直径と同様の傾向であった。培養開始から小球根収穫までの日数は、465日から530日の範囲で変動し、球根の外周に対して一定の傾向は認められなかった。

(2) 花茎組織培養

花茎培養では、供試球根の外周と花茎長の関係や花茎長とカルス形成率の関係について検討した。

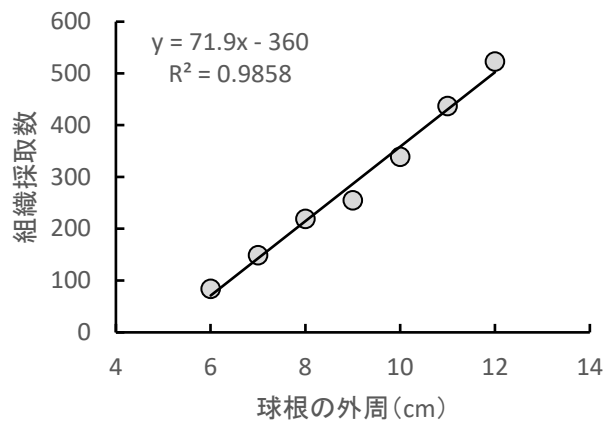


図1 球根の外周とリン片組織採取数 (2016, 2018年)

表2 球根の外周とリン片組織のカルス形成率 (2019年)

球根の外周	供試組織数	カルス形成数	カルス形成率* (%)
<6cm	699	69	9.9 ab
6cm	1068	145	13.6 a
7cm	451	47	10.4 ab
9cm	95	9	9.5 ab
10cm	2713	224	8.3 b
11cm	666	60	9.0 ab

* 異符号間に有意差あり. (p<0.05)

表3 球根の外周と小球根の大きさ及び培養日数 (2016, 2018年)

球根の外周	5cm	6cm	7cm	8cm	9cm	10cm
小球根直径* ¹ (mm)	6.3 ab	6.3 b	7.9 a	6.8 ab	6.9 ab	7.0 ab
小球根重さ(g)	0.22	0.26	0.36	0.30	0.29	0.34
小球根数	17	36	16	19	26	7
培養日数* ² (日)	512	487	530	465	518	523
供試球根数(n)	9	17	16	14	11	6

*¹ 異符号間に有意差あり. (p<0.05)

*² リン片組織の培養開始から小球根収穫までの日数

球根の外周と組織採取時に球根の頂部から伸び出した花茎の長さの関係を図2に示した。球根の外周11~13cmの範囲では、花茎の長さは30~40mmの範囲で同等であった。

球根の外周別のカルス形成率は、表4に示したとおりで、外周に関わらずいずれも25%前後で同等であった。

組織採取時に球根の頂部から伸び出した花茎の長さとカルス形成率の関係を図3に示した。花茎長が長くなりすぎるとカルス形成率が低下する傾向を示しており、組織採取は花茎長50mm程度までに行う方が良いと考えられた。また、図4には組織採取時期と花茎長の関係を示した。花茎は、秋以

降、球根の保管期間が長くなると水浸前の低温処理中に伸長し始め、球根頂部から花茎が伸び出てくるため、組織採取時期が遅くなるほど花茎長が長くなった。4月以降においては、花茎長が50mmを超える頻度が高くなっており、組織採取の目安となる花茎長50mmを考慮すると、組織採取の終期は3月末頃が適当と考えられた。

2) 組織の置床時期

(1) リン片組織培養

リン片組織の置床時期について、カルスの形成率及び収穫した小球根の大きさへの影響を検討した。

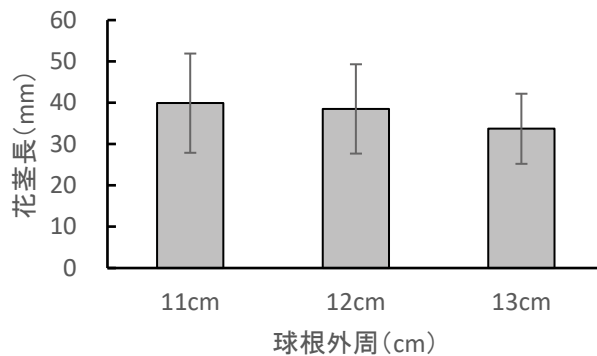


図2 球根外周と花茎長* (2014年)
*平均±標準偏差

表4 球根の外周と花茎組織のカルス形成率 (2014年)

