溶出電解質量測定による チャ冬芽の耐凍性評価法の利用

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所*

松 永 明 子

(平成24年11月5日受理)

Evaluation Method of Tea-shoot Freezing Resistance by Measuring Electrolyte Leakage

Akiko Matsunaga

NARO Institute of Vegetable and Tea Science

Summary

To evaluate the freezing resistance of tea shoots during winter and early spring, the electrolyte leakage from tea shoots after cold treatment was assessed by using a conductivity meter. Increase in electric conductivity reflected tissue injury immediately after cold treatment. The variation in electric conductivity indicated the differences in cold resistance among cultivars ('Sofu', 'Yabukita', and 'Fushun'), in addition to the changes in cold resistance from winter to early spring and differences in cold resistance based on whether or not medium pruning treatments were performed.

Key Words : *Camellia sinensis*,
freezing resistance,
electrolyte leakage,
tea cultivars

キーワード：チャ、耐凍性評価、溶出電解質、
導電率

1 諸 言

チャの栽培において、初冬期の霜害や春先の冬芽への凍霜害は一番茶の減収や品質低下を引き起こす^{1,2)}。凍霜害の回避には、茶樹の耐凍性の把握が重要である。これまで、冬から春先にかけての冬芽の耐凍性が様々な方法で評価されているが、評価に日数を要したり、評価者により基準が異なるなどの問題がある^{3,4)}。そのため簡便で正確な耐凍性の評価方法、耐凍性の時期的変化および品種間差を明らかにすることなどが必要となる。

吉田らが考案した、低温処理後の冬芽を水に浸漬し、植物組織から溶出する電解質を簡易型導電率計で計測し耐凍性を評価する方法は、簡便迅速でかつ耐凍性の違いを客観的な数値で表すことができる^{5,6)}。そこで、まず冬芽への低温処理後の導電率変化と生体染色法および培養後の萌芽率との比較を行い、組織の損傷がどのように評価されるか検討を行った。さらに初冬期から春先にかけて、耐凍性が弱いとされる‘そうふう’と強い‘ふうしゅん’の冬芽の低温処理後の溶出電解質量の経時的変化の調査を行った。また、‘やぶきた’を用いて中切りの有無が耐凍性に及ぼす影響を溶出電解質量測定により検討し、吉田らの評価方法が耐凍性の経時的変化や品種の耐凍性の調査などにどのように利用できるかを検討した。

2 材料および方法

2. 1 供試材料

試験は2011年12月から2012年3月にかけて行った。供試材料は、(独) 農研機構 野菜茶業研究所金谷茶業研究拠点の圃場に定植した‘そうふう’ (9年生), ‘ふうしゅん’ (18年生) および対照品種として‘やぶきた’ (16年生) を用いた。‘ふうしゅん’, ‘やぶきた’

* 〒428-8501 静岡県島田市金谷猪土居2769

は2011年5月の一番茶後に中切り更新を行った。さらに、‘やぶきた’については隣り合った中切り更新を行った畝と行っていない畝のそれぞれから材料を採取し、中切りの耐凍性に及ぼす影響を調査した。耐凍性の判定方法による評価の違いは中切りを行っていない‘やぶきた’を用いて耐凍性が最も安定していると考えられる2月（2012年2月21日）に行った。冬期の耐凍性検定は2011年12月初旬から2012年3月下旬まで行い12月上旬から2月中旬は約2週間ごと、2月下旬から3月下旬は約1週間ごとに行った。上位第1葉目の測芽（第1測芽）の付いた枝を、10月中旬に秋整枝した摘採面から6cm程度の長さに採取し、耐凍性の検定処理を行った（写真1）。

