木酢液と木炭の混合物がメロン果実のスクロース含量に及ぼす影響*

杜 冠 華**・小 川 正 則・安 藤 定 美

続 栄 治・村 山 盛 一***

(**鹿児島大学連合大学院・宮崎大学農学部・***琉球大学農学部)

1996年6月5日受理

要 旨: 木酢液と木炭の混合物 (木酢液 1: 木炭 4; 以下サンネッカ E と略称) の作物に対する作用機作を明らかにする目的のもとに, メロン果実のスクロース蓄積とこれの合成に関与するスクロースリン酸合成酵素 (以下, SPS と略称) の活性に及ぼすサンネッカ E の影響を検討した。実験は 1990 年から 1995 年までの 4 年間に 5 回行った。いずれの実験とも, サンネッカ E の施用で成熟果実のスクロース含量が増加する傾向を示した。SPS 活性はサンネッカ E の施用, 無施用にかかわらず果実の成熟に伴い増大するが, その程度は前者が後者を上回るものであった。サンネッカ E の施用はメロン果実の SPS 活性を高め, これによってグルコースおよびフルクトースからスクロースへの合成は促進され, その結果スクロース含量が増加するものと推察された。

キーワード: スクロース含量, スクロースリン酸合成酵素, メロン, 木酢液, 木炭。

Effect of Mixture of Charcoal with Pyroligneous Acid on Sucrose Content in Netted Melon (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud.) Fruit: Hua Guan DU**, Masanori OGAWA, Sadami ANDO, Eiji TSUZUKI, and Seiichi MURAYAMA*** (Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki 889-21, Japan; **United Graduate School of Agriculture Science, Kagoshima University, Kagoshima 890, Japan; ***College of Agriculture, University of Ryukyus, Okinawa 903-01, Japan)

Abstract: To determine the effects of mixing charcoal with pyroligneous acid (pyroligneous acid 1: charcoal 4; Sanneikka E) on sucrose synthesis in netted melon fruit, five experiments were carried out at 3 locations from 1990 to 1995. All the experiments indicated higher sucrose content in the fruit supplemented with Sanneikka E than without Sanneikka E. The activity of sucrose phosphate synthase (SPS) increased as the fruit matured, irrespective of Sanneikka E application, but the increase was higher in the case of Sanneikka E. From the result, it is suggested that the application of Sanneikka E increases SPS activity, which promotes the synthesis of sucrose from glucose and fructose in melon fruits.

Key words: Charcoal, Netted melon, Pyroligneous acid, Sucrose content, Sucrose phosphate synthase.

木炭を製造する際に副産物として得られる木酢液は殺菌作用や作物の発根促進作用のあることが知られている^{3,5,6)}。一方, 木炭は吸着性や多孔性などの優れた特性を有しており, 古くから農業の現場において利用されてきた。木酢液と木炭の混合物 (木酢液 1: 木炭 4; 以下, サンネッカ E と略称) は両者の特性を持っており, 各種作物の栽培において使用されつつある。

著者らはサンネッカ E の作物に対する作用機作を明らかにする目的のもとに実験を続けている。ここではサンネッカ E のメロン果実の品質, 特にスクロース含量に及ぼす影響を検討した。

材料と方法

1. 栽培法

実験 I (附属農場実験): 1990, 1992 および 1995 年に宮崎大学農学部附属農場ガラス温室で栽培し

た。10 a 当たりサンネッカ E を 300 kg, チッソ, リン酸, カリ, 石灰をそれぞれ 10.4, 13.0, 10.4, 66 kg 基肥として与えた。いずれの年次ともサンネッカ E 施用個体は 20 株であった。

実験 II (佐土原町実験): 1991 年, 宮崎市近郊の佐土原町メロン栽培農家ビニールハウスで栽培した。10 a 当たりサンネッカ E を 200 kg, チッソ, リン酸, カリ, 苦土をそれぞれ 19.2, 30.4, 25.6, 100 kg を基肥として与えた。サンネッカ E 施用個体は 40 株であった。

実験 III (高鍋町実験): 宮崎県高鍋町メロン栽培農家ビニールハウスで栽培した。プラスチック製コンテナ (32 cm×40 cm) に床土 (組合芽だし) 20 l を入れ, コンテナ当たりチッソ, リン酸, カリをそれぞれ 6.6 g, 8.8 g, 4.4 g, またサンネッカ E を 38 g 基肥として与えた。サンネッカ E 処理は 30 個体であった。なお, 供試したメロン品種および栽培概要は第 1 表に示した。

* 大要は, 第 188 回講演会 (1992 年 4 月), 第 201 回講演会 (1996 年 4 月) において発表。

Table 1. Varieties used in the experiments and their cultivation designs.