球根の外周	供試組織数	カルス形成数	カルス形成率(%)
11cm	3292	874	26.5
12cm	5109	1258	24.6
13cm	683	182	26.6

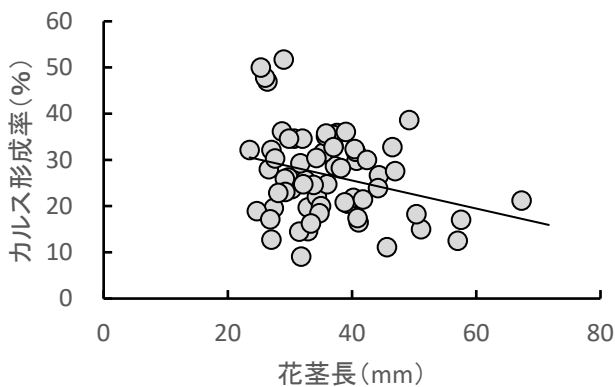


図3 花茎長とカルス形成率 (2014)

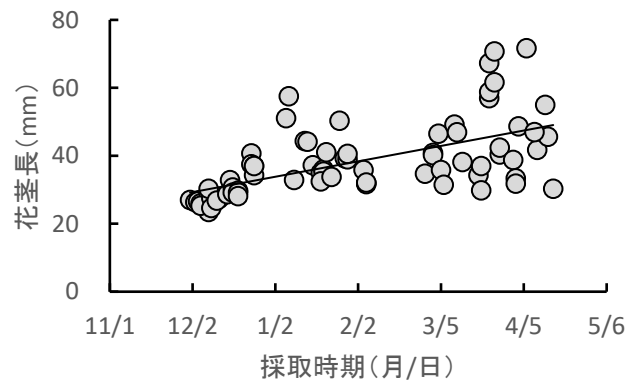


図4 花茎組織の採取時期と花茎長 (2014)

リン片組織の置床時期とカルス形成率の関係を表5に示した。カルス形成率は、球根の収穫適期に該当する6月中の置床で高く、10%を超えていた。6月下旬に収穫して常温で保存した球根から採取したりん片組織を7月及び8月上旬に置床すると、カルス形成率は、7~10%程度とやや低下する傾向であった。なお、収穫期に達していない5月置床でのカルス形成率は、7%未満で6月以降の置床に比べて明らかに低くなった。これらのことから、りん片組織の置床時期については、球根が成熟する6月に球根を掘り取り、組織を採取して置床する方法が効率的と考えられた。

リン片組織の置床時期と小球根の大きさ及び培養日数の関係を表6に示した。りん片置床時期について4月~7月で比較すると、6月置床から得られる小球根の直径が最も大きく、7月置床では明らかに小さくなった。4月及び5月置床の場合、

小球根の直径は、6月置床と7月置床の間の値となり、有意な差は認められなかった。

培養日数について、置床からカルス形成期の間の日数は、4月置床で少なく、6月及び7月置床で多くなり、シュート伸長期までの日数はカルス形成期までと逆の傾向となり、置床時期の影響が認められた。置床から低温処理開始まで、さらには小球根収穫までの日数については有意な差がなく、置床時期の影響が認められなかった。

(2) 花茎組織培養

花茎組織の置床時期について、カルスの形成率及び収穫した小球根の大きさへの影響を検討した。

花茎組織の置床時期とカルス形成率の関係を図5に示した。カルス形成率は、2か年とも12月で高く、安定した培養が期待できるが、その他の月は試験年度で傾向が異なった。なお、2014年度