2. 2 低温処理

天候などの採取条件の違いが耐凍性に及ぼす影響を緩和するため、低温処理は中野の方法に準じて行った³⁾。低温処理前に枝条全体を数分間水道水に浸漬した。その後濡れたままの枝条を各試験区5本ずつ（溶出電解質量測定による評価と生体染色法および萌芽率との比較試験については各10本）アルミ箔に包み、これを恒温インキュベーター（福島工業株式会社製、FMU-053I）で試験前日より5℃で保存した。翌朝、まず、0℃で1時間培養した後、処理温度（5℃から-15℃）で2時間の低温処理を行い、15℃で1時間培養した。その後被害程度を評価するために、組織からの溶出電解質量の測定および培養後の芽の萌芽率の調査を行った。萌芽率の調査は低温処理後の切り枝を水道水に挿し、中野の方法に準じて25℃、14時間日長条件で培養し、その後の供試本数に対する萌芽割合を調査した³⁾。

2. 3 溶出電解質量の測定

冬芽からの溶出電解質量の測定は吉田らの方法に準じて行った⁶⁾。第1側芽をメスで切

断して枝から採取し、これらを秤量後に、1芽ずつ48ウェルマイクロプレートに入れ、蒸留水を加え緩やかに振とうさせた。ただし、2012年1月6日までの調査では、自重の20倍量、それ以降では一律500 μ L加え、測定後に自重の20倍量中の導電率変化に換算した。溶出電解質量は携帯型導電率計（HORIBA製、B-173）で導電率（ Δ s/cm）を測定し、これを0時間の値とした。測定後、25℃の恒温槽で2時間培養し、振とう後導電率の測定により導電率化を算出し、冬芽からの溶出電解質量とした。

2. 4 生体染色法

導電率測定後直ちに芽の変色程度の観察を行った。芽をプレートから取り出して、安全カミソリで縦に半分に切断し、死んだ細胞を0.5%エバンスブルー溶液で3分間染色後、蒸留水で洗浄し、実体顕微鏡を用いて断面を観察した。エバンスブルーの染色程度により被害の程度を3（強被害）、2（中被害）、1（弱被害）、0（無被害）の4段階で評価した（写真2）。

3 結果および考察

3. 1 気温変化

2011年11月から2012年3月の金谷茶業研究拠点における気温の推移を図1に示した。日平均気温は2月2日に最も低く-1.6℃を記録し、最低極温は2月19日の-6.5℃であった。

3. 2 芽重の変化

試験に用いた第1側芽の重量は‘そうふう’は12月から1月中旬までは17mgから24mgまで増加し、その後2月中旬にかけて12月初旬と同程度まで減少し、その後は段階的に増加した。‘やぶきた’、‘やぶきた’（中切り）、‘ふうしゅん’は12月から2月中旬までは明確な変化はなく、2月中旬以降は徐々に増加した。品種間の比較では、‘そうふう’と‘やぶきた’

図1 金谷茶業研究拠点における気温の推移

1) 2011年11月1日から3月31日までの金谷茶業研究拠点気象観測装置のデータ。

(中切り)の重量は、‘ふうしゅん’と‘やぶきた’より重い傾向があった(図2)。

3. 3 耐凍性の判定方法による評価の違い
低温処理後の溶出電解質量と処理直後のエ

バンスブルー生体染色による組織の観察での被害程度のグレード分け、並びに切り枝を25℃14時間日長で処理した時の萌芽率を比較した(表1)。溶出電解質量を示す導電率は-11℃処理で値が大きくなり始め、-12.5℃,

図2 冬芽の重量変化

- 1) 試験は2011年12月1日、21日、2012年1月6日、20日、2月3日、14日、24日、3月1日、8日、15日、20日に行った。
- 2) 芽重は溶出電解質量測定に用いた第一側芽の重量。
- 3) $n=25$ 。ただし12月1日は $n=20$ 、3月15日の‘そうふう’と3月20日、20日は $n=15$ 。
- 4) $\pm$ 標準誤差