	Year	Variety	Sowing	Planting	Harvest	Planting rate
Exp. I *	1990	Sunday spring type	Feb. 12	Mar. 11	Jun. 14	150×40 **
	1992	Earls seinu spring type	Feb. 17	Mar. 17	Jun. 25	150×40
	1995	Earls seinu spring II	Mar. 3	Mar. 31	Jul. 5	150×40
Exp. II	1991	Sunday autumn type	Sep. 2	Oct. 20	Feb. 6	150×40
Exp. III	1995	Earls seinu spring II	Nov. 15	Dec. 2	Apr. 17	-***

* ; Exp.I; Experimental Farm at Miyazaki Univ., Exp.II; Sadohara machi, Exp. III; Takanabe machi,

** ; Row space and hill space within row, *** ; Plastic container.

2. 植物体乾物重および根の活性調査法

1995年に実施した実験について、収穫時に地上部ならびに地下部乾物重、葉面積および根の活性を10個体について調査した。地下部の調査はメロンの株を中心に、直径20cmのステンレス製パイプを20cmの深さまで打ち込み掘り取った。掘り取った後丁寧に洗浄し、根の活性測定と、乾物重の測定に供した。根の活性は3lビーカーに水道水を入れ、ビーカー中の溶存酸素量を溶存酸素計により測定した。個体毎に根組織を6分間ビーカーに浸し、溶存酸素量の減少を求め根の活性とした。乾物重は80°Cの熱風乾燥器に入れ、48時間後に測定した。葉面積の測定は葉面積測定器（林電工TYPE AAM-5）を用いた。

3. 糖類の分析法

果実の糖含量はいずれの実験においても受粉日の揃った平均的な果実6果について分析した。試料は収穫直後、果実の赤道面から上部へ約2cm幅で切り取り、外果皮、種子および内部の柔らかい部分を除去し、果肉部を裁断後ただちにガーゼで搾汁後試験管に移し、3,500回転で8分間遠心分離を行い、上澄液をマイクロフィルターで濾過した。得られた試料を10倍に希釈し、分析に供した。

糖類の分析は高速液体クロマトグラフィーで分析した。分析条件は次に通りであった。カラムはTSKgel-80, 4.6mm×25cmで、カラム温度は80°Cであった。移動相としてアセトニトリル:水(75:25)を用い、1分間に1mlの流速であった。検出は示差屈折計を用いた。測定は1試料につき2回行い、その平均値を用いた。

4. スクロースリン酸合成酵素活性の測定法

スクロースリン酸合成酵素 (SPS) 活性は糖含量の測定に用いた果実4個体について分析した。赤道面から下部へ約2cm幅で切り取り、種子および内部の柔らかい部分を除いた果実の中央部2ヶ所からそれぞれ1gを取り分析し、平均値をその個体の活

性とした。試料はあらかじめ冷却しておいた乳鉢に入れ、酵素抽出液5ml、石英砂1g、牛血清アルブミン (BSA) 25mg、ポリクラール 30mgを加え磨砕した。磨砕された試料はミラクロスで濾過し、38,000gで10分間遠心分離した。上澄液2.5mlをSephadex G-25を詰めたPharmacia Biotech PD-10カラムに移し、3ml流した後2.5mlを酵素液として採取した。得られた酵素液は酵素反応液50μlと混合し、30°C10分間インキュベートして酵素を反応させた後、1規定の水酸化ナトリウム70μlによって素早く反応を止めた。ブランクはインキュベートせずに酵素反応液と混合した後ただちに水酸化ナトリウム70μlを加え、氷中で保管した。反応終了後、反応に用いられなかった基質を分解するために、沸騰水で10分間煮沸した。室温に戻した後、95%エタノールに0.1% (V/V) になるようにレゾルシノールを溶かした発色液1mlを加え、80°Cで8分間インキュベートした。室温に戻した後、分光光度計で520nmの吸光度を測定した。ブランクも同様に行った。分光光度計によって測定された吸光度は検量線と照合され、ブランクとの吸光度の差から生成されたスクロースの濃度を算出することによって酵素活性を求めた。