表5 リン片組織の置床時期とカルス形成率(2019年)

置床時期	供試組織数	カルス形成数	カルス形成率* ¹ (%)
5月中旬	19	1	5.3 ⁻
下旬	209	14	6.7 ^b
6月上旬	665	82	12.3 ^a
中旬	1140	120	10.5 ^{ab}
下旬	874	103	11.8 ^a
7月上旬	852	74	8.7 ^{ab}
中旬	976	74	7.6 ^b
下旬	139	14	10.1 ^{ab}
8月上旬	819	72	8.8 ^{ab}

*¹ 異符号間に有意差あり。(p<0.05)

*² 供試球根は2018年12月6日に植え付け、無加温温室内で栽培し、置床の約1週間前に掘り取った。

表6 リン片組織の置床時期と小球根の大きさ及び培養日数(2012~2016, 2018年)

リン片組織置床時期	4月	5月	6月	7月
小球根直径*(mm)	6.4 ^{ab}	6.4 ^{ab}	6.6 ^a	6.1 ^b
小球根重さ(g)	0.26	0.23	0.25	0.22
小球根数	150	288	231	133
置床~カルス形成期*(日)	98 ^b	115 ^{ab}	130 ^a	132 ^a
置床~シュート伸長期*(日)	207 ^a	179 ^{ab}	176 ^{ab}	149 ^b
置床~低温処理開始(日)	340	334	320	344
置床~小球根収穫(日)	492	511	487	511
供試球根数(n)	52	94	67	35

* 異符号間に有意差あり。(p<0.05)

では2013年度に比べてカルス形成率が大幅に低くなったが、その要因として、予冷前の球根の保管状態が悪かったことが考えられた。組織培養に供する球根は、10月以降、予冷前でも15～18℃程度で保管し、過乾燥および腐敗を避けることが必要である。球根を適切に保管した条件下では、花茎組織のカルス形成が順調であり、12月～3月の置床で2013年度同様に、50%程度のカルス形成が可能であった。

花茎組織の置床時期と小球根の大きさ及び培養日数の関係を表7に示した。12月～3月に置床して得られた小球根の直径は、1月置床で大きく、2月置床の場合に小さくなった。12月及び3月置床の場合、小球根の直径は、1月置床と2月置床の間の値となり、有意な差は認められなかった。一方、小球根の重さに有意な差は認められなかった。

培養日数について、置床からカルス形成期の間

の日数は、12月置床で多く、3月置床で少なくなかった。また、培養ステージの進行に伴い、置床時期が遅いほど培養日数が少なくなる傾向が顕著となった。置床から小球根収穫までの日数については、置床月毎に有意な差が認められ、12月置床と3月置床の差は97日で、花茎組織については、3月置床により培養日数の短縮が可能と考えられた。

3) カルス誘導培地のショ糖濃度

カルス誘導培地のショ糖濃度を変えてりん片組織を培養した場合のカルス形成率を表8に示した。ショ糖濃度2%のC培地を用いた場合のカルス形成率は14.7%で、ショ糖濃度3%の51培地の場合は17.5%となったが、両者に有意差は認められなかった。

同様に培地ショ糖濃度を変えて培養した場合のシュート形成率を表9に示した。シュート形成率

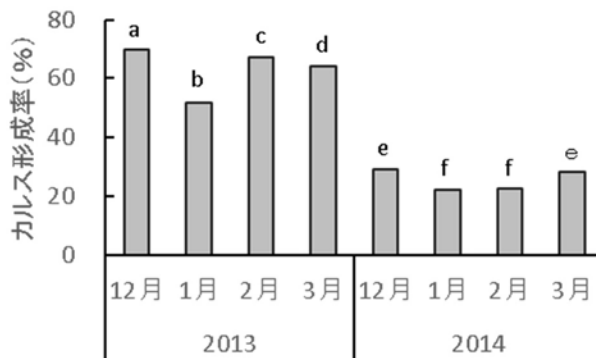


図5 組織置床時期とカルス形成率
*異符合間に有意差あり. (p<0.05)

