

栽培管理が異なる水稻品種コシヒカリの出液中に含まれる サイトカイニン (t-ZR) 含有量

鯨 幸夫^{*1)}・橋本和幸¹⁾・葭田隆治²⁾・新屋美紀¹⁾・奥野志津枝¹⁾・前田裕二郎¹⁾
(¹⁾ 金沢大学教育学部, 金沢市角間町, 〒920-1192²⁾ 富山県立大学短期大学部)

Cytokinin Content in the Bleeding Sap of Rice cv. Koshihikari Grown under Different Cultivations

Yukio KUJIRA^{*1)}, Kazuyuki HASHIMOTO¹⁾, Ryuji YOSHIDA²⁾, Miki SHINYA¹⁾,
Shizue OKUNO¹⁾ and Yujiro MAEDA¹⁾

(¹⁾ Faculty of Education, Kanazawa University, Kanazawa 920-1192 Japan, ²⁾ Toyama Prefecture Agricultural Collage)

水稻根系からの出液中に含まれるサイトカイニン (t-ゼアチンリボシド, t-ZR) 含有量を酵素抗体法 (ELISA) 法を用いて定量した。低水温の農業用水を利用して水稻を栽培している富山県入善町および長野県伊那市のコシヒカリ出液中のt-ZR含有量は、水口部よりも水尻部で高い傾向が示された。富山県農業試験場の水稻三要素試験場における出穂期のt-ZR含有量は、無リン区、無カリ区および三要素区の間で差は認められなかった。

Cytokinin (t-ZR) content in the bleeding sap of paddy rice cv. Koshihikari was analyzed using ELISA method. The water temperature for agricultural use in Ina and Nyuzen was low compared with other area. t-ZR content in the bleeding sap of rice grown at the area of water outlet was higher than other value of water inlet area. This result was shown both in case of Nyuzen and Ina field. There was no significant difference in cytokinin content at the heading stage among no-phosphorus plot, non-potash plot and three major nutrients plot.

キーワード：イネ, 酵素抗体法, サイトカイニン含有量, 収量, 出液, t-ゼアチンリボシド

Key words : Bleeding sap, Cytokinin content, ELISA method, Rice, t-ZR, Yield,

水稻根系の生理活性評価にあたっては、さまざまな手法が試みられている。植物ホルモンのサイトカイニンは、根の先端で生合成され、出液(導管液)中の成分として地上部に移動し、葉の老化を抑制する働きをもっている。著者らは、これまで水稻の出液中に含まれるサイトカイニン、t-ゼアチンリボシド (t-ZR) 含有量をELISA法を用いて定量し、栽培管理の違いや品種間差異も含めて検討してきた(鯨ら2001)。本研究では、栽培管理の異なる水稻出液中のサイトカイニン含有量について、収量性との関連も含めて圃場試験で検討した。

材料および方法

1. 栽培管理

実験は2001年に、石川県根上町の農家水田、富山県入善町の農家水田、長野県伊那市の農家水田および富山県農業試験場内の三要素継続試験圃場において実施した。栽培品種はコシヒカリである。栽培試験区の概要を第1表に示した。石川県根上町の水田は、26年間にわたり第1表に示した栽培管理でコシヒカリを栽培している圃場である(鯨ら2002b)。富山県入善町および長野県伊那市の圃場では、低

水温の農業用水を利用してV字稲作を実施している水田である(鯨ら2002a)。富山県農業試験場内の三要素継続試験圃場は、19年間継続して同一施肥管理でコシヒカリを栽培している試験区である。

2. 出液の採取と保存

最高分けつ期および出穂期に出液速度および根系調査を実施した時に採取した出液をt-ZR分析用として用いた。出液採取は前報(鯨ら2001)に準拠して実施した。採取した出液はクーラーボックスに保存して実験室に持ち帰り、速やかに-30°Cで冷凍保存した。

サイトカイニンの測定前に冷凍保存しておいたサンプルを解凍し、遠心分離により出液を回収した。遠心管にビニールチューブ(1 cm φ, 3~5 cmL)を入れ、ろ紙、サンプル液を含んだコットンの順に入れて遠心分離機にかけた。3,500回転で8分間遠心処理を2回行なって出液を回収し、定量した後同量のエタノール(99.5%)を混合して-30°Cで冷凍保存した。

3. 出液中のサイトカイニンの抽出・精製

サンプル液を解凍したのちロータリーエバポレーターでアルコールを飛ばして濃縮し、5%メタノールを3 ml加え、

第1表 栽培試験区の概要(2001年).

