

## II. 研究

### 1. 主な研究内容の紹介

#### 1) 湯浅農場

##### (1) マンゴーに関する研究

###### i) 台木の育成および接ぎ木後の生育

担当：志水恒介

マンゴーの効率的な苗木生産技術の確立のために、異なる土壌容積や温度処理を施した実生台木に接ぎ木を行い、接ぎ木活着率および接ぎ木後の生育に及ぼす影響を調査した。また、台木の幹径および接ぎ木方法が接ぎ木活着率に及ぼす影響についても検討した。

###### ①土壌容量の影響

2008年6月に台湾在来種‘柴芒果’および‘香芒果’を播種し、2008年7月に容量の異なる容器に鉢上げし、2009年6月に‘アーウィン’を接ぎ木した。その結果、土壌容量による生育の差はなかったが、台木の生育が十分でない個体は接ぎ木活着率が低く、接ぎ木後の生育も優れなかった。

###### ②温度処理の影響

2008年6月に‘柴芒果’を播種し、2008年8月に鉢上げを行い、最低温度を17℃、12℃および5℃に設定したビニルハウス内で栽培し、2009年6月に‘アーウィン’を接ぎ木した。その結果、すべての処理区において接ぎ木活着率は100%であり、その後の生育は17℃区で優れていた。

###### ②台木の生育が接ぎ木に及ぼす影響

2008年6月に播種した‘柴芒果’実生台木を供試し、2010年6月に‘アーウィン’を接ぎ木した。その結果、接ぎ木活着率は株元の幹径が10 mm以上の個体で高い傾向がみられた。

###### ③接ぎ木方法の影響

2009年8月に播種した‘アーウィン’実生台木を供試し、2010年10月‘アーウィン’および‘愛紅’を穂木として、切り接ぎ、割り接ぎおよび舌接ぎを行った。その結果、接ぎ木活着率は接ぎ木方法による差異がみられなかった。



写真 マンゴー苗木試験

###### ii) 取り木繁殖法の開発

担当：文室政彦

###### ①土壌容量の影響

2007年9月8日に取り木をして、11月11日に鉢上げした‘愛紅’自根苗を供試した。培土量を15リットル、30リットルおよび45リットルとした区を設け、2008年8月7日に容量の異なる不織布製ポットに多植した。

鉢上げ3年後の結果では、樹体生長として、幹径、着葉数および総新梢長とも、培土量による有意な差がなかった。

###### ②土壌組成の影響

2008年5月18日に取り木をして、2008年7月23日に鉢上げをした‘愛紅’自根樹を供試し、2009年5月11日に不織布製ポット（土壌容量20リットル）に移植した。

培土組成としては、山土80：堆肥20区、山土40：パーライト40：堆肥20区、山土40：パーミキュライト40：堆肥20区、山土30：パーライト30：ピートモス30：堆肥20区、山土30：パーミキュライト30：ピートモス30：堆肥20区を設けた。

鉢上げ2年後の結果では、樹体成長は各区とも有意な差がなかった。

###### ③自根苗と接ぎ木苗との樹体成長の差異

2007年9月9日に台湾在来種に取り木を行い、発根個体を同年11月12日に鉢上げし、翌2008年6月4日に‘アーウィン’、‘愛紅’および‘スピリット・オブ・76’を接ぎ木して、同年9月20日に不織布製ポットに定植した。慣行の台湾在来種実生苗は2008年6月9日に不織布製ポットに植栽し、翌2009年6月15日に‘アーウィン’と‘愛紅’を接ぎ木を行った。

接ぎ木1年後の生育では、3品種とも台湾在来種台樹が自根樹より栄養生長が旺盛であった。今後、両者の樹体成長と収量および果実品質の差異を検討する。

### iii) 音響振動法により果肉硬度の評価

担当：文室政彦

最近、音響振動法による果実硬度の評価が研究され、一部の果実では実用化されている。マンゴー‘アーウィン’果実を供試し、音響振動法により果肉硬度の推定の可否について検討した。

