

鹿児島大学農学部

# 農場研究報告

第32号

*Bulletin of the Experimental Farm*  
*Faculty of Agriculture, Kagoshima University*  
*No. 32*

鹿児島大学農学部附属農場  
平成22年3月

*Experimental Farm, Faculty of Agriculture*  
*Kagoshima University, March 2010*

## 鹿児島大学農学部農場研究報告

編集委員長

山 本 雅 史

編集委員

下田代 智 英

大久津 昌 治

叶 内 宏 明

遠 城 道 雄

本誌に掲載された著作物を複写したい方は、  
著作権者である本誌編集委員会の許諾を  
受けて下さい。

## 目 次

### 論 文

水稻における根系と地上部のバランスが登熟に及ぼす影響

.....下田代智英・佐々木 修・米山貴子 1

喜界島在来カンキツのリモニン配糖体およびリモニン含量

.....山本雅史・松本亮司・上地義隆・伊地智 告・久保達也・富永茂人 7

家畜・家禽のゲノム DNA 抽出におけるガラスろ紙法の検討

.....工藤美雪・河邊弘太郎・大久津昌治・岡本 新・山口 浩・安江 博  
前田芳實・下桐 猛 13

トウフ粕サイレージの給与がつしま地鶏の飼料利用性ならびに産肉性に及ぼす影響

.....高山耕二・梅木美穂・伊村嘉美・大浦昭寛・松本信助・中西良孝 19

### 資 料

ミクロネシア連邦で栽培される作物とその利用事例

.....遠城道雄 27

### 付 錄

農場研究報告投稿規程..... 31

## Contents

### Articles

|                                                                                                                             |                                                                                                                                  |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Effects of Balance between Root and Top on Ripening in Rice Plants                                                          | Tomohide Shimotashiro, Osamu Sasaki and Takako Yoneyama                                                                          | 1  |
| Contents of Limonin Glucoside and Limonin in Local Citrus Accessions in Kikai-jima Islands of Kagoshima Prefecture, Japan   | Masashi Yamamoto, Ryoji Matsumoto, Yoshitaka Uechi, Tsugero Ijichi, Tatsuya Kubo and Shigeto Tominaga                            | 7  |
| Examination of the Method of Glass Filter Paper in the Genomic DNA Extraction of Domestic Animal/Poultry                    | Miyuki Kudo, Kotaro Kawabe, Shoji Ookutsu, Shin Okamoto, Hiroshi Yamakuchi, Hiroshi Yasue, Yoshizane Maeda and Takeshi Shimogiri | 13 |
| Effect of Feeding Soybean Curd Residue Silages on the Feed Utilization and Meat Productivity of Tsushima Crossbred Chickens | Koji Takayama, Miho Umeki, Yoshimi Imura, Akihiro Ooura, Shinsuke Matsumoto and Yoshitaka Nakanishi                              | 19 |

### Note

|                                                                                |             |    |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------------|----|
| Case of Cultivated Crops and its Utilization in Federated States of Micronesia | Michio Onjo | 27 |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------------|----|

### Appendices

|                            |    |
|----------------------------|----|
| Preparation of Manuscripts | 31 |
|----------------------------|----|

## 水稻における根系と地上部のバランスが登熟に及ぼす影響

下田代智英\*・佐々木修・米山貴子

鹿児島大学農学部作物学研究室 890-0065 鹿児島市郡元

### Effects of Balance between Root and Top on Ripening in Rice Plants.

Tomohide Shimotashiro\*, Osamu Sasaki and Takako Yoneyama

*Laboratory of Crop Science, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890-0065*

#### Summary

Lowering of the function of the root system with high temperature is concerned on the poor ripening in the normal-season cultivation of paddy rice of in south-west warmer place in Japan. Though function of root activity and top has complicated mutual relations, the research analyzed from point of a balance of root system and top is little. Then, the effect of both balance on the function of the root system was examined by making the material of which the quantitative relation between top and root differs by the change in planting number per hill and the use of organic material, and was measuring transpiration and leaf color at ripening stage. The result of this experiment, by the increase of planting number from 3 to 5, the number of panicle increased, and the yield became increasing. Since the increased of planting number increased the top prior, the result was obtained that the weight of leaf and stem/weight of root and all leaves length/weight of root increased. Then, transpiration and nitrate content of the leaf blades lowered by decrease of relative amount of root. It was indicated that low supply of water and nutrition per unit leaf area from root system decreased, and as the result, photosynthetic rate per unit leaf area might be lowered.

**Key Words:** Rice, root, root activity, shoot

**キーワード：**地上部, イネ, 根, 根の活力

#### 緒 言

西南暖地の水稻の普通期栽培の平均収量は全国平均と比較して低い（嵐, 1960）。これは西南暖地特有の気象条件により、栄養生长期の生育は旺盛だが、その後の生殖生长期になると凋落し収量に結びつかないという、いわゆる秋落ち型の生育を示すことによる。こうした収量低下は登熟期の寡照と過繁茂による受光体制の悪化に加えて、高温による登熟不良の影響も大きい。

津野（1976）は、登熟期において根の老化や枯死により吸水能力が衰え、これが高温による光合成能力の低下や、気孔抵抗増大に起因する光合成速度の低下を促進すると報告している。村田（1964）は直接的な影響として高温による同化と呼吸のバランスの悪化があり、間接的なものとして高温にともなう植物体の老化や根の吸水阻害による光合成機能の低下をあげている。さらに、登熟期の日平均気温が高いほど間接的な影響のウェイトが高くなることを指摘している。このように、登熟期における根系機能の低下が登熟とかかわっているとする研究は多い。また、西南暖地においては早い時期から根系の機

能が低下することは古くから指摘されている（植木, 1971）。また、著者らは根系活力の指標となる出液速度を経時的に測定すると、出液速度のピークは出穂期の7～10日前で出穂期には低下過程に入っていること、登熟初期の出液速度が登熟歩合と高い関連性を持つことを報告している（下田代ら, 2007, 2009）。

しかしながら、根系が登熟に及ぼす影響については不明な点が多く残されている。登熟期において穂はシンク、葉はソースとして働き、根は葉の同化機能を支える養水分の供給を担う一方で、葉からの同化産物を消費し、穂とは競合関係にある。加えて、根系の機能は穂への水分供給を通じて、同化産物の取り込みにも影響を及ぼすと考えられる。このように、根系の機能は地上部と複雑な相互関係を持っているが、地上部と根系のバランスという点から解析した研究は少ない。

そこで本実験では、生物資材の施用と植付本数を変化させて、根と地上部の量的関係が異なる材料を作り、登熟期の蒸散量や葉色を計測することにより、根系の機能が収量、登熟に及ぼす影響を検討した。

#### 材料および方法

材料は西南暖地の主力品種であるヒノヒカリを供試し

2009年11月30日 受付日

2010年1月29日 受理日

\* Corresponding author. E-mail: [shimotas@agri.kagoshima-u.ac.jp](mailto:shimotas@agri.kagoshima-u.ac.jp)

た。植付本数を3本とした3本植、5本とした5本植、共生フザリウム菌（商品名ルートゲイン）を施用した生物資材を行い、植付本数を3、5本とした生物資材3本植、生物資材5本植の計4処理を設定した。共生フザリウム菌の作用機作については明確でないものの、水稻根の発達を促す効果があるとされている。本研究では、植付本数を変化させることに加えて、根量を変えるために共生フザリウム菌（生物資材）を施用した。人工培土を充填した育苗トレイに一穴3粒または5粒ずつ播種して3本植付と5本植付の苗を育苗し、生物資材施用処理は育苗期間中に1トレイあたり共生フザリウム菌2.5 gを500 mlの水に溶かして2度散布した。

3週間後、葉齢約3.5となった苗を1/5000 a ワグネルポットに移植し、1ポット1株をとし、各処理12ポットとした。基肥としてN:P:K=0.16:0.20:0.24 g/ポットを施用し、追肥は移植後30日目に全処理にN:K=0.08:0.08 g/ポットを施した。栽培期間中ポットは常時湛水状態を保った。その他の栽培管理は鹿児島県の慣行に準じて行った。

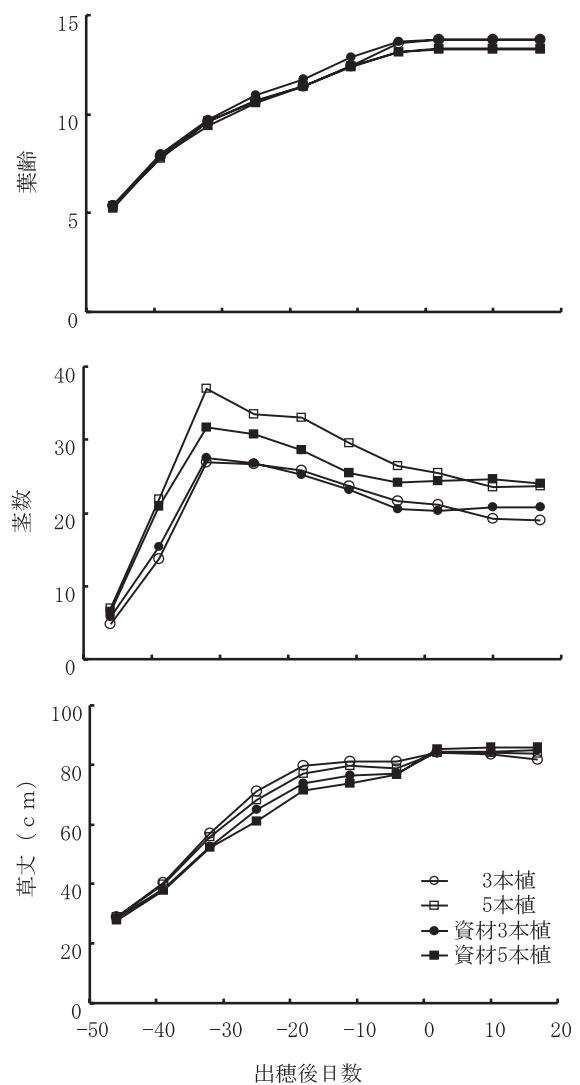
移植後、1週間おきに全ポットについて生育調査を行った。登熟期には平均茎数に近い5ポットについて3時間ごとの蒸散量を重量法で測定した。蒸散量は水稻を移植していない4ポットをブランクとして平均蒸発量を求め、ポットの重量の変化量から平均蒸発量を引いて求めた。葉面積にあたる指標として、株のすべての葉の葉身長を測定し、総葉身長を求めた。SPADメーター（ミノルタ社製 SPAD502）により第1~3葉の葉色を調査した。葉色の測定は止葉を第1葉とした上位3葉について1ポットにそれぞれの葉位につき3枚を測定した。地上部をサンプリングした後70°Cで48時間以上乾燥し、穂、葉身、葉鞘+茎、枯死部に分けて乾物重を測定した。各処理5ポットについて、根系をサンプリングした後、70°Cで48時間以上乾燥させ、根重を測定した。また、収穫期には5株について収量調査を行った。

## 結果

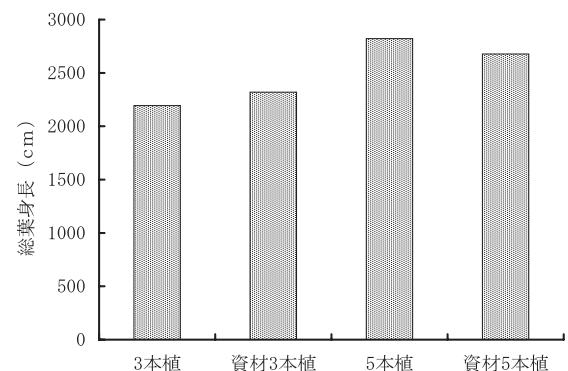
### 1. 生育状況と収量構成要素

草丈は最高分けつ期では3本植=5本植>生物資材3本=生物資材5本植の順位大きくなつたが、出穂期では差はなかった（第1図）。葉齢については各処理間で差は小さかった。一方、茎数は最高分けつ期では5本植>生物資材5本植>3本植=生物資材3本植となつたが、出穂期では5本植=生物資材5本植>3本植=生物資材3本植となつた。

登熟期の部位別乾物重をみると、全乾物重、地上部重は3本植で小さい傾向があった（第1表）。葉身重は5本植>生物資材5本植=3本植>生物資材3本植の順に大きくなつた。一方、根重は生物資材5本植>5本植=生物資材3本植>3本植の順に大きくなつた。地上部と地下部のバランスを見るために、T/R（地上部重/根重）、L/R（葉身重/根重）をみると、T/Rは生物資材5本植で小さく、L/Rは3本植=5本植>生物資材3本植=生物資材