試験区	場所	概要
根上1区	石川	無窒素
根上2区	石川	化学肥料(慣行)
根上3区	石川	稲わら施用
根上6区	石川	豚糞堆肥連用
入善圃場	富山	化学肥料(V字稲作)
伊那圃場	長野	化学肥料(V字稲作)
無肥料区	富山	19年間継続
無窒素区	富山	19年間継続
無リン区	富山	19年間継続
無カリ区	富山	19年間継続
三要素区	富山	19年間継続

第2表 石川県根上町における水稻出液中のサイトカニン(t-ZR)含有量.

試験区	サイトカニン(t-ZR)		含有量(ピコモル/0.1ml)	
	7月09日	n	8月09日	n
無窒素区(1区)	0.028 ± 0.009	3	0.053 ± 0.011	3
慣行区(2区)	0.03	1	0.033 ± 0.005	2
稲わら区(3区)	0.026 ± 0.003	3	-	-
豚糞堆肥区(6区)	-	-	0.01	1
LSD(p < 0.05)	n. s. *		n. s. **	

平均値±標準誤差(n = 1~3).

LSD(p < 0.05)値: * 0.052(n = 3), 0.022(n = 3~1)

** 0.058(n = 3~2), 0.073(n = 3~1),
0.078(n = 2~1).

(注)n = 3とn = 1の試験区を比較する場合は, n = 3~1のLSD値を参照.

n = 3同士の試験区を比較する場合は, n = 3のLSD値を参照.

n = 2とn = 3の試験区を比較する場合は, n = 2~3のLSD値を参照.

n = 2とn = 1の試験区を比較する場合は, n = 2~1のLSD値を参照.

これをサンプルAとした. 次に5%メタノール5ml, サンプルA, 5%メタノール5mlの順でBond-Eluteに通過させたのち, 55%メタノール2mlを2回通過させ遊離型のサイトカニンを溶出した. これをサンプルBとした. 1回サイトカニンを溶出するごとにBond-Eluteの洗浄が必要となるので, 0.1Nの酢酸/メタノール5ml(2回), 5%メタノール5ml(2回)の順で洗浄を行なった. Bond-Eluteは10サンプルごとに交換した. サンプルB(55%メタノール抽出物)をロータリーエバポレーターにて再び濃縮を行ったのち, 5%メタノールを元のサンプルの1/5加え, これをサンプルCとした. サンプルCをソニキュエーターにかけ超音波で内容物を攪拌させ均一化した.

第3表 入善町, 伊那市水田の出穂期における出液中サイトカニン(t-ZR)含有量.

試験区	n	サイトカニン(t-ZR)含有量(ピコモル/0.1ml)
入善(水口)	3	0.041 ± 0.012
入善(水尻)	3	0.097 ± 0.003
伊那(水口)	1	0.050
伊那(水尻)	2	0.073 ± 0.008
根上(標準, 2区)	2	0.033 ± 0.005
LSD(p < 0.05)		*

平均値±標準誤差(n = 1~3).

* LSD(p < 0.05)値: 0.034(n = 3), 0.038(n = 2~3),
0.048(n = 3~1), 0.042(n = 2),
0.051(n = 2~1).

(注)n = 3とn = 1の試験区を比較する場合は, n = 3~1のLSD値を参照.

n = 2とn = 1の試験区を比較する場合は, n = 2~1のLSD値を参照.

n = 2とn = 3の試験区を比較する場合は, n = 2~3のLSD値を参照.

n = 3または2同士の試験区を比較する場合は, n = 3または2のLSD値を参照.

第4表 水稻三要素試験区におけるサイトカニン(t-ZR)含有量.

試験区	サイトカニン(t-ZR)		含有量(ピコモル/0.1ml)	
	7月18日	n	8月7日	n
無肥料区	0.019 ± 0.004	2	0.054 ± 0.003	2
無窒素区	0.050 ± 0.010	3	0.052 ± 0.009	2
無リン区	0.061 ± 0.010	3	0.015 ± 0.002	2
無カリ区	0.019 ± 0.004	2	0.028 ± 0.005	2
三要素区	0.058 ± 0.005	3	0.01	1
LSD(p < 0.05)	*		**	

平均値±標準誤差(n = 1~3).

LSD(p < 0.05)値: * 0.031(n = 3), 0.034(n = 2~3),
0.038(n = 2)

** 0.030(n = 2), 0.036(n = 2~1).

(注)n = 3または2同士の試験区を比較する場合は, n = 3または2のLSD値を参照.

n = 2とn = 3の試験区を比較する場合は, n = 2~3のLSD値を参照.

n = 2とn = 1の試験区を比較する場合は, n = 2~1のLSD値を参照.

4. サイトカニンの分析

サイトカニンの定量は, ピコモルオーダーで検出可能な, 酵素抗体結合法を用いて実施した. 使用キットとして, Sigma Plant Cell Culture PGR-5 (PDK09348/0096), Trans-Zeatin Riboside Immunoassay Detection Kitを用い,

第5表 収量構成要素 (2001年).