表1 ‘やぶきた’ 冬芽の低温処理の場合の異なる耐凍性判定手法による調査結果の比較

処理温度 ¹⁾ (℃)	溶出電解質量測定 導電率変化 ²⁾ ($\Delta \mu\text{s/cm/2h}$)	生体染色による グレード分け 被害程度 ³⁾	水挿し後の萌芽率 萌芽率 ⁴⁾ (%)
5.0	16 ± 1a	0.0 ± 0.0	95
-7.5	14 ± 1a	0.1 ± 0.1	100
-9.0	16 ± 1a	0.4 ± 0.2	95
-10.0	16 ± 1a	0.6 ± 0.2	95
-11.0	23 ± 2a	0.8 ± 0.2	40
-12.5	40 ± 7b	1.9 ± 0.1	0
-15.0	48 ± 3b	2.7 ± 0.2	0

1) 試験は2012年2月20日から21日にかけて実施した。

2) n=10, ±標準誤差, 異なるアルファベットは1%水準で処理区間内で有意差があることを示す。

3) 切片が明瞭に観察できた芽のグレードの平均値 (3 (強被害), 2 (中被害), 1 (弱被害), 0 (無被害)), n=10 (ただし, -7.5℃, -12.5℃処理はn=9)。

4) 2012年2月21日水挿しし, 2012年3月10日に萌芽率を調査した (n=20)。

-15℃処理で顕著に高くなった。生体染色後のグレード分けによる被害程度の評価は、-7.5℃から-11℃処理で被害程度が徐々に大きくなり、-12.5℃, -15℃処理で強被害であった。処理後の萌芽率は-10℃処理で低温処理の影響が観察され、-11℃処理で萌芽率は40%になり、-12.5℃および-15℃処理では萌芽せず枯死した。溶出電解質量と生体染色判定の評価はほぼ一致しており、処理直後の被害程度を導電率変化により把握できることが吉田らの試験と同様に確認された。また、溶出電解質量よりも萌芽率の調査の方が被害程度が大きく判定されたが、溶出電解質量の測定の場合は冬芽の組織損傷のみを測定しているのに対して、萌芽率調査の場合は、枝条や成葉の被害もその後の萌芽に影響することなどが考えられる。以上のことから、溶出電解質量測定は、被害直後の組織の損傷程度を反映し、他の方法と比べ迅速で客観的な結果が得られるため、耐凍性の判定に適すると考えられた。

3. 5 冬期における低温処理後の溶出電解質量の経時変化の品種間差異 低温処理を行った各品種の冬芽からの溶

出電解質量の変化を図3に示した。‘そうふう’の-12.5℃, -15℃処理の溶出電解質量は全期間を通して値が大きかったが、経時的な傾向は認められなかった。-10℃処理では12月1日より12月21日の溶出電解質量が少なくなり、その後2月24日までは値は低く推移したが、3月1日以降高くなった。-7.5℃処理も冬期は値が低く3月1日以降上昇した。-10℃, -7.5℃の処理ではいずれも常に-10℃処理の値のほうが高く推移した。‘そうふう’は1月下旬から2月の厳寒期、圃場での枝条採取時に、冬芽への凍霜害の発生が観察された。明らかに被害のある芽は調査対象としなかったが、野外ですでに低温による損傷を受けており、それが調査毎の数値のばらつきにつながったと推察した。

‘ふうしゅん’は-15℃と-10℃処理では、12月1日から2月3日にかけて溶出電解質量が小さくなったが、2月14日以降は増大した。また、全ての処理温度で2月14日以降の溶出電解質量は増大する傾向であった。処理温度が低いほど春先の溶出電解質量の増大時期が早くなり、-15℃処理では2月14日、-12.5℃, -10℃処理では3月8日以降、-7.5℃処理では3月15日以降溶出電解質量の値がそれまでより高くなった。-12.5℃以下の処理では溶出

図3 低温処理による冬芽の溶出電解質量の品種別・時期別推移

- 1) 試験は2011年12月1日, 21日, 2012年1月6日, 20日, 2月3日, 14日, 24日, 3月1日, 8日, 15日, 20日に行った。
- 2) $n=5$, $\pm$ 標準誤差

電解質量が他の処理温度より大きくなったが、 -10°C 以上の処理では、厳冬期（1月から2月）の溶出電解質量は $20\Delta\mu\text{S}/\text{cm}$ 程度かそれ以下となった。