結 果

1. 収穫時の乾物重および根の活性

収穫時に地上部ならびに地下部の乾物重、葉面積および根の活性について調査した結果を第2表に示した。乾物重は地上部、地下部ともサンネッカE施用区と無施用区間に差異はみられなかったが、葉面積では前者が後者より有意に大きかった。また、根の活性もサンネッカEの施用で高まることが認められた。

2. メロン果実中の糖類の濃度

4年間、5栽培試験において得られた結果をまとめて第3表に示した。果実重についてみると、実験

Table 2. Effect of Sannekkka E on dry weight, leaf area and root activity in harvesting time.

	Year	Entry	Top dry weight (g)	Root dry weight (g)	Leaf area (cm ²)	Root activity (mg/gFW/h)
Exp. I	1995	Treat.	62.1±5.8(98)	1.46±0.2(97)	3609(109) *	0.392(114) *
		Non	63.2±6.0(100)	1.50±0.2(100)	3315(100)	0.352(100)

Treat.; Treatment, Non; Non treatment, *; Significant difference at 0.05 probability level. Figures in parenthesis are relative values to non treatment.

Table 3. Sugar content in netted melon fruit affected by Sannekkka E application.

	Year	Entry	Fruit weight (g)	Sucrose (mg/g)	Glucose (mg/g)	Fructose (mg/g)	Total (mg/g)
Exp. I	1990	Treat.	1391±14(87) *	57.1±5.4(128) **	21.6±2.0(102)	19.2±1.8(101)	97.9(115)
		Non	1608±15(100)	44.6±4.8(100)	21.2±1.9(100)	19.1±1.9(100)	84.9(100)
	1992	Treat.	1540±13(95)	57.5±5.5(109) +	19.5±1.8(93)	19.0±2.4(86) +	96.0(100)
		Non	1610±14(100)	52.6±6.0(100)	21.0±2.0(100)	22.0±2.2(100)	95.6(100)
	1995	Treat.	1551±14(90) *	76.5±7.1(116) *	24.3±2.1(105)	23.4±2.0(105)	124.2(112)
		Non	1719±15(100)	65.7±6.5(100)	23.1±2.2(100)	22.2±1.9(100)	111.0(100)
Exp. II	1991	Treat.	—	71.6±6.4(109) +	20.9±2.1(125) *	19.3±1.3(112) +	111.8(112)
		Non	—	65.7±6.3(100)	16.7±1.8(100)	17.3±1.8(100)	99.7(100)
Exp. III	1995	Treat.	650±5.3(102)	86.2±8.5(116) *	8.8±1.0(52) **	9.7±1.0(59) **	104.7(97)
		Non	639±5.1(100)	74.2±7.3(100)	17.0±1.6(100)	16.5±1.5(100)	107.7(100)

Treat. ; Treatment, Non; Non treatment, **, * and +; Significant difference at 0.01, 0.05 and 0.1 probability levels as determined by t-test, respectively. Figures in the parenthesis are relative values to non treatment. —; Not measured.

III (高鍋町) ではサンネッカ E 施用区と無施用区間にほとんど差異はみられなかったが、実験 I (附属農場) では後者が前者を上回る値を示した。スクロース含量は年次によって若干異なり、1991 年および 1995 年実験において高く、1990 年と 1992 年ではやや低かった。しかし、いずれの実験においてもサンネッカ E の施用によってスクロース含量は増加する傾向を示し、無施用区に対して 9-28% 増加した。一方、グルコースおよびフルクトースでは実験によってやや趣を異にしており、実験 II (佐土原町) および実験 III ではサンネッカ E 施用区の含量が無施用区より低かったが、その他の実験では施用区が無施用区をやや上回っていた。