試験区	精玄 米重	1穂 籾数	穂数	千粒 重	登熟 歩合
根上1区	428kg/10a	63.7粒	15.8本/株	22.1g	94.1%
根上2区(対照)	587	66.1	19.4	23.4	92.8
根上3区	615	64.4	21.2	22.7	87.1
根上6区	644	72.5	21.2	21.8	85.6
入善(水口)	644	76.4	21.4	20.6	90.2
入善(水尻)	579	78.6	21.2	20.6	79.6
伊那(水口)	858	91.5	21.8	21.9	87.7
伊那(水尻)	841	90.0	22.3	21.4	87.4

405nmで吸光度を測定し、スタンダード曲線から得られた直線部分の標準線から各サンプルのt-ZRの含有量を計算した。

結果および考察

長期間連続した施肥管理を行なっている根上町水田の、最高分けつ期(7月9日)および出穂期(8月9日)における出液中t-ZR含有量を第2表に示した。最高分けつ期におけるt-ZR含有量は、根上慣行区(2区)が比較的高い値を示し、鯨らの報告(2001)と同様の結果であった。しかし、処理間における有意な差は認められなかった。

黒部川水系の農業用水を利用している富山県入善町の水稲、および三峰川水系の農業用水を利用している長野県伊那市で生育しているコシヒカリについて出穂期の出液を分析し第3表に示した。入善町の水稲では、水尻部におけるt-ZR含有量が水口部よりも有意に高い値を示した様に、伊那市のコシヒカリでも水尻部におけるt-ZR含有量は水口部よりも高い傾向を示したが、5%レベルでの有意差は認められなかった。しかし、入善町における水尻部および伊那市の水尻部における出液中のt-ZR含有量は、根上町の標準栽培(2区)を対照として比較した場合、有意に高い含有量を示した。伊那市におけるt-ZR含有量が高い値を示したのは、鯨らの報告(2001)と同様の結果であった。入善町の水田土壌は礫層で透水性が高いため、黒部水系の農業用水の水温が低くても水口部から100m離れた水尻部における水温は上昇すると考えられる。実際水稲の生育状態は水口部より数日早く進んでいる。入善圃場では水温の差が、水口部と水尻部における出液中のt-ZR含有量に影響しているものと考えられた。一方、伊那圃場の土壌は透水性が低いため低水温の農業用水の停滞時間が長い(Oritani *et al.*

2001)。また土壌中の腐食が多く土壌三相中における気相の割合が多い。土壌による緩衝作用により低水温の影響は小さくなり(Oritani *et al.* 2001)、水稲の生育に及ぼす影響が相対的に小さくなるものと考えられる。

富山県農業試験場内の三要素試験区において、最高分けつ期(7月18日)および出穂期(8月7日)の出液中t-ZR含有量を定量し、第4表に示した。最高分けつ期におけるサイトカイニン含有量は、無窒素区、無リン区および三要素区より無肥料区および無カリ区で有意に低かった。出穂期においては、無肥料区と無窒素区のサイトカイニン含有量が無リン区、無カリ区および三要素区よりも有意に高い値を示した。三要素区、無リン区および無カリ区の間において収量および根の生育に大きな差が認められないこと(橋本ら2002)を考慮すると、出液中のt-ZR含有量に試験区間差異が認められたことは興味深い。

各栽培区の収量構成要素を、第5表に示した。本試験のデータからt-ZR含有量と収量との関連性を言及するのは難しい。収量を構成する各要素はさまざまな影響を受けることを考慮すると、t-ZR含有量と収量性との関連を検討するためには、更にデータを積み重ねる必要がある。

謝辞

本研究を実施にあたり、石川県根上町の水田の調査で御協力頂いた、石川県農業総合研究センター、宮川修氏、富山県農業試験場の三要素試験区の調査で御協力頂いた、富山県農業試験場、東英男氏、山田信明氏、沢田耕一氏、および水田調査に御協力頂いた富山県入善町の稲村光枝氏ならびに長野県伊那市の春日照夫氏に感謝いたします。

本研究の一部は、平成13年度文部科学省科学研究費(課題番号:11660015)により実施した。

引用文献

- 鯨 幸夫ら 2001. 日作紀 北陸支部会報 36:53-56.
 鯨 幸夫ら 2002 a. 日作紀 71 別1:14-15.
 鯨 幸夫ら 2002 b. 日作紀 71 別1:16-17.
 橋本和幸ら 2002. 日作紀 71 別2:24-25.
 Oritani T. *et al.* 2001. Proceedings of the 6th Symposium of the International Society of Root Research:530-531.

(2002年11月5日受付, 2003年2月10日受理)