第1図 植付本数ならびに生物資材が生育に及ぼす影響



第2図 植付本数ならびに生物資材が総葉身長に及ぼす影響

5本植となつた。植付本数の増加は相対的に地上部を大きくし、生物資材の施用は相対的に根系の成長を促進する傾向があった。葉身長は5本植>生物資材5本植>生物資材3本植>3本植の順となつた（第2図）。ポットあたり葉身長の総計と総根重さらに地上部地下部のバランスを見るためにLL/R（総葉身長/根重）をみると、5本植>3本植>生物資材3本植>生物資材5本植の順となり、乾物ベースで見たのと同じく、生物資材処理は根量を相対的に大きくすることが明らかになつた（第3図）。

第1表 植付本数ならびに生物資材が部位別乾物重に及ぼす影響

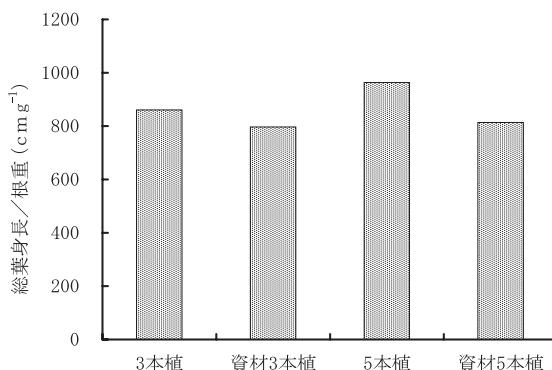
|       | 穂重<br>(g) | 葉身重<br>(g) | 葉鞘+茎重<br>(g) | 枯死部重<br>(g) | 地上部<br>(g) | 根重<br>(g) | T/R        | L/R       | 収穫指数      |
|-------|-----------|------------|--------------|-------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|
| 3本植   | 22.4±2.4  | 6.4±0.7    | 14.1±1.2     | 7.4±0.7     | 50.1±4.4   | 2.55±0.24 | 19.75±0.55 | 2.53±0.13 | 0.44±0.01 |
| 資材3本植 | 25.8±3.0  | 5.7±0.5    | 15.2±1.5     | 9.6±1.0     | 56.3±4.9   | 2.91±0.16 | 19.22±0.78 | 1.96±0.08 | 0.46±0.02 |
| 5本植   | 25.6±2.3  | 7.2±0.5    | 16.9±1.6     | 9.6±0.8     | 59.3±3.9   | 2.93±0.04 | 20.23±1.17 | 2.47±0.16 | 0.43±0.01 |
| 資材5本植 | 27.2±2.5  | 6.1±0.4    | 16.0±1.3     | 9.1±0.6     | 58.5±4.2   | 3.29±0.22 | 17.95±1.21 | 1.91±0.17 | 0.46±0.01 |

数値は平均値±標準誤差 (n=5) を示す

第2表 植付本数ならびに生物資材が収量および収量構成要素に及ぼす影響

|       | 穂数<br>(本/株) | 1穂粒数<br>(粒/穂) | 登熟歩合<br>(%) | 精穀千粒重<br>(g) | 精穀収量<br>(g/株) |
|-------|-------------|---------------|-------------|--------------|---------------|
| 3本植   | 14.8±0.7    | 54.5±2.7      | 81.6±3.2    | 25.9±0.4     | 16.8±0.6      |
| 資材3本植 | 15.8±0.6    | 63.2±2.5      | 84.0±2.7    | 26.5±0.1     | 22.0±0.3      |
| 5本植   | 19.2±0.7    | 55.5±1.4      | 86.8±1.9    | 25.6±0.4     | 23.6±0.8      |
| 資材5本植 | 19.0±1.1    | 55.9±3.2      | 83.4±1.2    | 26.5±0.1     | 23.2±0.8      |

数値は平均値±標準誤差 (n=5) を示す

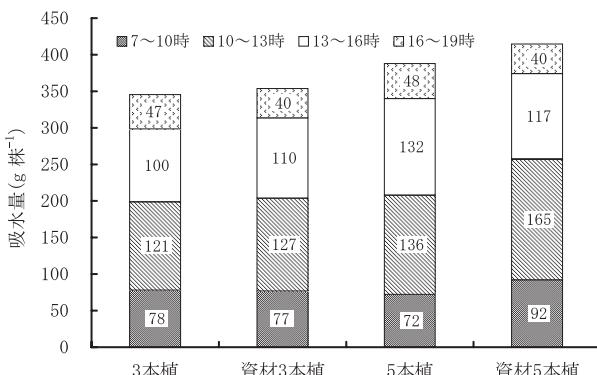


第3図 植付本数ならびに生物資材が総葉身長／根重に及ぼす影響

収量構成要素をみると、穂数は5本植、生物資材5本植が多くなった。一穂粒数は生物資材3本植でのみ増加した。登熟歩合は5本植で高く、3本植で低かった(第2表)。千粒重は変動が大きくなかった。その結果、株あたりの収量は穂数の影響を強く受け3本植で減少した。

## 2. 登熟期の蒸散量の日変化

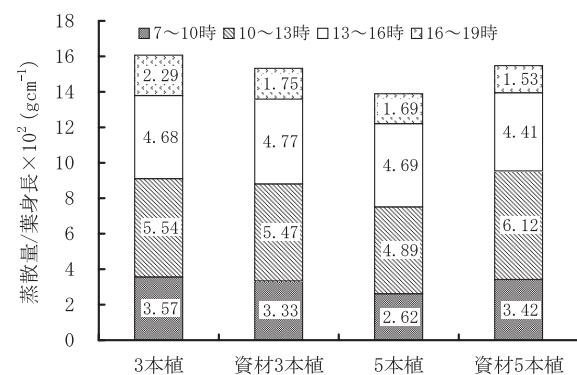
登熟期における株あたりの1日の蒸散量は生物資材5本植>5本植>生物資材3本植>3本植の順に大きくなつた(第4図)。蒸散量の日変化は10~13時が最も大きく、次



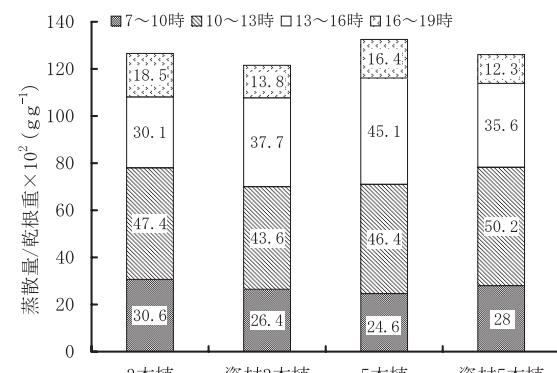
第4図 植付本数ならびに生物資材が登熟期における日蒸散量に及ぼす影響

いで13~16時であった。処理間差異は10~13時で生物資材5本植が大きく、これが日蒸散量の差異の主要因であった。

蒸散量は気孔の閉鎖の影響が小さい場合には葉面積に規定される。本研究では同一個体を収穫まで生育させたため、葉面積の代わりに簡便な葉身長を測定した。葉面積の影響を除くため葉身長あたりの吸水量をみると、生物資材5本植え植え>3本植え>生物資材3本植え植え>5本植えの順で大きくなつた(第5図)。次に根重あたりの蒸散量を求めるとき、3本植えと5本植えで大きく生物資材3本植えと5本植えで小さくなつた(第6図)。



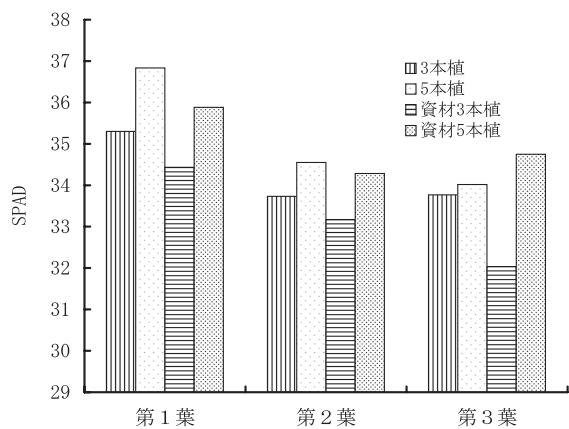
第5図 植付本数ならびに生物資材が登熟期における葉身長あたりの蒸散量に及ぼす影響



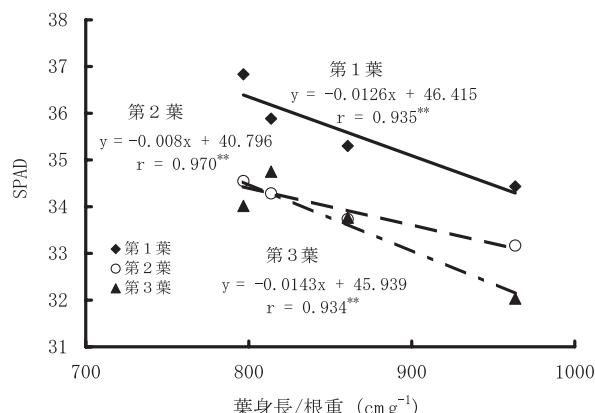
第6図 植付本数ならびに生物資材が登熟期における根重あたりの蒸散量に及ぼす影響

### 3. 葉色

登熟期における葉色を SPAD により評価した (第7図)。3本植で大きく、5本植で小さくなり、また、生物資材の有無では施用により葉色が維持されることが明らかになった。第1, 2葉では生物資材3本植>生物資材5本植>3本植>5本植の順となり、第3葉では生物資材5本植>生物資材3本植>3本植>5本植の順となった。いずれの葉位においても5本植が低く、このことは葉面積あたりの光合成速度が低いことを示唆した。また、SPAD 値と葉身長／根重との間に高い相関関係が認められたことから、葉色の維持には地上部と根系のバランスが関連していることが示唆された (第8図)。



第7図 植付本数ならびに生物資材が登熟期の葉位別 SPAD に及ぼす影響



第8図 植付本数ならびに生物資材が異なる水稻の SPAD と葉身長／根重の関係

### 考 察

#### 1. 植え付け本数の影響が茎葉部と根系の生長ならびに収量に及ぼす影響

植付本数が多いと生育前半の茎数が多くなるが、その茎数の多いことによって分けつの出現が抑制されるとともに茎の生長が小さくなつて茎の生存率 (有効茎歩合) が低下するという報告が多い (中野, 1994)。本研究では最高分けつ期では植付本数による茎数の差異が大きく、登熟期ではその差はやや小さくなつたものの、5本植、生物資材5本植で多くなつた (第1図)。一方、草丈は登

熟期以前では3本植え、生物資材3本植で大きかつたが、登熟期には差が見られなくなった。

収量構成要素をみると、穗数は5本植、生物資材5本植が多くなつた。穗数が減少すると補償作用により一穂粒数が増加する場合があるが、生物資材3本植のみが一穂粒数が多くなつた (第2表)。登熟歩合、千粒重は有意な差が認められなかつた。したがつて、株あたりの収量は穗数の影響を強く受け3本植で最小となつた。中野ら (1994) は、植付本数が7本以上になると、穗数増加の効果は小さくなり、むしろ、一穂粒数、登熟歩合が低下することにより収量が低下したと報告している。一方、本研究では5本植は穗数増加の効果により3本植の収量を上回つた。生物資材3本植では一穂粒数の増加により補償された登熟歩合と千粒重の低下が認められなかつたのは、登熟期には穗数が株20本であり、茎間の競合の程度が小さくなつたためだと考えられる。また、穗重では生物資材5本植と5本植との間に差異が認められたが、収量で差異が認められなかつたのは、遅れ穂を穗重測定に含めた影響であったと思われる。

正常に伸長した冠根数は全茎数との間に高い正の相関関係が認められるという報告がある (片野, 2004)。したがつて、茎数の増加は根量の増加をもたらし、本研究においても3本植より5本植で根重が重くなつた (第1表)。しかし同時に栄養生长期に茎数が増加し、それに伴つて葉数が増加し葉面積が拡大した (第2図)。森ら (1961) は、根の乾物重：地上部乾物重の相対生長係数は出穂期までは一定に保たれるが、その係数は栽培条件や処理によって異なると報告している。本研究では登熟期についてのみ地上部と根系のバランスを検討しており生育中のバランスの変化は見ることができないが、植付本数を増やした場合、茎葉部と根系ともに大きくなるものの、相対的には茎葉部の増加が大きく、茎葉部重／根重、総葉伸長／根重の値は低下するという結果を得た (第1表、第3図)。また、生物資材の施用は相対的に根系を大きくする作用が認められた。すなわち、植え付け本数と生物資材添加によって、根系と地上部のバランスが様々に異なる水稻を育成できた。