表7 花茎組織の置床時期と小球根の大きさ及び培養日数 (2013年)

花茎組織置床時期	12月	1月	2月	3月
小球根直径*(mm)	6.4 ^{ab}	6.6 ^a	6.1 ^b	6.3 ^{ab}
小球根重さ(g)	0.27	0.27	0.21	0.25
小球根数	62	102	224	39
置床～カルス形成期*(日)	78 ^a	38 ^c	42 ^b	34 ^d
置床～シュート伸長期*(日)	155 ^a	109 ^b	97 ^{bc}	86 ^c
置床～低温処理開始(日)	300 ^a	263 ^b	211 ^c	177 ^c
置床～小球根収穫(日)	466 ^a	431 ^b	405 ^c	369 ^d
供試球根数(n)	28	46	65	14

* 異符号間に有意差あり. (p<0.05)

は、ショ糖濃度2%で51.2%、ショ糖濃度を3%に高めると64.3%となったが、カルス形成率と同様、ショ糖濃度の違いに対して有意差は認められなかった。

4) 培養部位及びシュート長

培養組織を採取する球根の部位について、りん片と花茎を用いた場合の小球根の形成率を表10に示した。小球根形成率は、小球根形成の誘導処理を行った個体数に対する小球根を形成した個体数の割合として示したが、りん片組織を培養した場合では94.5%と高率であったのに対し、花茎組織の場合は77.1%と約17ポイント低くなった。このことに関連して、花茎組織では培養中の生育がりん片培養より早く、シュートの伸長も早くなる特徴があることから、今後、低温処理に移行する条件として、シュート長のほかシュートの伸長速度や形態及び置床後の培養日数を考慮し、小球根形成率への影響を評価することが期待される。

組織培養標準法において、小球根誘導のための低温処理を開始するタイミングについては、培養個体のシュート長が50mm以上となることを目安としている。そこで、低温処理前のシュート長と

得られた小球根の直径及び重さの関係を培養組織の採取部位別に図6に示した。これより、シュート長と小球根の直径及び重さには正の相関が認められ、シュート長50mmでは、小球根の平均的な大きさが、直径で6mm、重さで0.22g程度となることが分かった。りん片組織と花茎組織での違いは、明らかでなく、概ね同様の分布を示した。

培養球が土壌植付けで次の子球を形成する確率は、小球根の重さが100mg以下では40~50%、100~300mgで60~80%、300mg以上でほぼ100%との報告(Podwyszyńska,2006)がある。このことから、シュート長50mm以上で低温処理を開始し、平均重量220mgの小球根形成を目指すことは、続く土壌植付けにおいて60~80%の確率で子球が得られる程度の増殖効率が期待できると考えられた。また、低温処理後のシュート長や葉幅とその後形成された小球根の大きさは、低温処理前のシュート長以上に相関関係が強かった(図7、8)ことから、12週間を目安としている低温処理の終了時にシュート長や葉幅を確認し、低温処理終了のタイミングを調整することも有効と考えられる。

表8 カルス誘導培地のショ糖濃度とりん片組織のカルス形成率(2012年)

培地のショ糖濃度*	供試組織数	カルス形成数	カルス形成率(%)
2% (C)	1554	228	14.7
3% (51)	302	53	17.5

* 括弧内は培地俗称

表9 カルス誘導培地のショ糖濃度とりん片由来カルスのシュート形成率(2012年)