#### ① 樹上成熟に伴う経時的変化

着果した果実を使用し、自然落果の当日までの毎日、非破壊果肉硬度測定装置（生物振動研究所、Vp-2型）を使用し、樹上果実における自然落果までの第2共鳴周波数を調査したところ、自然落果4日前までは、ほぼ一定の値であり、自然落果3日前から急速に低下した。

#### ② 果実の大きさ別、部位別差異

果実の部位別の第2共鳴周波数は、果実の大きさに関わらず、背腹面赤道部中央間および側面赤道部中央間は差がなく、果梗果頂部間はこれらの数値より高かった。果実の大きさ別では、いずれの部位も、中果と大果は差がなく、小果がこれらの数値より高かった。果実の部位別、大きさ別の弾性指標は、第2共鳴周波数とほぼ同様の傾向であった。第2共鳴周波数の測定部位は、測定のしやすさから、背腹面赤道部中央間での測定が適していると考えられた。

#### ③ 収穫後の変化

25℃に設定したインキュベーターに収穫果を7日間入れたところ、果重減少率は漸増し、第2共鳴周波数、弾性指標、果肉硬度および有機酸含量が漸減した。

#### ④ 第2共鳴周波数および弾性指標と果肉硬度との関係

第2共鳴周波数および弾性指標と果肉硬度との間に、比較的高い相関関係がみられた。

これらの結果から、音響振動法はマンゴー果実の品質保持技術の開発に使用できると考えられた。

### iv) 新品種の育成

担当：文室政彦

平成21年に播種した‘アーウィン’と‘愛紅’実生それぞれ100個体を平成22年4月に鉢上げし、ビニルハウス内で栽培している。‘愛紅’は長所として、果肉に繊維が少なく、食味が優れ、大玉果が生産できるが、短所として、果皮色も暗赤色で、果肉が軟化しやすく、収穫終期にはマンゴー臭が強くなる。育成目標としては、このような欠点をなくし、‘アーウィン’と‘愛紅’との中間的な果実特性を有し、市場流通が可能な優良系統を選抜する。

### 2) ドラゴンフルーツに関する研究

担当：文室政彦

今後、消費拡大が期待される赤皮赤肉の優良系統を選抜するために、京都市在住の福岡正行氏より分譲いただいたニカラグア原産の3品種（Rosa, Cebra, Orejona）の実生をポット栽培している。

今後、収量と果実品質を調査し、優良な赤皮赤肉系統を選抜する。

### 3) カキに関する研究

担当：文室政彦

平成18年4月に‘早秋’を土壌容量約30リットルのポットに植栽し、野外条件下で栽培してきたが、炭そ病の発生により枯死樹が多数発生したために、平成22年5月3日にビニルハウスに搬入した。今後、収量および果実品質の年次変化を調査する。

## 2) 生石農場

### (1) 高温下におけるブタ精子の運動性に及ぼすアスタキサンチンの影響

担当：岸 昌生

家畜繁殖分野では、抗酸化作用を持つアスタキサンチン (ASX) を利用した暑熱ストレス軽減効果による胚発生能や精子生存能の改善法について検討されている。すなわち、ASXを添加した培地を用いると、高温下 (40.5℃) で阻害されたウシ体外受精胚の発生が回復すること (行川ら, 2008)、ASXを給与されたブタでは、給与されなかった場合に比べて、射出精子の活力 (精子運動性) が高温下 (40℃) でも長時間高く維持されることが報告されている (山口ら, 2008)。本実験では、ASXが精子の運動性に及ぼす直接的な影響を調べるため、ブタ液状精液にASXを添加して高温下における精子運動率を調べ、暑熱ストレス軽減効果について検討した。

#### 【材料および方法】

##### (精液の準備)

当農場で飼育されているミニブタ (♂, ゲッチングン系) より用手法にて精液を採取し、精液希釈液 (マルベリーIII, 富士農場) を用いて常法にて調製した液状精液を実験に供した (pH 7.0-7.4, 濃度 約5,000個/ml)。さらに、市販のデュロック種液状精液 (富士農場, pH 7.0-7.4, 濃度 3,000~5,000個/ml) も実験に供した。また、液状精液は、採取後2~15日間恒温器内 (温度15℃, IN602, ヤマト科学) で保存した。