#### 2. 根系の機能への影響

平沢ら (1987) は蒸散速度が急激に増加する午前中の早い時刻には吸水速度は蒸散速度よりも小さく、蒸散速度が急激に小さくなる夕刻には吸水速度は蒸散速度を上回つたが、日中の吸水速度と蒸散速度の差は著しく小さいこと、また、根の生理活性を低下させ吸水を抑制しても吸水速度と蒸散速度の差は小さいことを報告している。つまり、このことは吸水が抑制されれば、葉の水ポテンシャルが低下して気孔が閉じ、その割合だけ蒸散が抑えられるということを意味している。以上のことから、湛水状態で栽培した水稻においては、蒸散速度と吸水速度はほぼ等しいと考えてよく、吸水速度が小さければ気孔が閉じる程度は大きくなり、気孔開度と光合成とは密接な関係にあるのでそれだけ光合成は減少することになる。

そこで、本研究では日蒸散量を測定し根系の機能を評価しようとした。一般に個体の蒸散量は気孔の閉鎖の影響が小さい場合には葉面積に比例するが、葉身長あたりの蒸散量をみると、生物資材5本植え植=3本植>生物資材3本植>5本植の順で大きくなり処理間差が認められた(第5図)。また、蒸散量は吸水量とほぼ等しいと考えてよいので、葉面積の影響を除いた葉面積(葉身長)あたりの蒸散量の低下は、根系の吸水不足から生じた気孔の閉鎖の影響だと考えられる。また、根系の蒸散量の処理間差は、根量あたりの蒸散量が処理間で変わらなかつたことから、根系の生理活性よりも根重すなわち、根量の多少が大きく影響したと推測された(第6図)。

葉色は3本植ならびに生物資材3本植で濃く、光合成速度が高く維持されていることが示唆された(第7図)。また、こうした葉色の処理間差異には地上部と根系とのバランスが影響していると考えられた(第8図)。寺島ら(1985)は植付本数の増加に伴って根の直径が小さく、下層に伸長する根が少くなり、葉色も淡くなると報告している。すなわち、3本植えでは、5本植えと比較して、深く伸長する根が多くあることが、葉色に影響している可能性がある。また、植付本数の増加は、登熟期においては上位節での節根の出現数が抑制されるため、老化根が多くなったりする(原田, 1986)など、根系の量的変化のみならず、質的な変化をもたらしている可能性があるが、これらの点に関しては今後の課題としたい。

本研究では3本から5本へと植付本数の増加させることにより、穂数が増加し増収となった。一方で、植付本数の増加は葉面積と根量をともに増加させるが、地上部を優先的に増加させ、T/R, L/Rは減少した。こうした地上部と地下部のバランスの変化から、単位葉面積あたりの根系からの養水分の供給が減少し、蒸散量の低下、葉身窒素含量の低下を招き、その結果として葉面積あたりの光合成速度を低下させる可能性があることが示唆された。従来、葉面積の拡大効果を打ち消す要因としては、光の競合が生じ受光体勢の悪化による光合成速度の低下として説明されてきたが、地上部と地下部のバランスの変化による養水分の吸収の低下による光合成速度の低下も寄与している可能性がある。

## 要 約

西南暖地の水稻の普通期栽培における登熟不良には高温にともなう根系の機能の低下が関与している。根系の機能は地上部と複雑な相互関係を持っているが、地上部と根系のバランスという点から解析した研究は少ない。そこで本実験では、生物資材の施用と植付本数を変化させて、根と地上部の量的関係が異なる材料を作り、登熟

期の蒸散量や葉色を計測することにより、両者のバランスが根系の機能に及ぼす影響を検討した。本実験の結果は、3本から5本へと植付本数の増加させることにより、穂数が増加し増収となった。一方で、植付本数の増加は地上部を優先的に増加させたため、茎葉部重/根重、総葉伸長/根重の値は増加するという結果を得た。このように相対的根量が小さくなることにより、蒸散量、葉身窒素含量が低下した。このことは単位葉面積あたりの根系からの養水分の供給が減少し、その結果として葉面積あたりの光合成速度を低下させる可能性があることを示唆した。

## 引用文献

- 嵐 嘉一. 1960. 水稻の生育と秋落診断. P.8-158. 養賢堂. 東京.
- 原田二郎・前田忠信・山崎耕宇. 1986. 植付本数を異なる水稻1次根の伸長方向別分布. 日作紀. 55 (別1): 62-63.
- 平沢 正・荒木俊光・石原 邦. 1987. 水稻の吸水速度と蒸散速度の相互の関係について. 日作紀. 56: 38-43.
- 片野 學. 2004. 水稻1株の全茎数と冠根数との関係. 日作紀. 73: 6-9.
- 森 敏夫. 1961. 水稻の根と地上部の相対生長. 日作紀. 29: 69-70.
- 村田吉男 1964. わが国の水稻収量の地域性に及ぼす日射と温度の影響について. 日作紀 33: 59-63.
- 中野尚夫・水島嗣雄. 1994. 水稻の一株植付本数の違いが収量構成要素および収量に及ぼす影響. 日作紀. 63: 452-459.
- 寺島一男・平岡博幸・西山岩男. 1985. 一株当たり植付本数の違いが水稻根の形態に及ぼす影響. 日作紀. 54 (別2): 6-7.
- 下田代智英・藤元優子・佐々木修・松元里志. 2007. 西南暖地における普通期作水稻の出液速度と収量構成要素の関係. 鹿大農学術報告. 57: 5-12.
- 下田代智英・五位塚のぞみ・佐々木修・松元里志. 2009. 西南暖地における普通期水稻栽培における根系活力と登熟について. 日作紀. 78:465-470.
- 津野幸人. 1976. わが国耕地における作物の生産力とその向上について－暖地水稻多収穫へのアプローチ－. 日作紀. 45: 489-517.
- 植木健至. 1971. 南九州とくにシラス地帯における水稻生育に及ぼす灌漑水温の影響. 鹿大農学術報告. 21: 28-35.



## 喜界島在来カンキツのリモニン配糖体およびリモニン含量

山本雅史<sup>1\*</sup>・松本亮司<sup>2</sup>・上地義隆<sup>3</sup>・伊地智 告<sup>3</sup>・久保達也<sup>1</sup>・  
富永茂人<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿児島大学農学部果樹園芸学研究室 〒890-0065 鹿児島市郡元

<sup>2</sup>佐賀大学農学部 〒840-8502 佐賀市本庄町

<sup>3</sup>喜界町役場 〒891-6202 鹿児島県大島郡喜界町

### Contents of Limonin Glucoside and Limonin in Local Citrus Accessions in Kikai-jima Islands of Kagoshima Prefecture, Japan

Masashi Yamamoto<sup>1\*</sup>, Ryoji Matsumoto<sup>2</sup>, Yoshitaka Uechi<sup>3</sup>,  
Tsugero Ijichi<sup>3</sup>, Tatsuya Kubo<sup>1</sup> and Shigeto Tominaga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Fruit Science, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890-0065

<sup>2</sup>Faculty of Agriculture, Saga University, Honjo-machi, Saga 840-8502

<sup>3</sup>Town Office of Kikai-Cho, Kikai-cho, Kagoshima 891-6202

#### Summary

Concentrations of limonin glucoside and limonin, one of the phytonutrient components of citrus, in juice of local citrus accessions cultivated in Kikai-jima island of Kagoshima prefecture were studied. The quantification of these components was determined by enzyme immunoassay developed by the authors (Matsumoto et al., 2008). Limonin glucoside is the major component in limonins in all accessions used in this study. The concentration of limonin glucoside in juice of Keraji (*Citrus keraji* hort. ex Tanaka), Kikaimikan (*C. keraji* hort. ex Tanaka), Kunenbo (*C. nobilis* Lour.), Shiikuwasha, (*C. depressa* Hayata), Shiiku (*C. sp*) and Fusuu (*C. rokugatsu* hort. ex Y. Tanaka) which are the major local citrus in Kikai-jima, were almost at the same level as or lower than that of satsuma mandarin (*C. unshiu* Marcow.) and ponkan (*C. reticulata* Blanco), known as the moderate limonin glucoside contents species. On the other hand, the limonin glucoside concentration was high in juice of Kawamine-10, a chance seedling related in *C. depressa*, at approximately 100 ppm.

**Key Words:** Keraji, Kikaimikan, Kunenbo, phytonutrients, Shiikuwasha

キーワード：キカイミカン, 機能性, ケラジ, クネンボ, シイクワーサー

#### 緒 言

筆者らは奄美諸島の在来カンキツをこの地域の特産品として利用することを目指して、奄美大島、加計呂麻島、与路島、請島、喜界島、徳之島、沖永良部島および与論島において遺伝資源調査を行ってきた（山本ら, 2006）。この調査において、喜界島が在来カンキツの栽培が最も盛んであり、これらが現在でも小規模ながら商品として流通していることを知ることができた。

しかしながら、喜界島においても在来カンキツの栽培は減少傾向にあり、さらなる特産化のためには何らかの方策をとる必要があると考えられた。一方、沖縄では、特産のシイクワーサー (*Citrus depressa* Hayata) 果実に

機能性成分のポリメトキシフラボノイドが多く含まれることが報告されて以来（矢野, 2002；吉岡ら, 2001），その生産および消費が急増している（矢野, 2002）。そこで、シイクワーサーの例を参考に、機能性成分によって在来カンキツ果実に付加価値をつけることを考え、これらのポリメトキシフラボノイド含量を測定したところ、喜界島で栽培されるケラジおよびキカイミカンに本成分が高含有されていることを明らかにした（山本ら, 2008）。

カンキツにはポリメトキシフラボノイド以外にも特徴のある機能性成分が存在する。このうち、リモノイドは果樹においてはカンキツ類に特有のトリテルペノイドであり、これらには腫瘍形成抑制作用等の機能性があることが解明されている（Lam ら, 1994；Tian ら, 2001）。主要リモノイドであるリモニンは苦みを呈するが、その配糖体であるリモニン配糖体は無味である。スイートオレンジ等では、果実の成熟に伴ってリモニン配糖体含量

2009年11月27日 受付日

2010年1月29日 受理日

\* Corresponding author. E-mail: yamasa@agri.kagoshima-u.ac.jp

が増加することから (Hasegawa ら, 1991), リモニン配糖体は苦みがない機能性成分として極めて価値が高いと考えられる。

しかし、従来のリモニン配糖体の定量は、前処理が煩雑であったり、分析に長時間を要したり、高価な設備を必要とするなどの問題があった (Brekka・Ibarra, 2007; Herman ら, 1990; Schoch ら, 2001)。筆者らは、その解決のために抗リモニン抗血清 (山本・松本, 1999) 用いた酵素免疫測定 (EIA) 法によるリモニン配糖体の簡便、迅速、高感度である定量法を開発し、それにより多数のカンキツ品種の果汁中リモニン配糖体を測定した (松本ら, 2009)。本研究においてはこの EIA 法を用いて、喜界島における主要な在来カンキツの果汁に含まれるリモニン配糖体およびリモニンを定量したので、その結果を報告する。

## 材料および方法

### 1. 材料

2004年度および2005年度に本研究を実施した。両年度あるいは单年度に喜界島において栽培されているケラジミカン (*Citrus keraji* hort. ex Tanaka), キカイミカン (*C. keraji* hort. ex Tanaka), クネンボ (*C. nobilis* Lour.), シイクワーサー (*C. depressa* Hayata), シークー (*C. sp*) (ダイダイ類縁と考えられるが、来歴は不明である) およびフスー (*C. rokugatsu* hort. ex Y. Tanaka) を供試した。併せて、偶発実生由来と考えられ果実形質に特徴のあるものも供試した。川嶺-10はシイクワーサー類縁と考えられる小果のマンダリンで、極めて高酸であり香酸カンキツとしての利用が考えられる。西目-5は比較的減酸が早く、食味が優れる。蒲生-14は果実がケラジミカンに似るが、高酸である。なお、仮称および果実特性は山本ら (2006) に拠った。