総糖量についてみると、実験場所によってやや異なり、実験 I および II ではサンネッカ E 施用区が無施用区を上回る値を示したが、実験 III では両者間に差異はみられなかった。

2 農家で栽培した実験から成熟期に果実を数回採取し、果実中の糖類を経時的に分析した結果を第 1 および 2 図に示した。第 1 図 (実験 II) をみると、スクロース含量は受粉後 36 日では低く、36 日以降増加傾向を示し、54 日まで増加した。サンネッカ E 施用区は受粉後 42 日までは無施用区を下回った

が、48 および 54 日後では無施用区を上回った。グルコースおよびフルクトースではサンネッカ E の施用区と無施用区間に明瞭な差異はみられなかった。これらの単糖類は受粉後 42 日目においてほぼ最大値に達し、その後漸次減少する傾向がみられた。

第 2 図 (実験 III) をみると、受粉後 45 日目ではサンネッカ E 施用区のスクロース含量は無施用区を下回ったが、55 日目では施用区が高かった。グルコースおよびフルクトースについてみると、サンネッカ E 施用区のこれらは受粉後 45 日で最大に達し、その後減少した。無施用区ではこのような傾向はみられず、受粉後 35 日から 55 日までほぼ同様な値を示した。

3. スクロースリン酸合成酵素活性

実験 I (附属農場, 1995) で得られた成熟果実のスクロースリン酸合成酵素 (SPS) の活性を第 4 表に示した。サンネッカ E 施用区の SPS 活性は無施用区のそれより 10% 程度高かった。

第 3 図 (実験 III, 高鍋町実験) にはメロン果実の成熟期に伴う SPS 活性の推移を示した。受粉後 45 日目まではサンネッカ E の施用、無施用に関わらず低い活性であったが、45 日以降、SPS 活性は

Fig. 1. Sugar content in netted melon fruit affected by Sanneikka E application (Exp. II, Sadohara machi).

○: Sucrose, □: Glucose, △: Fructose

Fig. 3. Effects of Sanneikka E application on sucrose phosphate synthase activity (SPS) in netted melon fruit (Exp. I, Experimental Farm).

高くなった。特に、サンネッカ E 施用区の果実の SPS 活性は急激に増大し、無施用区を上回る傾向を示した (10%水準で有意差)。

考 察

メロン果実の糖蓄積についてみると、受粉 35 日後では低く、時間の経過とともに増大し、受粉後お

Fig. 2. Sugar content in netted melon fruit affected by Sanneikka E application (Exp. III, Takanabe machi).

○: Sucrose, □: Glucose, △: Fructose

Table 4. Sucrose phosphate synthase activity (SPS) in netted melon fruit affected by Sanneikka E application*.

Entry		SPS activity ($\mu\text{M/gFW/h}$)
Exp. I	Treatment	$8.77 \pm 1.55 (110)$
	Non treatment	$8.00 \pm 1.05 (100)$

* ; Experiment I (Experimental Farm, 1995).

よそ 55 日頃最大に達し、ほぼ成熟を迎える。Lingle and Dunlap⁴⁾によると、メロン果実の糖含量の大部分はスクロースであるとされている。サンネッカ E 施用と成熟期のメロン果実のスクロース含量との関係をみたところ、5 実験すべてにおいてサンネッカ E 施用区の果実が無施用区を上回り、その程度は 9-28%を示し、サンネッカ E はメロン果実のスクロース含量を高めることが観察された。グルコースおよびフルクトースについては一定の傾向はみられなかった。サンネッカ E 施用によってスクロース含量が増加することはサトウキビ⁷⁾およびトマト¹⁾において報告されており、サンネッカ E 処理によるスクロース蓄積の機構を明らかにすること

は興味のあることである。本実験においては、サンネッカ E 施用区の果実重は無施用区のそれよりやや小さく（実験 III 以外）、糖含量では前者が後者より高く、果実の小型化に伴う糖濃度の濃縮効果の可能性も推測されるが、この点については今後検討する必要がある。