培地のショ糖濃度* ¹	供試カルス数	シュート形成数	シュート形成率(%)
2% (C)	166	85	51.2
3% (51)	14	9	64.3

*¹ 括弧内は培地俗称

*² シュート誘導培地はいずれもR(培地俗称)で共通

表10 培養組織の採取部位と小球根形成率

培養組織	供試個体数* ¹	小球根形成率* ² (%)
りん片	182	94.5 ^a
花茎	301	77.1 ^b

*¹ 小球根形成の誘導処理を行った個体数

*² 異符号間に有意差あり。(p<0.05)

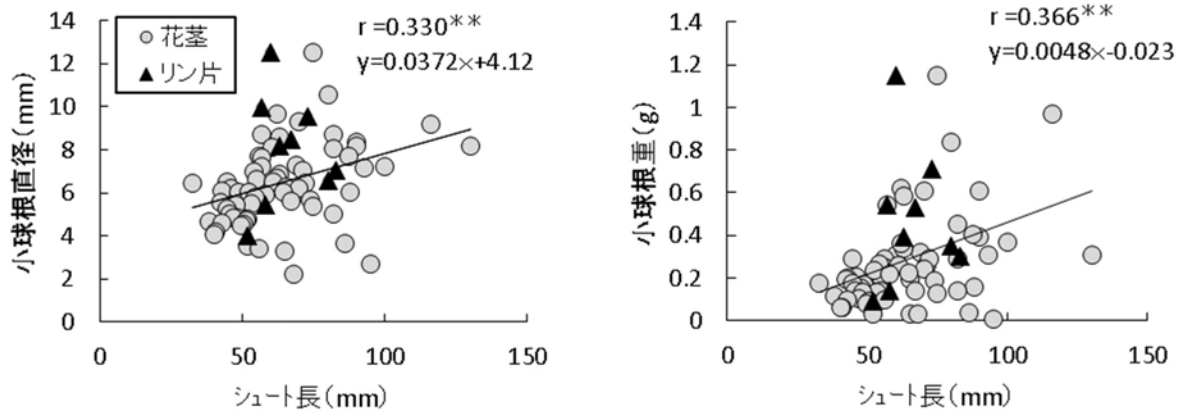


図6 低温処理開始時のシュート長と小球根の直径及び重さ (2014年)
*相関係数(r)及び回帰式は花茎及びリン片を合わせた全データを用いて算出

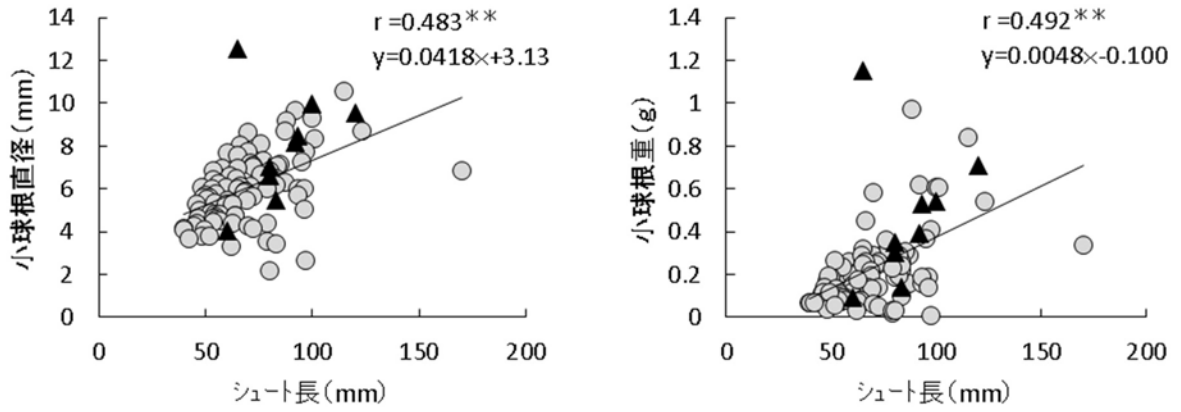


図7 低温処理終了時のシュート長と小球根の直径及び重さ (2014年)
*相関係数(r)及び回帰式は花茎及びリン片を合わせた全データを用いて算出

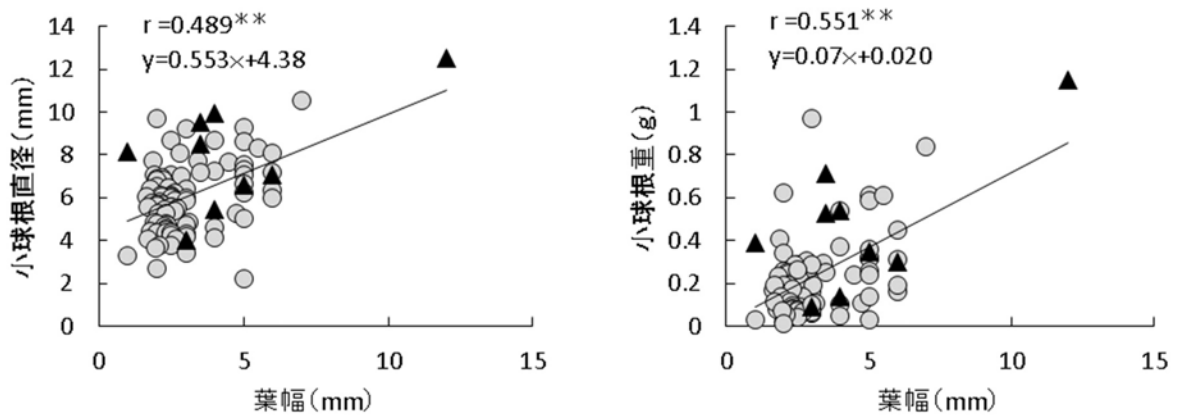


図8 低温処理終了時の葉幅と小球根の直径及び重さ (2014年)
*相関係数(r)及び回帰式は花茎及びリン片を合わせた全データを用いて算出

2 培養効率の品種比較

各種チューリップ品種の花茎組織を培養して得られたカルスの形成率を表11に示した。2013年度のカルス形成率は、8.0～86.5%の範囲で品種により大きく異なった。最も高かったのは「レッドマタドール」、次いで「アクイラ」が63.6%で、最も低いのは「モダンタイム」であった。