両年度における供試系統は Table 1, 2 の通りである。原則として、1系統につき複数の樹を供試し、それらは異なる地域から選んだ。果実の採取時期は、各系統の利用時期に合わせた。従って、早生のケラジミカンおよびキカイミカンは他よりも早めに調査した。対照には、喜界島で栽培されているウンシュウミカン (*C. unshiu* Marcow.) およびポンカン (*C. reticulata* Blanco) 並びに鹿児島大学農学部附属農場唐湊果樹園 (鹿児島市) で栽培されている喜界島の在来カンキツなどを用いた。平均的な果実を1樹から5~10果採取した。その後、鹿児島大学農学部において果汁を搾汁後、-45℃で保存した。

### 2. リモニン配糖体およびリモニンの分析方法

リモニン配糖体およびリモニンの定量における果汁の前処理は、松本ら (2008) の方法に準拠した。解凍した果汁を遠心分離し、その上清1 mLと塩化メチレン1 mLを試験管に採り振とうし、しばらく静置した後、水層 (上層)を抜き取り、この液をリン酸緩衝液 (PBS-0.5%Tween20, pH7.3) で1,000倍に希釀し EIA に供した

(リモニン配糖体分析用)。また塩化メチレン層 (下層)の入った試験管に蒸留水を適量加え、水層を抜き取り、再度蒸留水を適量加えこの操作を4回繰り返した。最後に水層を完全に抜き取り、残った塩化メチレン層を95℃で10~15分ほど乾熱固化し、1 mLのアセトニトリルを添加して溶解した。これに9 mLのリン酸緩衝液 (PBS-0.5%Tween20, pH7.3) を加え、果汁の10倍液とした。さらにこの溶液をリン酸緩衝液 (PBS-0.5%Tween20, pH7.3) で20倍に希釀し200倍液とし EIA に供した (リモニン分析用)。

EIA には山本・松本 (1999) が作製した抗リモニン抗血清を用い、高感度であるビオチン-アビジンシステムによる間接競合法 (BAS-ICEIA) を実施した (松本ら, 2008)。リモニン-オキシム-オバルブミン (Li-Ox-OVA) またはリモニン配糖体-オバルブミン (LG-OVA) を固相化抗原とした。Li-Ox-OVA (0.2 ppm) またはLG-OVA (1 ppm) 液200 μLを各ウェルに加え、4℃で一夜静置し、固相化した。次に、ブロックエース (雪印乳業) で非特異吸着を防いだ。リモニン配糖体 (LKT Laboratories, Inc, USA), リモニン (アメリカ合衆国農務省果実・野菜研究所、長谷川 信博士から惠贈) の標品あるいはサンプル液と同量の100 μLのビオチン化抗リモニン抗血清 (LG:1 ppm, Li:0.2 ppm) を各ウェルに加え、4℃で一夜競合させた。次に、200 μLのアビジンアルカリ性フォスファターゼコンジュゲート (SIGMA) を加え、室温で180分反応させた。最後に200 μLのパラニトロフェノールリン酸液を各ウェルに添加し、室温で90~150分発色させ、マイクロプレート光度計 (ImmunoMini NJ-2300, NalgeNunc) で405 nm の吸光度を測定した。それぞれの反応の後にマイクロプレートはマイクロプレート・ウォッシャー (マルチウォッシュ II, Tricontinent) を用い、リン酸緩衝液 (PBS-0.5%Tween 20, pH7.3) で洗浄した。

## 結果および考察

2004年度における結果を Table 1 に、2005年度における結果を Table 2 に示した。リモニン含量はいずれにおいても少なく、喜界島における最高は2005年度のケラジミカンの2.88 ppm、最低は2005年度のフスーの0.00 ppmであった。リモニンは6 ppm以上で苦みを感じる (Guagagni, 1973) とされているため、これらの少ないリモニン含量は、消費には好都合であると考えられた。リモニン配糖体含量においては、喜界島で2か年調査した系統では、シイクワーサーにおける2004年度の方が高い傾向にあったが、ケラジミカンおよびキカイミカンでは両年の定量値に大差は認められなかった。各系統における栽培地の別、調査時期の違いもリモニン配糖体含量に大きく影響しなかった。

喜界島における各系統のリモニン配糖体含量は、ケラジミカンではほぼ20~30 ppm、キカイミカンでも例外はあるもののケラジミカン程度、クネンボは10 ppm前後、

Table 1 Limonin glucoside and limonin content of juice in local citrus accession cultivated in Kikai-jima islands and their control accessions (2004-2005).

| Accession              | Latin name                | Place                       | Year                 | Date    | Limonin glucoside (ppm) | Limonin (ppm) |
|------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------|---------|-------------------------|---------------|
| Keraji                 | <i>Citrus keraji</i>      | Nishime, Kikai-jima         | 2004                 | Sep. 17 | 7.21                    | 1.16          |
|                        |                           |                             |                      | Oct. 27 | 29.12                   | 0.82          |
|                        | <i>C. keraji</i>          | Akaren, Kikai-jima          | 2004                 | Sep. 17 | 3.46                    | 0.79          |
|                        |                           |                             |                      | Oct. 27 | 19.25                   | 0.89          |
|                        |                           |                             |                      | Dec. 8  | 34.95                   | 0.35          |
|                        | <i>C. keraji</i>          | Nishime, Kikai-jima         | 2004                 | Sep. 17 | 3.95                    | 0.81          |
|                        |                           |                             |                      | Oct. 27 | 19.86                   | 0.79          |
|                        |                           |                             |                      | Dec. 8  | 11.05                   | 0.05          |
|                        |                           | Akaren, Kikai-jima          | 2004                 | Sep. 17 | 2.93                    | 0.77          |
|                        |                           |                             |                      | Oct. 27 | 38.50                   | 1.04          |
|                        |                           |                             |                      | Dec. 8  | 18.43                   | 0.85          |
|                        |                           | 2005                        | Jan. 21              |         | 24.07                   | 0.52          |
|                        |                           |                             |                      |         |                         |               |
| Shiikuwasha            | <i>C. depressa</i>        | Nishime, Kikai-jima         | 2004                 | Sep. 17 | 9.98                    | 0.88          |
|                        |                           |                             |                      | Oct. 27 | 35.20                   | 0.95          |
|                        |                           |                             | 2005                 | Dec. 8  | 31.67                   | 1.88          |
|                        |                           |                             |                      | Jan. 21 | 33.07                   | 0.26          |
|                        |                           | Kadon, Kikai-jima           | 2004                 | Sep. 17 | 15.09                   | 0.89          |
|                        |                           |                             |                      | Oct. 27 | 20.95                   | 0.64          |
|                        |                           |                             |                      | Dec. 8  | 42.20                   | 2.07          |
|                        | Kawamine-10 <sup>z</sup>  | <i>C. depressa</i> relative | Kawamine, Kikai-jima | 2004    | Oct. 27                 | 90.23         |
|                        |                           |                             |                      |         | Dec. 8                  | 71.72         |
|                        |                           |                             |                      | 2005    | Jan. 21                 | 120.73        |
| Nishime-5 <sup>z</sup> | <i>C. sp</i>              | Mishime, Kikai-jima         | 2004                 | Oct. 27 | 68.08                   | 0.90          |
|                        |                           |                             |                      |         |                         |               |
| Kamo-14 <sup>z</sup>   | <i>C. keraji</i> relative | Kamo, Kikai-jima            | 2004                 | Oct. 27 | 16.59                   | 0.47          |
| <hr/>                  |                           |                             |                      |         |                         |               |
| Control                | <i>C. reticulata</i>      | Ikeji, Kikai-jima           | 2004                 | Dec. 8  | 64.96                   | 2.70          |
|                        |                           |                             |                      |         |                         |               |
| Sasshu                 | <i>C. keraji</i>          | Kagoshima <sup>y</sup>      | 2004                 | Oct. 27 | 10.08                   | 0.95          |
|                        |                           |                             |                      | Dec. 8  | 26.93                   | 0.98          |
| Keraji                 | <i>C. keraji</i>          | Kagoshima <sup>y</sup>      | 2004                 | Oct. 27 | 5.58                    | 0.46          |
|                        |                           |                             |                      | Dec. 8  | 13.31                   | 0.03          |
| Kikaimikan             | <i>C. keraji</i>          | Kagoshima <sup>y</sup>      | 2004                 | Oct. 27 | 18.07                   | 0.90          |
|                        |                           |                             |                      | Dec. 8  | 18.90                   | 1.07          |
|                        |                           |                             |                      | 2005    | Jan. 21                 | 21.91         |
| Shiikuwasha            | <i>C. depressa</i>        | Kagoshima <sup>y</sup>      | 2004                 | Oct. 27 | 104.69                  | 1.00          |
|                        |                           |                             |                      | Dec. 8  |                         |               |
| Okitsu wase            | <i>C. unshiu</i>          | Kagoshima <sup>y</sup>      | 2004                 | Oct. 27 | 25.38                   | 1.54          |
| Yoshida ponkan         | <i>C. reticulata</i>      | Kagoshima <sup>y</sup>      | 2004                 | Dec. 8  |                         |               |
|                        |                           |                             |                      |         |                         |               |

<sup>z</sup> Tentative name.<sup>y</sup> Toso Orchard of Faculty of Agriculture, Kagoshima University.

Table 2 Limonin glucoside and limonin content of juice in local citrus accession cultivated in Kikai-jima islands and their control accessions (2005-2006).

| Accession      | Latin name           | Place                  | Year | Date    | Limonin glucoside (ppm) | Limonin (ppm) |
|----------------|----------------------|------------------------|------|---------|-------------------------|---------------|
| Keraji         | <i>Citrus keraji</i> | Akaren, Kikai-jima     | 2005 | Oct. 18 | 32.68                   | 2.88          |
|                |                      | Keraji, Kikai-jima     | 2005 | Oct. 18 | 21.46                   | 2.20          |
| Kikaimikan     | <i>C. keraji</i>     | Akaren, Kikai-jima     | 2005 | Oct. 18 | 37.79                   | 1.71          |
|                |                      | Aden, Kikai-jima       | 2005 | Oct. 18 | 4.70                    | 0.57          |
|                |                      | Kawamine, Kikai-jima   | 2005 | Oct. 18 | 28.40                   | 1.32          |
| Kunenbo        | <i>C. nobilis</i>    | Aden, Kikai-jima       | 2006 | Jan. 17 | 14.60                   | 1.30          |
|                |                      | Kawamine, Kikai-jima   | 2006 | Jan. 17 | 5.10                    | 0.10          |
| Shiikuwasha    | <i>C. depressa</i>   | Urahara, Kikai-jima    | 2005 | Dec. 8  | 10.90                   | 2.70          |
|                |                      |                        | 2006 | Jan. 17 | 18.10                   | 1.70          |
|                |                      | Kawamine, Kikai-jima   | 2005 | Dec. 8  | 13.00                   | 0.90          |
|                |                      |                        | 2006 | Jan. 17 | 16.90                   | 0.10          |
|                |                      | Nishime, Kikai-jima    | 2005 | Dec. 8  | 12.50                   | 2.00          |
|                |                      |                        |      | Jan. 17 | 13.50                   | 0.40          |
| Shiiku         | <i>C. sp</i>         | Aden, Kika-jima        | 2006 | Jan. 17 | 10.60                   | 0.60          |
|                |                      |                        |      | Feb. 17 | 27.40                   | 0.90          |
|                |                      | Isaneku, Kikai-jima    | 2006 | Jan. 17 | 12.00                   | 1.50          |
|                |                      |                        |      | Feb. 17 | 31.20                   | 1.70          |
|                |                      | Kawamine, Kikai-jima   | 2006 | Jan. 17 | 20.80                   | 0.60          |
|                |                      |                        |      | Feb. 17 | 35.00                   | 1.00          |
| Fusuu          | <i>C. rokugatsu</i>  | Akaren, Kikai-jima     | 2006 | Jan. 17 | 0.00                    | 0.80          |
|                |                      |                        |      | Feb. 17 | 6.80                    | 0.20          |
|                |                      | Urahara, Kikai-jima    | 2006 | Jan. 17 | 10.60                   | 0.90          |
|                |                      |                        |      | Feb. 17 | 10.60                   | 0.10          |
|                |                      | Kawamine, Kikai-jima   | 2006 | Jan. 17 | 6.70                    | 0.30          |
|                |                      |                        |      | Feb. 17 | 7.10                    | 0.00          |
| Control        |                      |                        |      |         |                         |               |
| Kagoshima wase | <i>C. unshiu</i>     | Nakazato, Kikai-jima   | 2005 | Oct. 18 | 12.90                   | 2.44          |
| Sasshu         | <i>C. reticulata</i> | Ikeji, Kikai-jima      | 2006 | Jan. 17 | 31.30                   | 1.90          |
| Kikaimikan     | <i>C. keraji</i>     | Kagoshima <sup>z</sup> | 2005 | Oct. 19 | 19.80                   | 1.13          |
| Shiikuwasha    | <i>C. depressa</i>   | Kagoshima <sup>z</sup> | 2005 | Dec. 13 | 12.70                   | 0.90          |
| Shiiku         | <i>C. sp</i>         | Kagoshima <sup>z</sup> | 2006 | Jan. 24 | 0.20                    | 0.10          |
| Fusuu          | <i>C. rokugatsu</i>  | Kagoshima <sup>z</sup> | 2006 | Jan. 24 | 3.70                    | 0.20          |
|                |                      |                        |      | Feb. 20 | 9.60                    | 2.00          |
| Juman unshiu   | <i>C. unshiu</i>     | Kagoshima <sup>z</sup> | 2004 | Oct. 27 | 39.70                   | 3.68          |

<sup>z</sup> Toso Orchard of Faculty of Agriculture, Kagoshima University.