##### (アスタキサンチン製剤の調製と液状精液への添加)

本実験では、0.5%含有アスタキサンチン製剤 (以下ASX+) を用いた\*。また、ASX+の組成を一部修正したアスタキサンチン製剤 (以下ASX-) も用いた。さらに、ASX自体を除いた製剤をプラセボー (アスタキサンチン製剤溶媒) として用いた (それぞれ, ASX+P, ASX-P)。アスタキサンチン製剤およびプラセボーをマイクロチューブ (アズワン) に分注した液状精液 (1ml) に添加して濃度調製を行った後、精子運動性を調べた。

\*本研究が企業との共同研究であるため、機密保持上、アスタキサンチン製剤の製品名、企業名については掲載しておりません。御了承下さい。

##### (精子運動性の検査)

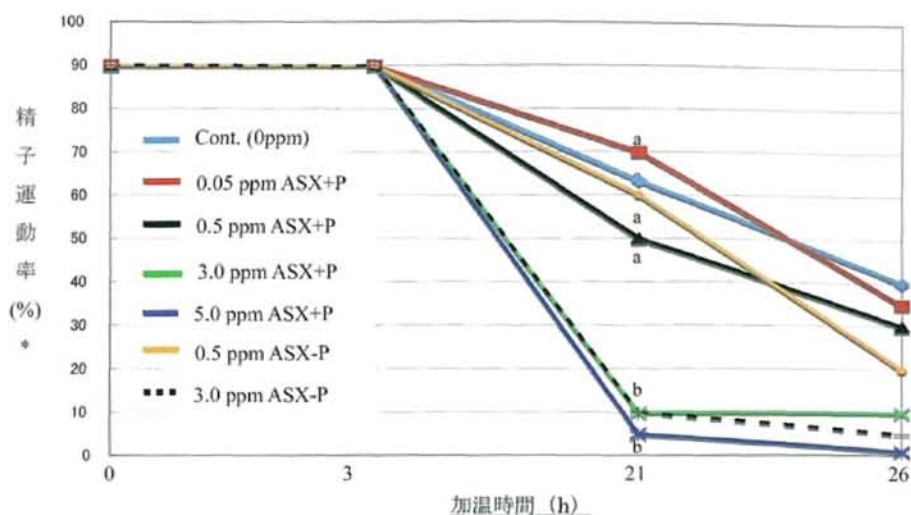
精子運動性 (運動率) は、精子総数に対する運動能3+を示す割合を以て評価した (丹羽, 1989)。すなわち、ASXを含む液状精液を38℃の恒温槽で15分間加温した後、それらの一部 (約10 $\mu$ l) を取り出し、同温度に保温した精液性状検査板 (富士平工業) を用いて室温下 (20-25℃) で1分間以内に、あるいは、精子運動解析装置 (HTM-IVOS, Hamilton Thorne社製, USA) を用いて精子運動性を調べた (加温時間: 0時間区)。さらに、液状精液を最長26時間まで加温し、高温下 (38または41℃) における精子運動性を調べた。

#### 【結果および考察】

##### ・プラセボー添加が38℃下における精子の運動性に及ぼす影響

プラセボーが精子運動性に及ぼす影響について調べた (実験回数3回)。すなわち、0.05-5.0ppmのASX+Pおよび0.5, 3.0ppmのASX-Pをミニブタ液状精液に添加し、38℃で加温した精子の運動率を調べた。その結果、加温時間3時間後における精子運動率は、プラセボーの種類や濃度に拘らず、対照区 (無添加) と同等であった (第1図)。しかし、21時間後における精子運動率は、3.0ppm以上のASX+PおよびASX-Pを添加すると0.5ppm以下に比べて低下した (p<0.05)。したがって、ブタ精液への3.0ppm以上のプラセボーの添加は精子の運動性に何らかの悪影響を及ぼすことが示唆された。