本県育成の6品種は26.6～50.0%の範囲で、「夢の紫」が最も高く、「白雪姫」48.9%、「紅ずきん」47.8%と続いた。2014年度では、カルスの形成率が全般に低く、0～25.5%の範囲で変化した。当年で最も高かったのは、「夢の紫」であった。このように、「夢の紫」は、本県育成品種の中でカルス形成率が他の品種より安定して高く、その後のシュート形成や小球根形成の効率(達観)も含めて、本県育成の供試9品種の中では組織培養に適した効率の良い品種であると判断された。

カルスの形成率が品種により異なることの要因については、組織からのカルス形成能及び植物体への再生能が品種により異なることのほか、各品種に適する培地組成や培養条件が異なることが考えられた。一方、品種によりカルスを形成せずにシュートを形成するものや、逆にカルスは形成しやすいがシュートは形成しにくいものなど、多様な形態形成が観察された。

各品種の花茎組織培養による小球根の大きさ及び培養日数を表12に示した。小球根が収穫できた品種は9品種で、その大きさは品種により大きく異なり、直径で3.88～7.53mm、重量で0.07～0.38gの範囲で変化した。「白雪姫」や「レッドインプレッション」といったダーウィン・ハイブリッド群(DH)に分類される中生(開花期4月中旬～下旬)品種で、より大きい小球根が得られる傾向がみられた。

置床から収穫までの日数は、いずれも「夢の紫」より遅いものが多く、最適な培養条件ではないことが一因と考えられる。しかし、小球根を得られた品種については、今回の手法により花茎培養からの小球根形成が可能であることが判明した。