シークーもケラジミカン程度、フスーは約10 ppm 以下であった。シイクワーサーでは2004年度にはほぼ30 ppm 強、2005年度に20 ppm 以下となった。偶発実生由来の川嶺-10は約100 ppm、西目-5は約70 ppm、蒲生-14は約17 ppm であった。鹿児島で栽培した果実においても、ほとんどは同一系統では喜界島のものとほぼ同じ値を示したが、フスーは鹿児島産果実のリモニン配糖体含量が少なかった。また、ウンシュウミカンおよびポンカンでは2005年度の喜界島産‘かごしま早生’のリモニン配糖体含量が12.9 ppm であったことを除くと約25~100 ppm であった (Table 1, 2)。

松本ら (2008) は、我が国で生産した主要カンキツ100品種以上のリモニン配糖体およびリモニン含量について報告している。その結果によると、ブンタン類を除いて、総リモニン含量（リモニン配糖体とリモニン含量の合計）の90%以上がリモニン配糖体である。同様に、本研究においてもリモニン含量はリモニン配糖体含量と比較すると非常に少なかった。さらに松本ら (2008) は、リモニン配糖体を100 ppm 以上含有する品種が多数存在し、中には300 ppm 以上にもなる品種があることを明らかにしている。本研究の対照として用いたウンシュウミカンおよびポンカンのリモニン配糖体含量には品種間差異が認められるものの、多様な品種の中ではほぼ中位のリモニン配糖体含量を示す。

本研究でウンシュウミカンおよびポンカンよりも明らかにリモニン配糖体含量が多かったのは川嶺-10のみであった。他はこれらと同等もしくはこれらよりもリモニン配糖体含量が少なかった。クネンボ、キカイミカンと同種であるカブチーおよびシイクワーサー数系統のリモニン配糖体含量は既に報告され、これらは多様なカンキツ類の中ではリモニン配糖体含量が少ないグループに属す (松本ら, 2008)。これらと本研究におけるクネンボ、キカイミカンおよびシイクワーサーの結果を比較するとほぼ同じ値であった。これらのことから、ケラジミカンおよびキカイミカンなど喜界島の主要な在来カンキツで、現在の主要種であるウンシュウミカンおよびポンカンよりもリモニン配糖体含量の面から優れているものは見出せなかった。しかし、川嶺-10のみは約100 ppm と高いリモニン配糖体含量を示した。川嶺-10はシイクワーサータイプのマンダリンである。本研究および松本ら (2008) の結果から、シイクワーサーはリモニン配糖体含量が少ない。川嶺-10はシイクワーサーのその欠点を克服する新たな遺伝資源として注目する価値があるかもしれない。

前報 (山本ら, 2008) のポリメトキシフラボノイド含量においては、同系統の場合、喜界島で生産された果実が鹿児島市で生産されたものより高い値を示した。一方、リモニン配糖体含量ではフスーで喜界島産果実が鹿児島産よりも高かったことを除いては、そのような傾向は認められなかった。しかし、喜界島においても栽培地、採取時期の違いによってリモニン配糖体含量には変動が認められた。スイートオレンジのようにリモニン配糖体の

多いものでは、これは果実成熟に伴って増加するとされているが (Hasegawa ら, 1991), リモニン配糖体含量に影響する栽培・環境条件については不明であるので、その点についての検討が必要である。本研究で用いたEIA法は迅速・簡便で正確な定量が可能である (松本ら, 2008), その際には有効な分析法となるものと考えられる。

以上、本研究の結果、喜界島における主要な在来カンキツは、特段リモニン配糖体が多くなく、本機能性成分については特徴が乏しいことが判明した。しかし、川嶺-10のように本成分を高含有する系統が存在することは明らかにできた。さらに、喜界島以外の奄美諸島にも多数の固有の在来カンキツが存在する (山本ら, 2006), 今後はそれらの機能性成分の解明にも着手する必要がある。

## 要 約

鹿児島県喜界島で栽培されている在来カンキツについて、果汁に含まれる機能性成分であるリモニン配糖体およびリモニン含量を測定した。これら成分の定量においては、筆者らが開発した (松本ら, 2008) 酵素免疫測定法を用いた。いずれの系統でも、果汁中の主要なリモニン類はリモニン配糖体であった。喜界島で栽培の多い在来カンキツであるケラジミカン (*Citrus keraji* hort. ex Tanaka), キカイミカン (*C. keraji* hort. ex Tanaka), クネンボ (*C. nobilis* Lour.), シイクワーサー (*C. depressa* Hayata), シークー (*C. sp*) およびフスー (*C. rokugatsu* hort. ex Y. Tanaka) のリモニン配糖体は、これを中程度に含有することが知られているウンシュウミカンおよびポンカンと同程度、あるいは少なかった。一方、シイクワーサー類縁の偶発実生である川嶺-10のリモニン配糖体含量は約100 ppm と多かった。

## 引用文献

- Breksa, A. P. and P. Ibarra. 2007. Colorimetric method for the estimation of total limonoid aglycones and glucoside contents in citrus juices. *J. Agric. Food Chem.* 55: 5013-5017.
- Guadagni, D. G., V. P. Maier and J. G. Turnbaugh. 1973. Effect of some citrus juice constituents on taste thresholds for limonin and naringin bitterness. *J. Sci. Food Agric.* 24: 1277-1288.
- Hasegawa, S., P. Ou, C. H. Fong, Z. Herman, C. W. Coggins, Jr. and D. R. Atkin. 1991. Changes in the limonoate A-ring lactone and limonin 17- $\beta$ -D-glucopyranoside content of navel oranges during fruit growth and maturation. *J. Agric. Food Chem.* 39: 262-265.
- Herman, Z., C. H. Fong, P. Ou and S. Hasagawa. 1990. Limonoid glucosides in orange juice by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1860-1861.

- Lam, L. K. T., J. Zhang and S. Hasegawa. 1994. Citrus limonoid reduction of chemically-induced tumorigenesis. *Food. Technol.* 48: 104-108.
- 松本亮司・池松大亮・吉岡照高・山本雅史. 2008. 抗リモニン抗血清を用いた酵素免疫測定法によるカンキツの機能性成分、リモニン配糖体の定量. 園学研. 7: 481-489.
- Schoch, T. K., G. D. Manners and S. Hasegawa. 2001. Analysis of limonoid glucosides from *Citrus* by electrospray ionization liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1102-1108.
- Tian Q. G., E. G. Miller, H. Ahmad, L. L. Tang and B. S. Patil. 2001. Differential inhibition of human cancer cell proliferation by citrus limonoids. *Nutr. Cancer International J.* 40: 180-184.
- 山本雅史・松本亮司. 1999. 酵素免疫測定法によるカンキツ果汁及び新梢中のリモニンの定量. 果樹試報. 33: 113-125.
- 山本雅史・松本亮司・上地義隆・伊地智 告・久保達也・富永茂人. 2008. 喜界島における在来カンキツのポリメトキシフラボノイド含量. 鹿大農学術報告. 58: 1-7.
- 山本雅史・松島健一・伊地智 告・上地義隆・川口昭二・中野八伯・野村哲也・谷村音樹・久保達也・富永茂人. 2006. 奄美諸島における在来カンキツ遺伝資源の調査とその保存. 鹿大農場研報. 29: 5-11.
- 矢野昌充. 2002. 沖縄産カンキツ（シイクワシャー）の健康維持・増進効果. 農業技術. 57: 30-33.
- 吉岡照高・比嘉 淳・新崎正雄・松本亮司. 2001. シイクワシャー系統の果皮および果汁中のポリメトキシフラボン含量. 園学九研集, 9: 5.

## 家畜・家禽のゲノム DNA 抽出におけるガラスろ紙法の検討

工藤美雪<sup>1</sup>・河邊弘太郎<sup>2</sup>・大久津昌治<sup>3</sup>・岡本 新<sup>1</sup>・山口 浩<sup>4</sup>・  
安江 博<sup>5</sup>・前田芳實<sup>1</sup>・下桐 猛<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>鹿児島大学農学部家畜育種学研究室 890-0065 鹿児島市郡元

<sup>2</sup>鹿児島大学フロンティアサイエンス研究推進センター 890-0065 鹿児島市郡元

<sup>3</sup>鹿児島大学農学部家畜繁殖学研究室 890-0065 鹿児島市郡元

<sup>4</sup>鹿児島大学農学部附属農場入来牧場 895-1402 薩摩川内市入来町

<sup>5</sup>農業生物資源研究所ゲノム研究ユニット 305-0901 つくば市池の台

### Examination of the Method of Glass Filter Paper in the Genomic DNA Extraction of Domestic Animal / Poultry

Miyuki Kudo<sup>1</sup>, Kotaro Kawabe<sup>2</sup>, Shoji Ookutsu<sup>3</sup>, Shin Okamoto<sup>1</sup>, Hiroshi Yamakuchi<sup>4</sup>,  
Hiroshi Yasue<sup>5</sup>, Yoshizane Maeda<sup>1</sup>, Takeshi Shimogiri<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Animal Breeding and Genetics, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890-0065

<sup>2</sup> Frontier Science Research Center, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890-0065

<sup>3</sup> Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890-0065

<sup>4</sup> Iriki Livestock Farm, Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Iriki, Satsumasendai 895-1402

<sup>5</sup> Animal Genome Research Unit, National Institute of Agrobiological Sciences, Ikenodai, Tsukuba 305-0901

#### Summary

In this study, to develop a cost-effective and rapid genomic DNA purification method in animals and birds, we examined the DNA purification method using glass fiber filter proven in plant genomics. Four or eight blood cell samples from each of cattle and chickens were used for the purification. The purification method was basically the same as that described previously (Muramoto et al. 2005). Several points were tested in this method for recovering DNA efficiently, revealing the following: 1) One  $\mu$ g of genomic DNA was purified from the chicken blood cell samples diluted 50-200 times. It could be used for  $\sim$ 5kb PCR amplification. Genomic DNA from the chicken blood cell samples diluted 1-10 times could not be used for PCR amplification. In cattle, genomic DNA was purified from the blood cell samples diluted 1-200 times. It could be used for 0.8kb PCR amplification. 2) Concerning concentration of sodium sulfite in sample storage, 10% was acceptable. 3) Drying the filter with the blood cells before purifying improved DNA yield. 4) Conversion from sodium sulfite to vitamin C failed to obtain the genomic DNA from the samples. 5) When the filter with the blood cells was stored for four weeks at room temperature, genomic DNA was purified. We purified the genomic DNAs using this method for 10 yen/sample and from 16 samples at 1 hour. These results suggest that this method is a cost-effective and rapid genomic DNA purification method in animals and birds.