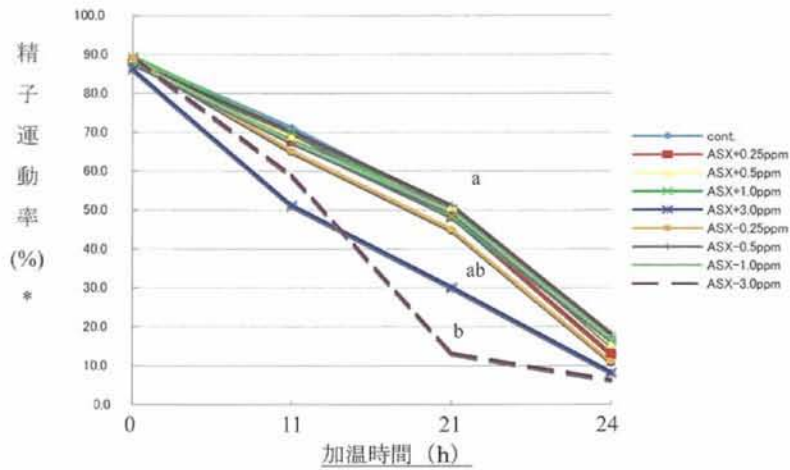
第1図. アスタキサンチン製剤(プラセボー)の添加が38°C下の精子の運動性に及ぼす影響  
 \* 精子運動率は、運動能3+を示す精子の割合を示した。a,b間において有意差あり

・アスタキサンチン製剤が38°Cおよび41°C下の精子の運動性に及ぼす影響

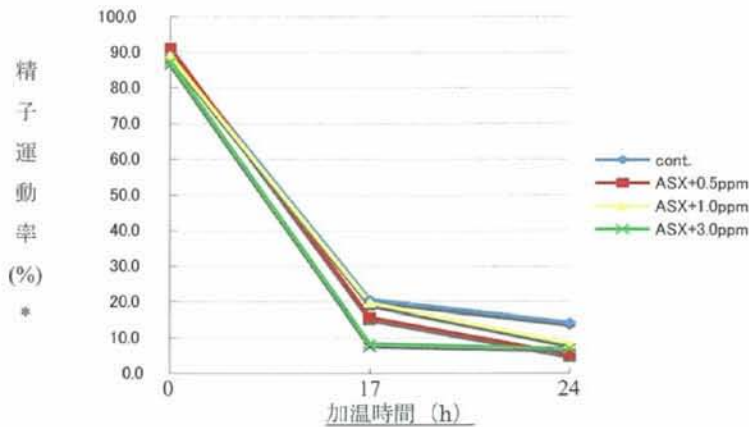
上記の結果より、3.0 ppm以下の濃度でアスタキサンチン製剤 (ASX+およびASX-) を液状精液に添加し、精子運動性を調べた。すなわち、実験1では、採取後5日以内のデュロック種液状精液に0.25, 0.5, 1.0, 3.0ppmのASX+およびASX-を添加して38°C下における精子運動性を24時間まで調べた(実験回数5回)。実験2では、採取後10-15日の精液を用いて、添加濃度0.5, 1.0, 3.0ppmのASX+における精子運動性を同様に調べた(実験回数4回)。さらに、実験3では、採取後5日以内の精液を用いて41°C下における精子運動性に及ぼすASX+ (添加濃度: 0.5, 1.0ppm) の影響を調べた(実験回数3回)。

採取後5日以内の精液にASX+およびASX-を添加し、38°Cで加温した場合(実験1)、精子運動率は対照区(無添加)と同様に加温時間にしたがって低下し(第2図)、添加濃度3.0ppmでは加温時間21時間で他の濃度に比べて精子運動率は低かった。さらに製剤の溶媒の違いによる影響が見られなかったため、実験2以降ではASX+のみを用いて検討した。その結果、実験1と同様にASXの有無に拘らず、精子運動性は低下した(第3図)。また、採取後5日以内の精液(24時間)に比べて短い加温時間(17時間)で同程度(20%以下)まで低下した。この理由としては精液採取後の長期間保存が影響し、精子の生存性自体が低下していたためと考えられた。次に加温温度を高くすることでASXの効果を期待して実験3を行ったが、ASXの有無に拘らず、41°Cで加温しても精子運動率は低下し、さらに38°C加温に比べて短時間(5時間)で低下した(第4図)。