メロン果実におけるスクロース合成はスクロースリン酸合成酵素（SPS）の活性と密接に関係していることが報告されている（Lingle and Dunlap）⁴⁾。さらに、Hubbard et al²⁾ はスクロース含量の遺伝的に異なるメロン系統のスクロース合成の差異は果実の成熟過程の SPS 活性の強度が密接に関係することを、また SPS 活性はグルコース-6-P およびフルクトース-6-P に作用し、スクロース-6-P を生成することを報告している。このように、メロン果実のスクロース合成には SPS が Key 酵素として働いているものと考えられる。

本研究において、メロンの果実における SPS 活性を検討したところ、サンネッカ E の施用、無施用に関わらず成熟期に近づくにつれ、SPS 活性は高くなり、それに連動してスクロース含量も増加することが観察された。サンネッカ E 施用についてみると、施用区の SPS 活性は無施用区のそれより高く、スクロースの増加と対応するものであった。サンネッカ E の施用によって果実中の SPS 活性が高められ、これによってグルコースおよびフルクトースからスクロースへの合成が促進されたことを示唆するものであろう。本実験において、サンネッカ E 施用区と無施用区間のグルコースおよびフルクトース含量が実験によって相違した原因は定かではないが、その一つは分析に供した果実の成熟度に違いがあったことによるものと考えられる。

作物に対するサンネッカ E の作用についてのこれまでの研究をみると、サンネッカ E の施用によって作物の根の分化や伸長が促進されるとともに⁶⁾、根の活性も高まり^{6,9)}、無機養分の吸収が促進されることが報告されている⁹⁾。また、サトウキビではサンネッカ E の施用によって葉面積ならびに葉身のクロロフィル含量が増大し、CGR, NAR および光合成速度が増大することも知られている⁹⁾。本研究においてもサンネッカ E の施用はメロンの根の呼吸活性を高め、葉面積を増大させることが認められた。このことは、メロンにおいてもサトウキ

ビ同様にサンネッカ E 処理が根の活性を高め、無機養分の吸収を促進し、葉身の拡大やその生理機能を高めるとともに光合成速度を高め、基質の供給を増加させ、また他方ではサンネッカ E 施用がメロン果実の生理活性を維持し、果実中の SPS 活性を高め、スクロース含量の増大をもたらすことを推測させる。

謝辞: スクロースリン酸合成酵素の分析に際しては佐賀大学農学部助教授野瀬昭博博士にご指導を頂いた。ここに記して謝意を表する。

引用文献

1. 杜 冠華・小川正則・安藤定美・続 栄治・村山盛一 1995. 有機物施用が作物の生育, 収量ならびに品質に及ぼす影響. 第3報 木酢液と木炭の混合物がメロンおよびトマトの糖含量ならびに酵素活性に及ぼす影響. 日作紀 65(別2): 264—265.
2. Hubbard, N.L., S.C. Huber and D.M. Pharr 1989. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. Plant Physiol. 91: 1527—1534.
3. 市川 正・太田保夫 1982. 植物の生長発育に及ぼす木酢液の影響. 第1報 水稻苗の生育に及ぼす影響. 日作紀 51: 14—17.
4. Lingle, S.E. and J.R. Dunlap 1987. Sucrose metabolism in netted muskmelon fruit during development. Plant Physiol. 84: 386—389.
5. 宮本雄一 1962. 木酢液の土壤消毒剤としての効果. 農及園 36: 1637—1640.
6. 続 栄治・脇山恭行・江藤博六・半田 弘 1989. 木酢液ならびに木酢液と木炭の混合物がイネの生育に及ぼす影響. 日作紀 58: 592—597.
7. Uddin, S.M., S. Murayama, Y. Ishimine and E. Tsuzuki 1994. Studies on sugarcane cultivation. I. Effect of the mixture of charcoal with pyroligneous acid on cane and sugar yield of spring and ratoon crops of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Jpn. J. Trop. Agric. 38: 281—285.
8. ———, ———, ———, ——— and J. Harada 1995. ———. II. Effects of the mixture of charcoal with pyroligneous acid on dry matter production and root growth of summer planted sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Jpn. J. Crop Sci. 64: 747—753.
9. ——— 1996. Effect of the mixture of charcoal with pyroligneous acid on growth, yield and quality of sugarcane. Thesis for a Doctorate, The united graduate school of Agricultural Science, Kagoshima University.