IV 摘要

チューリップ球根のりん片および花茎を用いた組織培養の効率について、「夢の紫」をモデル品種として培養条件の影響を検討した。

培養組織を採取する球根の大きさについて、り

ん片培養では直径6cmでカルス形成率が最大となった。また、花茎培養では、カルス形成率の低下を回避するため、組織の採取を花茎長が50mm程度となるまでの間に行うと良いと考えられた。

組織の置床時期については、りん片培養で4月から7月の期間で比較すると、6月に球根を掘り取り同月のうちに組織を採取して置床することにより、カルス形成率が高く、得られる小球根も大きくなった。また、花茎培養で12月から翌年3月までの期間で比較すると、カルス形成率は12月置床で高く、小球根の大きさは1月置床で大きくなった。また、花茎組織の小球根収穫までの培養日数は、3月置床で最も短くなった。

花茎培養によるカルス形成率には品種間差異があり、本県育成品種の中では「夢の紫」が最も高く、培養効率に優れた品種であった。

以上の結果は、「夢の紫」の組織培養系を活用した品種育成や球根の増殖といった目的に応じた効率的な組織培養体系を構築するための個別条件として応用できる。

引用文献

- 小泉昌弘・飯村成美・荘司和明(2002) チューリップ組織培養系の開発. ブレインテクノロジー. 92: 31-34
- MURASHIGE, T. and F. SKOOG(1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497
- PODWYSZYŃSKA, M. (2006) Improvement of bulb formation in micropropagated tulips by treatment with NAA and paclobutrazol or ancymidol. *Acta Horticulturae* 725: 679-684

表11 品種の違いとカルス形成率

試験年度	品種名 ^{*1}	分類 ^{*2}	供試組織数	カルス形成数	カルス形成率(%)	
2013	レッドマタドール		52	45	86.5	
	アクイラ	DE	22	14	63.6	
	フラッシュバック	L	76	47	61.8	
	ベップヴァンホーケン	T	25	15	60.0	
	レッドインプレッション	DH	143	81	56.6	
	イエロースパイダー		106	60	56.6	
	カムバック	DH	101	56	55.4	
	ラッキーストライク	T	77	42	54.5	
	あこがれ星	L	72	39	54.2	
	夢の紫 [*]	L	78	39	50.0	
	白雪姫 [*]	DH	270	132	48.9	
	紅ずきん [*]	SL	23	11	47.8	
	ウェディングベール [*]	L	48	18	37.5	
	春乙女 [*]	T	53	17	32.1	
	プリンスチャールズ	T	44	13	29.5	
	黄小町 [*]	T	79	21	26.6	
	モンペリエ		68	18	26.5	
	モダンタイムス	T	87	7	8.0	
	2014	夢の紫 [*]	L	9084	2314	25.5
		ゴールデンエンパイアステート	DH	64	16	25.0
白雲 [*]		DH	14	3	21.4	
アペルドーンエリート		DH	66	12	18.2	
ベイビーブルー		T	36	6	16.7	
エンパイアステート		DH	51	8	15.7	
白雪姫 [*]		DH	55	2	3.6	
紫水晶 [*]		SL	114	4	3.5	
紅輝 [*]		DH	65	1	1.5	
ジョージグラッペ		SL	11	0	0.0	
ネプチューン		SL	60	0	0.0	

*1 *を付した品種:富山県育成品種

*2 オランダ王立球根生産者協会による分類

DE: 八重早咲き(早生), T: トライアンフ(中生), DH: ダーウィンハイブリッド(中生)

SL: 一重晩咲き(晩生), L: ユリ咲き(晩生)

表12 品種の違いと花茎培養による小球根の大きさ及び培養日数(2013, 2014年)