**Key Words:** blood cells, cost-effective, genomic DNA purification, glass fiber filter

キーワード：安価，ガラス繊維ろ紙，ゲノム DNA 抽出，血球

#### 緒 言

近年、家畜や家禽においてもゲノム解析が進展し、マイクロサテライトや一塩基多型 (SNPs) などの DNA 多型マーカー情報が集積され、個体識別や品種識別などが実用化されている<sup>3)</sup>。また、家畜や家禽の経済的に重要

2009年11月30日 受付日

2009年12月24日 受理日

\* Corresponding author. E-mail: simogiri@agri.kagoshima-u.ac.jp

な形質と関連する DNA 多型マークーが単離され、育種選抜において実用化されつつある<sup>1)</sup>。これらの実験を高精度に行うためには、多検体からのゲノム DNA 抽出が必須である。それゆえ、ゲノム DNA の抽出法には安価・迅速・高純度に精製できる手法がよいと考えられる。植物で確立されたガラス纖維ろ紙法<sup>2)</sup>は、DNA が二酸化ケイ素 (SiO<sub>2</sub>) を主成分とする担体に結合しやすいという性質を利用したゲノム DNA 抽出法である。この方法では、3段階の処理によってポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) に用いるに充分量のゲノム DNA を30分間以内で単離することができる。また、1サンプルあたりに用いる遠心チューブも1本でよいため、試薬等も合わせたコストは1サンプルあたり10円未満である。さらに、抽出したDNA は10 kbp 以上の LA-PCR にも用いることができ、ガラス纖維ろ紙に組織液を吸着させ、室温乾燥状態で1ヶ月放置した後、DNA 抽出操作を行ったサンプルでも同領域を増幅できることが報告されている<sup>2)</sup>。

そこで、本研究では、ガラスろ紙法を家畜や家禽のゲノム DNA 抽出に応用するために、いくつかの条件検討を試みたので報告する。

### 材料および方法

#### 1. 供試材料

材料には、ニワトリとウシの血球を各4または8サンプル供試した。血球は原液と生理食塩水で10倍・50倍・100倍・150倍・200倍に希釈し、ゲノム DNA の抽出を行った。

#### 2. ガラス纖維ろ紙によるゲノム DNA の抽出

ガラス纖維ろ紙には、ワットマン社製の Glass Microfibre Filters GF/C を用いた。まず、抗酸化物質を含む抗酸化溶液（基本組成：20 mM トリス塩酸 (pH8.0)・2 mM EDTA・1~20%抗酸化物質）にガラス纖維ろ紙を浸潤し、乾燥させた後、5 mm 角に裁断した。裁断したろ紙に血球サンプルを吸着させ、エッペンドルフチューブに移した。サンプル吸着後のろ紙はゲノム抽出に使用した。なお、ここでろ紙を乾燥させ保存した。

サンプル吸着後のろ紙に以下の3段階の処理、すなわち (1) カオトロピック塩（蛋白質などの分子構造を不安定化する性質を持つ）を含む固定液による処理、(2) アルコールを含む高塩濃度の洗浄液による処理、(3) TE 緩衝液によるゲノム DNA の溶出処理を行った。各処理液の基本組成は、固定液：100 mM トリス塩酸 (pH 8.0)・10 mM EDTA-2Na・7M グアニジン塩酸、洗浄液：50 mM トリス塩酸 (pH8.0)・5 mM EDTA-2Na・200 mM 塩化ナトリウム・60%エタノール、TE 緩衝液：10 mM トリス塩酸 (pH8.0)・1 mM EDTA-2Na であった。

具体的には、サンプル吸着後のろ紙の入ったチューブに固定液を200  $\mu$ l 加えて軽く混和し、室温で5分間静置した。その後、15,000 rpm で10秒間遠心し、上清を捨てた。チューブに洗浄液を200  $\mu$ l 加えて軽く混和後、

15,000 rpm で10秒間遠心し、上清を捨て、ろ紙を洗浄した。洗浄処理はもう一度繰り返した。さらに、70%エタノールを200  $\mu$ l 加えて軽く混和し、15,000 rpm で10秒間遠心し、上清を捨て、ろ紙を洗浄した。また、ろ紙に不純物が付着していれば、洗浄処理をもう一度繰り返した。洗浄処理後、ろ紙を室温で乾燥させ、TE 緩衝液100  $\mu$ l でゲノム DNA を溶出させた。最後に、15,000 rpm で5分間遠心し、得られる溶液を PCR 反応の錆型 DNA 溶液として用いた。なお、すべての処理は室温にて行い、調整された DNA サンプルを4°C で保存した。

#### 3. 検討項目

今回のガラス纖維ろ紙法について検討した項目は以下のとおりである。① 吸着させる血球サンプルの希釈倍率、② 抗酸化物質である亜硫酸 Na の濃度、③ サンプル吸着後のろ紙の乾燥処理の有無、④ 抗酸化物質として、亜硫酸 Na とビタミン C の検討、⑤ サンプル吸着後のろ紙の保存期間、の5項目であった。

#### 4. ゲノム抽出の確認

抽出されたゲノム DNA は、PCR 増幅により性能確認を行った。

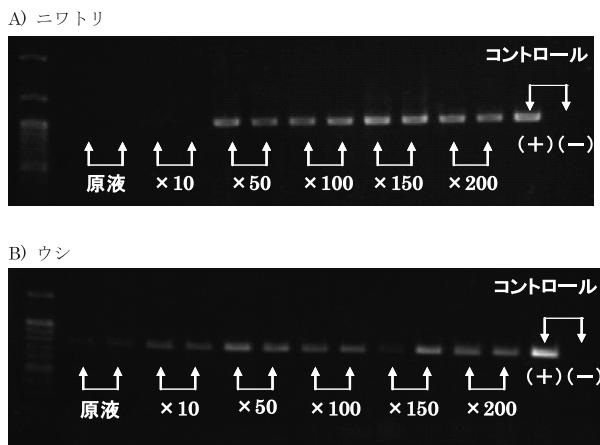
PCR には、AmpliTaq Gold<sup>®</sup> PCR Master Mix (Applied Biosystems) を用い、定法に従って行った。用いたプライマーは、ニワトリでは第1染色体の SNP (rs15975079) を含む1,030 bp 領域を増幅する M26\_F (5'-GTGCAATC AGTGTGGTTTG-3') と M26\_R (5'-TCATGAAGGGG CTTCTCATT-3') を用いた。他方、ウシは、チロシナーゼ関連遺伝子である TYRP2 遺伝子の795 bp 領域を増幅する bTYR\_F (5'-GCTCCATTAAACCAGCTCAGG-3') と bTYR\_R (5'-TCATCTGTGCAAACGTCACA-3') を用いた。

さらに、ニワトリから抽出されたゲノム DNA では、LA-PCR も試みた。LA-PCR には、Ex Taq (TAKARA BIO INC) を用い、定法に従って行った。用いたプライマーは、CPS1 遺伝子内の4,474 bp 領域を増幅する CPS1-P13F (5'-GAAGCCTTGACAGACCCAGCTACAAAG-3') と CPS1-P18R (5'-ACCCACAGTCAACTGCTACAC TTTAAC-3')、および OTC 遺伝子内の5,370 bp 領域を増幅する OTC3F (5'-GCCATGATT TTGAGAAGAG AA GCACAAAGA AC-3') と OTC3R (5'-AATGTCTTGT TTT GTAAGGA AGGAAGAATG TC-3') を用いた。PCR 反応後の溶液はアガロースゲル電気泳動で解析し、増幅産物の有無を確認した。

### 結果および考察

#### 1. 吸着させる血球の希釈倍率

ニワトリとウシの血球を原液と生理食塩水で10倍・50倍・100倍・150倍・200倍に希釈し、ゲノム DNA の抽出を行った。なお、各区4サンプルで実施した。抽出したDNA の濃度を測定した結果、すべての希釈倍率でゲ



第1図 血球の希釈倍率による PCR 増幅の影響 (A : ニワトリ, B : ウシ)

各希釈倍率で抽出したゲノム DNA から PCR 増幅し, A) ニワトリで1030 bp の, B) ウシでは795 bp の PCR 産物を2%アガロースゲル電気泳動により確認した。なお、コントロールとして、フェノール法で抽出したゲノム DNA (+)と滅菌蒸留水 (-)を用いた。A) ニワトリでは50~200倍希釈で PCR 産物を確認できたが、原液と10倍希釈では確認できなかった。B) ウシではすべての希釈倍率で PCR 産物を確認できた。

第1表 血球サンプルの希釈倍率によるゲノム DNA 抽出量

| 希釈倍率 | DNA 量 ( $\mu\text{g}$ ) <sup>1</sup> |             |
|------|--------------------------------------|-------------|
|      | ニワトリ                                 | ウシ          |
| ×1   | 7.58 ± 1.42                          | 7.79 ± 1.99 |
| ×10  | 2.50 ± 0.77                          | 1.50 ± 0.05 |
| ×50  | 1.51 ± 0.14                          | 0.75 ± 0.03 |
| ×100 | 0.98 ± 0.10                          | 0.73 ± 0.06 |
| ×150 | 0.91 ± 0.02                          | 0.83 ± 0.07 |
| ×200 | 1.28 ± 0.17                          | 0.88 ± 0.33 |

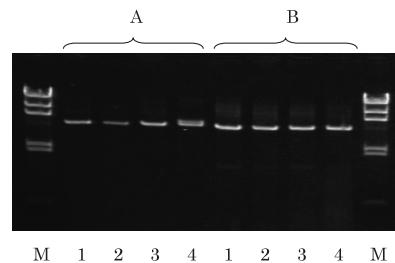
<sup>1</sup> 平均 ± 標準偏差

ノム DNA が得られ、その量は原液が最も多く、50~200倍希釈で 1  $\mu\text{g}$  程の DNA が抽出可能であった(表1)。

得られたゲノム DNA を鋳型として用いて PCR を行なった結果、ニワトリでは50~200倍希釈で1 kb の PCR 産物が確認され、原液・10倍希釈では PCR 産物が確認できなかった(図1A)。これは、タンパク質などの不純物が PCR 反応を阻害したのではないかと考えられた。他方、ウシではすべての希釈倍率で PCR 産物を確認することができた(図1B)。また、ニワトリ血球100倍希釈から得られたゲノム DNA を用いて LA-PCR を行ない、4,474 bp 領域および5,370 bp 領域を増幅することができた(図2)。以上の結果から、ろ紙を利用したゲノム DNA 抽出法が家畜・家禽の血球においても有効であり、その希釈倍率が、ニワトリで50~200倍、ウシで1~200倍で利用可能であることが示された。

## 2. 抗酸化物質としての亜硫酸 Na の濃度

血球を吸着させたろ紙を長期保存するために加える抗酸化物質である亜硫酸 Na の濃度を1・5・10・20%の4区用意し、抽出 DNA 量の変化と PCR 増幅産物の有無を確認した。サンプルはニワトリ血球の100倍希釈液を



第2図 ガラスろ紙法により抽出したニワトリゲノム DNA を用いた LA-PCR 増幅の結果 (A : 5,370 bp 領域, B : 4,474 bp 領域)

ニワトリ血球100倍希釈を吸着させたろ紙から抽出したゲノム DNA (4サンプル: 1~4) を LA-PCR により増幅し、A) OTC 遺伝子内の5,370 bp 領域、B) CPS1遺伝子内の4,474 bp 領域の PCR 産物を1%アガロースゲル電気泳動により確認した。Mは分子量マーカーである。その結果、A) B) ともに PCR 産物を確認できた。

第2表 亜硫酸 Na 濃度によるゲノム DNA 抽出量の変化

| 亜硫酸 Na 濃度 | DNA 量 ( $\mu\text{g}$ ) <sup>1</sup> |
|-----------|--------------------------------------|
| 1%        | 0.93 ± 0.14                          |
| 5%        | 1.00 ± 0.14                          |
| 10%       | 1.03 ± 0.10                          |
| 20%       | 1.46 ± 0.40                          |

<sup>1</sup> 平均 ± 標準偏差

供試し、各区8サンプルで実施した。その結果、すべての濃度でゲノム DNA を得ることができ、PCR 増幅も確認できた(表2)。したがって、亜硫酸 Na の使用量と保存、DNA 抽出量を考慮すると、すでに植物で報告されている10%で問題ないことが示唆された。