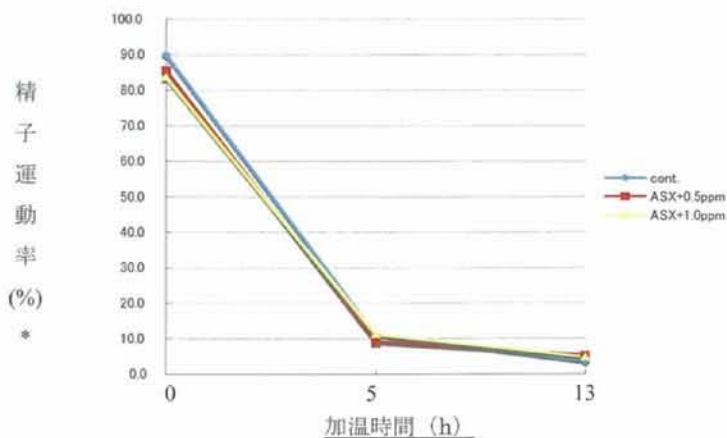
以上の結果より、38°C加温におけるブタ精子の運動性は、アスタキサンチン製剤を液状精液に添加しても、無添加の場合と同様に加温時間に伴って低下し、ASXの直接的な精子暑熱ストレス軽減効果は認められなかった。これは、生存性の低いと思われる精子(採取後10-15日)を用いても、加温温度をより高く(41°C)しても同じであった。さらに、今回用いたアスタキサンチン製剤プラセボーは、液状精液に添加した場合、濃度が高い(3.0ppm以上)と精子運動性に悪影響を及ぼすことが示唆されたことから、精子を処理する溶媒としては不適であると思われる。今後はアスタキサンチン製剤の溶媒について充分検討した後に、アスタキサンチン製剤の運動精子への影響を調べる必要があると考える。



第2図. アスタキサンチン製剤の添加が38°C下の精子の運動性に及ぼす影響  
\* 精液保存期間：採取後5日以内、a,b間において有意差あり



第3図. アスタキサンチン製剤の添加が38°C下の精子の運動性に及ぼす影響  
\* 精液保存期間：採取後10-15日



第4図. アスタキサンチン製剤の添加が41°C下の精子の運動性に及ぼす影響  
\* 精液保存期間：採取後5日以内

## 2. 研究業績

### 1) 学会発表

- (1) 文室政彦・宇都宮直樹・佐々木勝昭・志水恒介. 2010. ポット栽培におけるマンゴー‘愛紅’および‘アーウィン’の収量と果実品質に及ぼす葉果比の影響. 園芸学研究. 9 (別1): 87.
- (2) 文室政彦・高畑正人. 2010. ポット栽培のカキ‘早秋’における摘心および葉果比が収量および果実品質に及ぼす影響. 園芸学研究. 9 (別2): 375.
- (3) 中川正博・志水恒介・神崎真哉・宇都宮直樹. 2010. マンゴーの果肉崩壊症に及ぼす嫌気呼吸活性の影響. 熱帯農業研究. 3 (別1): 45-46.
- (4) 中川正博・志水恒介・神崎真哉・文室政彦・宇都宮直樹. 2010. マンゴーの花成誘導期間中におけるジベレリン代謝関連遺伝子の発現解析. 熱帯農業研究. 3 (別2): 19-20.
- (5) 岩本太作・加藤暢宏・谷口俊仁・松井孝徳・高橋千明・中野達也・庄 隼生・岸 昌生・細井美彦・松本和也・入谷 明・佐伯和弘. 2010. ポリジメチルシロキサンの製マイクロウエルの容積と胚数がウシ胚の初期発生に及ぼす影響. 第112回日本畜産学会大会.
- (6) 岩本太作・加藤暢宏・橋本 周・河上泰之・谷口俊仁・庄 隼生・岸 昌生・細井美彦・松本和也・森本義晴・入谷 明・佐伯和弘. 2010. マイクロウエルプレートを用いたウシ単一胚の個別培養. 第103回日本繁殖生物学会大会.
- (7) 庄 隼生・岩本太作・加藤暢宏・河上泰之・谷口俊仁・岸 昌生・細井美彦・松本和也・入谷 明・佐伯和弘. 2010. シリコン製マイクロウエルの容積と形状がウシ胚の初期発生に及ぼす影響. 第17回日本胚移植研究会大会.