品種	白雪姫	レッドインプレッション	ジョージグラッペ	レッドマタドール	モンペリエ	紫水晶	プリンスチャールズ	あこがれ星	モダンタイムス
(分類*)	(DH)	(DH)	(SL)			(SL)	(T)	(L)	(T)
小球根直径(mm)	7.53	6.58	6.25	5.91	5.65	5.42	5.16	4.33	3.88
小球根重さ(g)	0.38	0.32	0.23	0.24	0.19	0.15	0.14	0.09	0.07
小球根数	55	46	12	469	68	18	80	10	30
置床~カルス形成期*(日)			130			133	151		165
置床~シュート伸長期*(日)			198			238	231		256
置床~低温処理開始(日)			269			346	276		370
置床~小球根収穫(日)			435			502	432		503

* オランダ王立球根生産者協会による分類(表12脚注**参照)

Bulb-producing method by the tissue culture of the "Yumenomurasaki" tulip

Shiho IKEGAWA¹⁾, Kazuaki SHOJI²⁾

Summary

Regarding the efficiency of tulip tissue culture, using scales and scapes (stems) from the bulb, we examined the influence of culture conditions with the "Yumenomurasaki" as a model variety.

In terms of the size of the bulb that the culture tissue was taken from, the callus formation rate was greatest at 6cm in diameter of the bulb. In the scape culture, it was thought that the sampling of tissues should be carried out before it lengthened to about 50mm in order to avoid a decrease in the callus formation rate.

As for the timing of starting the tissue culture, when comparing the period from April to July, the callus formation rate became higher, and the produced bulb grew to a larger size when the scale culture began right after it was dug up in June. In the scape culture, the callus formation rate was high in the culture that began in December, and the size of the produced bulbs was larger in the culture that began in January. In addition, the number of culturing days of the scape tissue until the produced bulb harvest was the shortest when the culture was started in March.

The callus formation rate by the scape culture differed according to tulip varieties, and among those bred in Toyama prefecture, the "Yumenomurasaki" had the highest rate and was also superior in culture efficiency.

The aforementioned results can be applied to conditions of individual treatment to construct an efficient tissue culture system for purposes such as breeding and cultivating varieties of bulbs utilizing the tissue culture system of the "Yumenomurasaki".

1) Present Address: Agricultural Food Product Division, Toyama Prefecture, Toyama, 930-8501

2) Former Address: Agricultural Research Institute

富山県農林水産総合技術センター農業研究所研究報告 第9号

富山県農林水産総合技術センター農業研究所研究報告 第9号

令和4年3月

編集 富山県農林水産総合技術センター 農業研究所

発行 富山県農林水産総合技術センター所長

西川 清秀

富山市吉岡1124-1 〒939-8153

電話 076-429-2111

印刷所 いおぎ印刷

**Bulletin of The Agricultural Research Institute, Toyama Prefectural
Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center**

Contents

Kazumasa MURATA, Yukihide IYAMA, Takuya YAMAGUCHI, Yoshinori KIDANI, Yuichi MURAOKA, Hiroaki MAEDA, Kenji FUJITA, Hidenobu OZAKI, Shiho IKEGAWA, Hirokazu IKEDA, Shuichi FUKUOKA, Yoichiro KOJIMA, Takeshi EBITANI : Development of an Elite Toyama-Rice Cultivar, "Fu-Fu-Fu"	1
Munetaka YAMADA, Tomoko HIROKAWA, Jun KOIKE, Hitoshi NAKADA, Masayo SHIMIZU, Hideo AZUMA : Evaluation of Silicon Availability in Paddy Soils by the Phosphate Buffer Extraction Method	15
Genki MIMURO and Toshiyuki MORIKAWA : Influence of Harvest Proceeding and Maintenance on Occurrence of Post-harvest Bacterial Bulb Rot of Onion	23
Toshiyuki MORIKAWA, Genki MIMURO, Mika TAMURA, and Fumito MIYAMOTO : Occurrence of Onion Seedling Diseases Caused by <i>Phytophthora nicotianae</i> and <i>Pantoea ananatis</i>	31
Shiho IKEGAWA, Kazuaki SHOJI : Bulb-producing method by the tissue culture of the "Yumenomurasaki" tulip	39