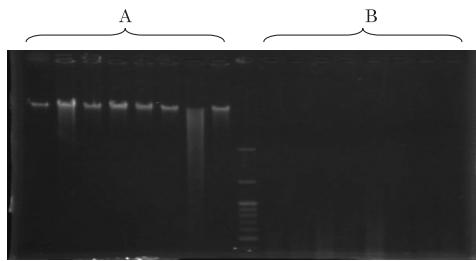
## 3. サンプル吸着後のろ紙の乾燥処理

血球サンプル吸着後のろ紙を、乾燥せずに DNA 抽出した場合(未乾燥区)と、乾燥後、DNA 抽出した場合(乾燥区)との間で DNA 抽出量の変化と PCR 増幅産物の有無を比較した。サンプルにはニワトリ血球の50・100・150・200倍希釈したものを各8サンプル用いた。その結果、全ての区で乾燥区が未乾燥区よりも DNA 量が多く、PCR 増幅も確認できた(表3とデータ示さず)。以上の結果から、サンプル吸着ろ紙は未乾燥よりも乾燥した方が効率的に DNA 抽出できることが示唆された。これは、ろ紙を乾燥したことで固定液が染込みやすくなり、サンプルとの反応が改善されたのではないかと推察した。

第3表 血球吸着後のろ紙の乾燥とゲノム DNA 抽出量の変化

| 希釈倍率 | DNA 量 ( $\mu\text{g}$ ) <sup>1</sup> |             |
|------|--------------------------------------|-------------|
|      | 未乾燥                                  | 乾燥          |
| ×50  | 1.51 ± 0.14                          | 2.03 ± 0.39 |
| ×100 | 1.49 ± 0.71                          | 4.13 ± 0.42 |
| ×150 | 1.13 ± 0.21                          | 2.84 ± 1.32 |
| ×200 | 1.34 ± 0.69                          | 3.08 ± 0.71 |

<sup>1</sup> 平均 ± 標準偏差



第3図 サンプル吸着ろ紙の保存剤としてのビタミンCの検討

ビタミンC 20%区で抽出したゲノムDNAを1%アガロースゲル電気泳動により観察した。A) サンプル吸着後のろ紙を乾燥せず、すぐにゲノム抽出に利用した(未乾燥区)。B) サンプル吸着後のろ紙を乾燥後、ゲノム抽出に利用した(乾燥区)。その結果、AではゲノムDNAを確認できたが、Bでは確認できなかった。

#### 4. 抗酸化物質の検討

抗酸化物質である亜硫酸Naを強い抗酸化作用があり有害性のないビタミンC(アスコルビン酸Na)に代替し、抽出DNA量の変化とPCR産物の有無を確認した。サンプルはニワトリ血球の100倍希釈液を供試し、各区8サンプルで実施した。その結果、血球吸着後のろ紙をすぐにゲノム抽出に利用すると、全ての区でPCR增幅可能なゲノムDNAを得ることができた(図3A)が、乾燥させるとゲノムDNAが得られなかった(図3B)。以上の結果は、ビタミンCがサンプル吸着後のろ紙の保存には利用できないことを示唆し、本法には不適であることが示された。

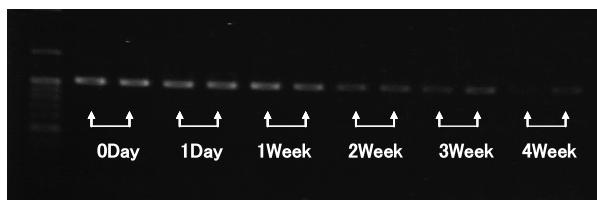
#### 5. サンプル吸着後のろ紙の保存期間

血球を吸着させたろ紙を乾燥後、一定期間室温で保存したものからゲノムDNAを抽出し、得られるDNA量の変化とPCR産物の有無を確認した。サンプルはニワトリ血球100・150・200倍希釈液を供試し、各区8サンプルで実施した。その結果、乾燥後4週間までDNAの抽出が可能であることが確認できた(表4)。また、一部に薄いバンドがあるものの、PCR産物についても確認することができた(図4)。同様のろ紙を半年間保存して、同実験を行なった結果、DNAが分解され、PCR産物を得ることができなかった(データ示さず)。これは、室温乾燥状態で放置している間にろ紙が空気中の細菌等に汚染され、DNAが分解されたと推察された。そこで、現在、酸素を通さない袋に脱酸素剤とともにサンプルろ紙

第4表 保存期間によるゲノムDNA抽出量の変化

| 保存期間  | DNA量(μg) <sup>1</sup> |           |           |
|-------|-----------------------|-----------|-----------|
|       | ×100                  | ×150      | ×200      |
| 0Day  | 1.49±0.71             | 1.13±0.21 | 1.34±0.70 |
| 1Day  | 4.13±0.42             | 2.84±1.32 | 3.08±0.71 |
| 1Week | 1.90±0.32             | 1.99±0.22 | 1.69±0.33 |
| 2Week | 3.27±0.54             | 2.58±0.53 | 2.33±0.40 |
| 3Week | 2.52±0.86             | 1.87±0.26 | 2.07±0.66 |
| 4Week | 5.83±1.24             | 4.10±0.73 | 4.54±0.64 |

<sup>1</sup> 平均±標準偏差



第4図 サンプルろ紙の保存期間ごとのPCR增幅の結果(血球100倍希釈)

一定期間室温で保存したサンプルろ紙からゲノムDNAを抽出した後、PCR增幅を行ない、2%アガロースゲル電気泳動により解析した。0 Dayは未乾燥を表し、1 Day以降は乾燥後の経過期間を表している。その結果、PCR産物が4週間(4Week)まで確認できた。

を密封し、どの程度保存可能かを検討中である。

以上の検討結果から、ガラス繊維ろ紙を用いたゲノムDNA抽出法は家畜・家禽のゲノムDNA抽出にも有効であることが示された。また、本法を効果的に利用するためには、家禽では血球の希釈倍率を50倍以上にすること、抗酸化剤としては10%亜硫酸Naが適当であること、ろ紙はサンプル吸着後に乾燥させることが重要であることが示唆された。本研究ではサンプル吸着後のろ紙を4週間まで保存可能であることを確認した。得られるDNAは通常のPCRやLA-PCRのみならず、96か所のSNPsをマルチプレックスPCRにより遺伝子型判定するDigiTag2法にも利用可能であることが示されている<sup>4)</sup>。

現在、前述のように、保存方法の改善による保存期間の延長を検討中である。また、血球以外のサンプル(肉・唾液・糞便)についても利用可能かについて検討している。本法は、コスト面で優れているが、16個体の血球から1時間でゲノムDNAを抽出できることから、時間面においても優れた方法であり、家畜や家禽においても多検体の遺伝子型判定に有用な技術であることが示された。

#### 要 約

【目的】家畜や家禽における安価で迅速なゲノムDNA抽出法の確立を目的として、本研究では、植物で実績のあるガラス繊維ろ紙を用いたDNA抽出法を検討したので報告する。

【材料及び方法】材料には、ニワトリ血球とウシ血球を各4または8検体供試した。方法は基本的に村元ら(2005)<sup>2)</sup>を参照し、以下の5項目(①血球の希釈倍率、②抗酸化物質の濃度、③サンプル吸着ろ紙の乾燥処理、④抗酸化物質の種類、⑤サンプル吸着後の保存期間)について、DNA抽出とPCR增幅の可否を検討した。

【結果及び考察】1. 血球の希釈倍率は、ニワトリでは50倍~200倍で1μg程度のゲノムDNAが得られ、1kbのPCR産物が確認できた。また、LA-PCRによって約5kbの産物も確認できた。他方、原液と10倍希釈ではゲノムDNAが抽出されたが、PCR增幅できなかった。ウシでは原液で7.8μg程度・10倍で1.5μg程度・50倍~200倍で1μg程度のゲノムDNAを得ることができた。また、

PCR により 800 bp の増幅産物を確認できた。2. 抗酸化物質である亜硫酸 Na の濃度は、植物と同様 10% でよいことが確認できた。3. 血球を吸着させたろ紙を乾燥させると、乾燥せずすぐに抽出する場合に比べて DNA 量が増加した。4. 抗酸化剤の亜硫酸 Na をビタミン C に変更した結果、ゲノム抽出できないことが示された。5. サンプル吸着後の保存は、室温で 4 週間まで DNA 抽出が可能であることを確認した。本法は、1 サンプル当たりの費用が 10 円程度で、コスト面で優れ、16 個体の血球からおよそ 1 時間でゲノム DNA が抽出できた。以上から、ガラス纖維ろ紙を用いたゲノム DNA 抽出法は家畜・家禽のゲノム DNA 抽出にも安価にかつ短時間で利用できることが示された。

### 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、ご協力いただいた附属農場入来牧場と家畜育種学研究室の皆様に深甚の謝意を表します。また、本研究の一部は、文部科学省 科学研究費補助金と農業生物資源ジーンバンク事業の研究助成を受けて実施した。ここに感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) Meuwissen, T.H., B.J. Hayes, M.E. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*. 157: 1819-29.
- 2) 村元靖典・沢野定憲. 2005. ガラス纖維ろ紙を利用した植物からの迅速・簡便・低コストな DNA 抽出法. 平成 16 年度関東東海北陸農業研究成果情報. Available: [http://narc.naro.affrc.go.jp/chousei/shiryou/kankou/seika/kanto16/08/16\\_08\\_06.html](http://narc.naro.affrc.go.jp/chousei/shiryou/kankou/seika/kanto16/08/16_08_06.html)
- 3) Rikimaru, K., H. Takahashi. 2007. A method for discriminating a Japanese brand of chicken, the Hinai-jidori, using microsatellite markers. *Poult. Sci.* 86: 1881-6.
- 4) 下桐 猛・西田奈央・丹羽孝介・西堀正英・工藤美雪・平岩秀樹・岡本新・前田芳實・徳永勝士・安江博. 2008. わが国で開発された DigiTag2 法によるニワトリ SNPs の同時検出. 動物遺伝育種研究. 36: 221.



## トウフ粕サイレージの給与がつしま地鶏の飼料利用性ならびに 産肉性に及ぼす影響

高山耕二<sup>1\*</sup>・梅木美穂<sup>1a</sup>・伊村嘉美<sup>2b</sup>・大浦昭寛<sup>3c</sup>・  
松本信助<sup>3d</sup>・中西良孝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>鹿児島大学農学部家畜管理学研究室 〒890-0065 鹿児島市郡元

<sup>2</sup>鹿児島大学農学部附属農場入来牧場 〒895-1402 薩摩川内市入来町

<sup>3</sup>長崎県農林技術開発センター 〒854-0063 諫早市貝津町

### Effect of Feeding Soybean Curd Residue Silages on the Feed Utilization and Meat Productivity of Tsushima Crossbred Chickens

Koji Takayama<sup>1\*</sup> · Miho Umeki<sup>1</sup> · Yoshimi Imura<sup>2</sup> · Akihiro Ooura<sup>3</sup>  
Shinsuke Matsumoto<sup>3</sup> and Yoshitaka Nakanishi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Behaviour and Management, Faculty of Agriculture, Kagoshima University,  
Korimoto, Kagoshima 890-0065

<sup>2</sup>Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Satsumasendai-shi,  
Kagoshima 895-1402

<sup>3</sup>Nagasaki Agricultural and Forestry Technical Development Center, Isahaya-shi, Nagasaki 854-0063

#### Summary

This study was conducted to examine the fermentative quality and nutritive value of 3 different kinds of soybean curd residue (SCR) silages, i.e. 70% SCR and 30% wheat bran (SCR+WB), 70% SCR and 30% rice bran (SCR+RB), 70% SCR and 30% polished rice bran (SCR+PRB) on fresh weight basis, and to investigate the effect of alternative feeding of the silage on the feed utilization and meat productivity of 36 Tsushima crossbred chickens (♀) during 12-25 weeks of age. The results obtained were as follows:

All the silages showed a lower pH (<4.2) and both the SCR+WB and SCR+RB silages contained more than 2% of lactic acid. The V-SCORE, indicative of good quality silage, got over 90 points in the SCR+RB and SCR+PRB silages, which were higher than SCR+WB silage. Apparent metabolizable energy of SCR+WB, SCR+RB and SCR+PRB silages were 1.71, 1.84 and 1.55 kcal/g, and crude protein were 9.9, 9.7 and 7.9 %, respectively.

Feed conversion, body weight, carcass characteristics and sensory test to the breast and thigh meats at 25 weeks of age were not significantly different between the chickens fed formula feeds only (control) and those fed formula feed with 30% SCR+WB, SCR+RB or SCR+PRB silages.

In conclusion, it is suggested that ensiling SCR with substrates (WB, RB or PRB) improves preservation and fermentative quality, especially the 2 latter are more superior. Moreover, feed utilization and meat productivity of crossbred Tsushima chickens were not affected by substituting SCR silage for formula feeds. Thus, SCR silages were considered to be one of the most promising self-sufficient feed for local meat-type chickens.