### 2) 学術雑誌

- (1) 上田茂登子・志水恒介・佐々木勝昭・渡辺克美・宇都宮直樹. 2010. マンゴー‘アーウィン’果実の成熟による数種の酵素活性の変化. 近畿大学農学部紀要. 43: 7-14.
- (2) Maeda T., Y. Yonemori, H. Higuchi, M. A. Hossain, M. Fumuro and K. Shimizu. 2010. Effects of temperature on flowering time of Japanese pepper (*Zanthoxylum piperitum* (L.) DC. f. *inermis* Makiko) tree after breaking of dormancy. *Trop. Agr. Develop.* 54: 67-70.
- (3) 伊藤慧・岸 昌生・西村愛美・中川隆生・永井 匡・栗田佳織・入谷 明・安齋政幸. 2010. Wistar系ラット精巣上体尾部精子を用いた冷蔵保存方法の検討. 近畿大学先端技術総合研究所紀要. 15: 17-16.
- (4) Amano T., K. Tokunaga, R. Kakegawa, A. Yanagisawa, A. Takemoto, A. Takemizo, T. Watanabe, Y. Hatanaka, A. Matsushita, M. Kishi, M. Anzai, H. Kato, T. Mitani, S. Kishigami, K. Saeki, Y. Hosoi, A. Iritani, and K. Matsumoto. 2010. Expression analysis of circadian genes in oocytes and preimplantation embryos of cattle and rabbits. *Anim Reprod Sci.* 121: 225-35.

### 3) 商業誌等

- (1) 文室政彦. 2010. マンゴーの品種と栽培. 和歌山の果樹. 6 (5): 12-15. (和歌山県農業協同組合連合会発行)

### 4) 報道機関への発表

- (1) 平成22年7月8日付 読売新聞和歌山版 「近大グルメ」今度はビーフ

- (2)平成22年7月8日付 日本農業新聞 近大育ち黒毛和牛初出荷へ
- (3)平成22年7月9日付 畜産日報 近畿大学が「近大おいし牛」を販売 ブランド化をめざす
- (4)平成22年7月9日 テレビ和歌山 @ あっと！テレわか
- (5)平成22年7月10日付 わかやま新報 最高級「近大おいし牛」
- (6)平成22年7月11日付 朝日新聞和歌山版 近大が育てた牛限定販売始まる
- (7)平成22年7月11日付 産経新聞和歌山版 「近大おいし牛」初出荷
- (8)平成22年7月11日 テレビ和歌山 ニュースライフライン・ライブサンデー
- (9)平成22年7月14日付 毎日新聞和歌山版 黒毛和牛「近大おいし牛」販売
- (10)平成22年8月22日 和歌山放送 ホエール和代のワンダフルわーど
- (11)平成22年9月6日付 日経MJ東京 大学発ビーフ売りこモー
- (12)平成22年12月16日付 読賣新聞和歌山版 近畿大学附属生石農場（わかやま大学譜）

5) その他

- (1)和歌山県有田川町ふるさと開発公社HP掲載 新メニュー・「近大おいし鴨」料理好評提供中！
- (2)畜産の研究. 64(8)掲載. 黒毛和牛初出荷へ（和歌山で100キロ販売近大育ちブランド化に期待）.