

○本村勇貴・金子祥太郎・畠山 茂・原口智和・藤井義晴<sup>1)</sup>・駒井史訓  
(佐賀大院農学研究科・<sup>1)</sup>東京農工大院農学研究院)

### 【目的】

近年、アスパラガス(*Asparagus officinalis* L.)の放出したアレロパシー物質が連作障害の一要因であると考えられている。以前の報告で、アスパラガス無菌実生から得られた浸出液および植物体内の無機成分を分析した結果、それぞれに多量のアニオンおよびカチオンが存在することを明らかにした。このことから、圃場においてもこれら無機成分が放出されて蓄積することが、生育不良の大きな原因ではないかと考えるに至っている。そこで本研究では、無菌実生の齡によって、放出される無機成分の量が異なると想定し、無菌系において長期間培養した実生から得られた浸出液中の無機成分を同定し、各成分を根系中の成分プロファイルと比較した。また、レタスを用いてバイオアッセイを行うことで、齡が異なるアスパラガスから得た浸出液のアレロパシー活性について検証した。

### 【材料および方法】

**アスパラガス無菌実生の作製：**‘ウエルカム’の種子を70%エタノールで30秒間表面殺菌を行い、滅菌蒸留水で3回すすいだ後、Tween20を数滴含んだ次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素3%)で20分間滅菌処理した。その後、滅菌蒸留水へ種子を浸漬した後に3度すすぐことを3回繰り返した。余分な水分を除去後、発芽培地(MS+1%スクロース+0.2%ゲランガム)に播種し、2週間後にプラントボックスへ移植した。その後、25℃の明条件下で培養した。

**無菌浸出液の回収：**無菌播種から1, 3, 6, 9および12ヶ月後の実生をプラントボックスから取り出し、根部に付着したゲルを除去後、それぞれをプラントボックスへ移植し、根系が浸るまで蒸留水を注いだ。25℃の明条件下で5日間培養し、浸出液を回収した後、メンブレンフィルター(φ0.2μm)でろ過した。ろ過した浸出液をイオンクロマトグラフィー分析とバイオアッセイに供試した。

**イオンクロマトグラフィー分析：**イオンクロマトグラフィー(ダイオネクス)を用いて、アスパラガ

ス無菌浸出液とアスパラガス地下部の抽出液のアニオンおよびカチオンを検出した。アニオンについては陰イオン交換カラム(IonPac AS14)を用い、溶離液は3.5mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1.0mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, 流量1.2ml/minの条件で行い、カチオンについては陽イオン交換カラム(IonPac CS12A)を用い、溶離液は20mmol/L CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>H, 流量1.0ml/minの条件で行った。

**バイオアッセイ：**ろ紙をしいたφ30mmシャーレに齡が異なる実生から得た浸出液をそれぞれ0.7ml添加し、催芽処理を施したレタス‘グレートレックス366’(タキイ)の種子5粒を置床して暗条件下、25℃で3日間培養し、置床から6, 12, 18, 24, 36, 48および72時間後に幼根と胚軸の長さを測定した。

### 【結果および考察】

アスパラガス根系および齡が異なる実生から得た浸出液において、カチオンはNa<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>が検出され、アニオンではF<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が検出された。アスパラガス浸出液中の無機成分のほとんどをK<sup>+</sup>とNO<sub>3</sub><sup>-</sup>が占めており、齡の若い実生由来の浸出液ほど検出量が増加した。また、多量に検出されたK<sup>+</sup>とNO<sub>3</sub><sup>-</sup>はアスパラガスの根系にも多く存在していた。次に、浸出液を用いてバイオアッセイを行うと、齡が若い実生から得られた被検定材料ほどレタスの幼根伸長が抑制された。これらの結果から、連作圃場において改植を行った際に今まで蓄積してきた無機成分に加えて、改植した若い株から相当量の無機成分が放出されていることと、その多くはKNO<sub>3</sub>であり、これがアスパラガスの生育不良を引き起こしている可能性が示唆された。しかし、浸出液を回収する際に、浸透圧差などの要因によって栽培環境下では放出されない成分をとらえている可能性が考えられるため、今後、無菌系においてアスパラガスを生育させた培地そのものから固相抽出を行い、根系から放出されて培地中に蓄積している成分を分析する予定である。