‘やぶきた’は -12.5°C 以下の処理では溶出電解質量の値が高く推移した。 -10°C 以上の処理では‘初冬期から厳冬期は‘ふうしゅん’と同程度の溶出電解質量であったが、春先の溶出電解質量の増大は‘やぶきた’の方が早かった。

これら3品種の比較では溶出電解質量から‘ふうしゅん’の耐凍性が最も強く‘そうふう’が弱いことが示された。‘ふうしゅん’は他

の品種より溶出電解質量の値が低く推移し、さらに春先の溶出電解質量の増大も他の品種より遅かった。このように、低温処理後の溶出電解質量を経時的に測定することで品種の耐凍性の傾向を明らかにすることができると考えられる。

‘やぶきた’（中切り）は -12.5°C 以下の処理では溶出電解質量が多く、2月中下旬に最も値が小さくなった。 -10°C 処理では12月中旬から2月下旬まで少なくなったが、 -7.5°C の処理では冬期の溶出電解質量は対照の 5°C 処理と同程度であった。‘やぶきた’では中切り区は中切りをしていない区と比較し、

-10℃処理以下では溶出電解質量の値が高く推移したが、2月中下旬はその差が小さくなり、春先の溶出電解質量の増大には明確な違いは認められなかった。このことから、初冬の耐凍性は中切りにより弱くなるが、厳冬期の耐凍性は大きな違いがなく、また、春先の耐凍性の低下時期にも大きな違いはないと推察された。中切りを行うと芽は芽重型となり秋冬期の芽止まりは緩慢で耐凍性の獲得も遅れると考えられるが、溶出電解質量の変化でもこの傾向が示された。このように溶出電解質量を測定することで栽培管理の違いによる耐凍性の差も評価できることが示唆された。

試験を行った金谷の気象条件においては、耐凍性の弱い‘そうふう’は、良質な一番茶を得るには早期の防霜ファンの使用だけでなく、被覆資材等による防寒対策が必要と考えられる。一方、‘ふうしゅん’は初冬期から耐凍性が強く‘やぶきた’よりも防霜ファンの使用期間を減らすことができると考えられるが、これらの防寒や防霜対策時期の判断に溶出電解質量測定による耐凍性の評価が利用できる考える。

今回の調査において気温は1月下旬から2月上旬に最も低く、その時期に耐凍性も最も強くなり耐凍性の消失は2月下旬から観察された。また、春先の耐凍性の消失は、芽重の増加と一致しており、芽の生長と共に耐凍性が失われた。耐凍性の強度は、休眠程度や糖

含量と関連があると考えられるが、本試験の結果から、芽重や溶出電解質量からも耐凍性の獲得、消失時期や強度が推察できることが示唆された。

また、耐凍性品種間差については、これまでも検討が行われているが、圃場観察による調査が多く、近年育成された品種を含めて、同一条件下で客観的な評価法により比較した例はない。今後、調査を進め品種普及に役立てる必要がある。

引用文献

- 1) 青野英也・築瀬好充・田中静夫・菅野正道・加藤正明(1974)：茶研報，No.41, 16-36.
- 2) 水上裕造・山口優一(2010)：茶研報，No.110, 91-94.
- 3) 中野敬之(2002)：日本作物会記事71, 43-49.
- 4) 倉貫幸一(1983)：茶研報，No.57, 1-6.
- 5) 吉田克志・松尾喜義(2011)：日本作物学会紀事別号（講演会要旨・資料集）No.231, 102-103.
- 6) 吉田克志・松尾喜義(2012)：茶研報，No.113, 63-69.
- 7) 原田重雄・渡辺明・中山仰・酒井慎介・鳥屋尾忠之(1958)：東海近畿農業試験場研究報告茶業部，No.6, 86-124.

写真1 低温処理に用いた枝条

写真2 エバンスブルー染色による耐凍性被害程度の評価

- 1) 溶出電解質量測定後に徒手切片を作成し、0.1%エバンスブルーで染色した。
- 2) 上から、被害程度0（無被害）、1（弱被害）、2（中被害）、3（強被害）