**Key Words:** feed utilization, meat productivity, silage, soybean curd residue, Tsushima crossbred chicken

キーワード：飼料利用性，産肉性，サイレージ，トウフ粕，つしま地鶏

#### 緒 言

わが国の畜産は戦後の農業近代化の中で、家畜の飼養

2009年11月30日 受付日

2010年2月6日 受理日

\* Corresponding author. E-mail: takayama@agri.kagoshima-u.ac.jp

<sup>a</sup> 現在：長崎県立諫早農業高等学校

<sup>b</sup> 現在：国立大学法人琉球大学農学部

<sup>c</sup> 現在：長崎県肉用牛改良センター

<sup>d</sup> 現在：長崎県農林部畜産課

管理の集約化ならびに飼養頭数の増大を推し進めてきた（稲垣, 2005）。その結果、我々の食卓には各種畜産物（肉、卵および乳製品など）が安定的かつ安価に供給されているものの、輸入飼料に依存した畜産経営は非常に不安定であり、多くの生産者が農地への還元許容量を越えた多量の家畜排泄物の処理に苦慮しているのが現状である（天笠ら, 2002）。

わが国の未利用資源の1つである食品廃棄物は全国で年間約1,900万t排出されている（村田, 2005）。2001年

の「食品リサイクル法」の施行により、排出量の削減と同時に再生利用法の検討が進められているものの、現状では排出量の約90%が焼却・埋立処分されている（村田、2005）。一部の食品製造副産物の家畜用飼料への利用は古くから行われており、ビール粕やビートパルプなどについては牛用飼料として定着してきた。一方、トウフ粕は年間約80万t発生しているとみられ、飼料向けに利用されているのは約50%に過ぎない（村田、2005）。トウフ粕は水分含量が高いことから、品質の劣化が極めて速い、長距離輸送が困難であるなどの理由から廃棄物となる例も多い。これに対し、トウフ粕をサイレージ化することで牛用飼料として長期保存が可能であることが明らかにされている（阿部ら、2000；馬場ら、1999；山本・辻井、1988）。しかしながら、トウフ粕のサイレージ化に適した発酵基質の選定や肉用鶏へのサイレージ給与が産肉性に及ぼす影響については未だ検討されていない。

消費者の食品に対する要求の多様化が進む中で、近年、地鶏が注目されつつある。つしま地鶏はその肉質に独特の歯ごたえとコク深い味わいがあることから、長崎県対馬の人々に古くから親しまれてきた在来種である（木村ら、1991a）。現在、長崎県農林技術開発センターにおいて、産卵・産肉能力の向上を目的とした育種改良が進められており、その一方で給与飼料を含む飼養管理技術の改善が緊要な課題とされている。

そこで本研究では、トウフ粕の飼料化に向けた基礎的知見を得ることを目的とし、サイレージ化の際の発酵基質の違いが発酵品質ならびに栄養価に及ぼす影響を明らかにするとともに、それらサイレージをつしま地鶏に給与した場合の飼料利用性、産肉性ならびに肉の食味性についても検討を行った。

## 材料および方法

### 1. 発酵基質の違いがトウフ粕サイレージの発酵品質に及ぼす影響

試験は2004年5月26日から同年7月21日までの57日間、鹿児島大学農学部附属農場内動物飼育棟にて行われた。トウフ粕、フスマ、米ヌカおよび白ヌカ（酒造米や製菓用白米を得る際、玄米の精白度が10～25%と高い米ヌカ（神、2004））をサイレージ調製用の原材料とし、トウフ粕は久保田商店（鹿児島市）より排出されたもの、フスマおよび米ヌカについては市販のもの、白ヌカについては小城製粉株式会社工場より排出された和菓子製菓用白米の精白副産物をそれぞれ供試した。新鮮なトウフ粕と各発酵基質（フスマ、米ヌカおよび白ヌカ）を7:3の割合（原物重比）で混合（水分含量は約60%に調整）し、ポリバケツ内で6週間嫌気状態で密封保存することでフスマ・トウフ粕サイレージ、米ヌカ・トウフ粕サイレージおよび白ヌカ・トウフ粕サイレージをそれぞれ調製した。

供試材料を60°Cで24時間通風乾燥し、放冷した後に粉碎し、それぞれの水分、粗蛋白質（以下、CP）、粗脂肪、

粗繊維、粗灰分および可溶無窒素物（以下、NFE）含量を常法により分析した。貯蔵後6週目の時点で各トウフ粕サイレージの一部をサンプリングし、新鮮物の全窒素含量（以下、TN）をケルダール分解法によって測定するとともに、水抽出液を調製し、pH、揮発性塩基態窒素（以下、VBN）含量および有機酸組成の定量に用いた。VBN含量については水蒸気蒸留法、有機酸組成については高速液体クロマトグラフ法（昭和電光社製、shodexCD-5、カラム：shodex Ionpak C-811）により定量した。さらに、乳酸以外の有機酸含量およびVBN/TNの値を基にV-SCOREを算出した（自給飼料品質評価研究会、2001）。

### 2. 発酵基質の違いがトウフ粕サイレージの栄養価に及ぼす影響

トウフ粕サイレージの栄養価を明らかにするために、2004年8月19日から23日までの5日間を予備期、同年8月24日から26日までの3日間を本期とする代謝試験を1.の試験と同様に学内動物飼育棟において行った。供試動物には、14週齢のつしま地鶏肉用交雑鶏♀（以下、つしま地鶏：ホワイトプリマスロック♂×つしま地鶏♀）12羽を用い、動物飼育棟内の単飼ケージ（920 cm<sup>3</sup>/羽）において飼育した。

基礎飼料には、市販大すう育成用配合飼料（以下、配合飼料：ME: 2.80 kcal/g, CP: 14.0%）を用いた。配合飼料と1.の試験で調製した3種類のトウフ粕サイレージを7:3の割合（原物重比）で混合したものをそれぞれ試験飼料とし、各4羽ずつ毎朝7:30に給与した。給与量については1羽当たり150 g/日とし、水は自由に摂取できるようにした。毎朝、飼料給与前（7:30）に残食量を測定し、前日の給与量から差し引いて飼料摂取量を算出した。排泄物の採取については水分の蒸発を考慮し、19:00と7:00の2回に分けて行った。

試験終了後、各トウフ粕サイレージ、試験飼料の一部および排泄物を60°Cで24時間通風乾燥し、放冷した後に粉碎し、トウフ粕サイレージの水分、CP、粗脂肪、粗繊維、粗灰分およびNFE含量を常法により分析した。試験飼料および排泄物の総エネルギー（以下、GE）をボンブカロリーメーター（島津製作所、CA-4PJ）により測定し、トウフ粕サイレージの代謝エネルギー含量（以下、ME）については以下の式を用いて算出した。

$$\text{エネルギー代謝率}(\%) =$$

$$\frac{[\{\text{試験飼料 GE (kcal/g)} \times \text{乾物摂取量 (g)}\} - \{\text{糞 GE (kcal/g)} \times \text{乾物排糞量 (g)}\}] \times 100}{[\{\text{試験飼料 GE (kcal/g)} \times \text{乾物摂取量 (g)}\} \times \text{試験飼料 ME (kcal/g)}] \times \text{試験飼料 GE (kcal/g)} \times \text{エネルギー代謝率}/100}$$

$$\text{トウフ粕サイレージ ME (kcal/g)} =$$

$$\text{試験飼料 ME (kcal/g)} - \{\text{配合飼料 ME (kcal/g)} \times \text{配合率}\}/\text{配合率}$$

得られたデータのうち、各トウフ粕サイレージのMEおよびCPについては一元配置分散分析による発酵基質

間の差の検定を行った。

### 3. トウフ粕サイレージの給与がつしま地鶏の飼料利用性と産肉能力に及ぼす影響

試験は2004年8月5日～同年11月3日までの90日間、1.および2.の試験と同様に学内動物飼育棟において行われた。供試動物は12週齢のつしま地鶏♀36羽を用い、配合飼料のみを給与した対照区（9羽、給与飼料の栄養価：ME: 2.8 kcal/g, CP: 14.0%）とともに、2.の試験結果（第4表）に基づき配合飼料と各トウフ粕サイレージを7:3の割合（原物重比）で混合した飼料を給与したフスマ区（9羽、給与飼料の栄養価：ME: 2.5 kcal/g, CP: 12.8%）、米ヌカ区（9羽、給与飼料の栄養価：ME: 2.5 kcal/g, CP: 12.7%）および白ヌカ区（9羽、給与飼料の栄養価：ME: 2.5 kcal/g, CP: 12.2%）を設け、動物飼育棟内の群飼ケージ（1.1 m<sup>2</sup>/羽）にて90日間飼育した（3羽/ケージ）。

各区とも不斷給餌、自由飲水条件下で肥育試験を行い、毎朝、飼料給与前（8:00）に残食量を測定し、前日の給与量から差し引いて飼料摂取量を算出した。また、飼料摂取量に各飼料のMEを乗じたME摂取量とともに、体重を週1回測定し、試験期間中の増体量を日数で除して日増体量をそれぞれ算出した。飼料要求率については、飼料摂取量を増体量および産卵量で除して算出した。試験終了後、屠殺解体を行い、脱毛後の体重（以下、裸体重）、腹腔内脂肪および枝肉重量を測定し、枝肉歩留を算出した。さらに、ムネ肉およびモモ肉を2 cm四方に切ったものを鉄板で焼き、官能試験を行った。パネリストは男性23名（平均年齢22.4才）、女性15名（平均年齢21.6才）および無記入2名の計40名と若年齢層が大部分であった。評価方法は歯ごたえ、多汁性、風味および総合評価の項目について7段階の数的尺度（入江、1995）を用いて行った。

得られたデータのうち、体重、飼料摂取量、ME摂取量、日増体量、飼料要求率および解体成績については一元配置分散分析、つしま地鶏肉の官能評価についてはWilcoxonの符号化順位検定により区間差を検定した。

### 結果および考察

#### 1. 発酵基質の違いがトウフ粕サイレージの発酵品質に及ぼす影響

供試材料の化学成分を第1表に示した。トウフ粕の水

第1表 サイレージ調製に用いた原材料の化学成分

| 項目          | トウフ粕 | フスマ  | 米ヌカ  | 白ヌカ  |
|-------------|------|------|------|------|
| 乾物(DM, %)   | 22.1 | 88.7 | 91.0 | 89.4 |
| -%DM-       |      |      |      |      |
| 粗蛋白質(CP)    | 27.3 | 18.9 | 15.4 | 11.2 |
| 粗脂肪         | 16.4 | 4.9  | 23.3 | 4.5  |
| 粗纖維         | 17.2 | 9.1  | 4.6  | 0.2  |
| 粗灰分         | 4.5  | 5.4  | 10.8 | 2.5  |
| 可溶無窒素物(NFE) | 34.6 | 61.7 | 45.9 | 81.6 |

分含量は約80%であり、CP含量も27.3%と高い値を示した。トウフ粕の成分は、原料大豆やトウフの製造方法により変動するとされている（森本、1980）が、本試験で用いたトウフ粕は日本標準飼料成分表（（独）農業技術研究機構、2001）で示された数値とほぼ同様な値を示した。一方、発酵基質については、米ヌカでは粗脂肪含量、白ヌカではNFE含量がそれぞれ他の発酵基質に比べ高い値を示した。フスマと米ヌカは日本標準飼料成分表（（独）農業技術研究機構、2001）の数値とほぼ同様な値であり、白ヌカの化学成分は中西ら（2009）の報告とほぼ同値であった。

貯蔵6週目のトウフ粕サイレージのpHは、3.9～4.2と各区に大きな差はみられなかった（第2表）。サイレージの適正pHは4.0～4.2であり、pHが上昇するにつれ乳酸が減少し、酪酸、酢酸が増加することで変敗などを引き起こすことが知られている（森本、1980）。本試験では、各トウフ粕サイレージのpHは適正範囲内にあり、酪酸、酢酸に比べ乳酸含量は高い値を示した（第2表）。

V-SCOREは、その評点が酢酸+プロピオン酸、酪酸以上の有機酸およびVBN/TNの3つの指標より算出されることから、信頼性の高いサイレージの品質評価法の1つとして知られている（自給飼料品質評価研究会、2001）。本試験における各トウフ粕サイレージのV-SCOREは、白ヌカ・トウフ粕サイレージで96点と最も高く、次いで米ヌカ・トウフ粕サイレージの90点、フスマ・トウフ粕サイレージの72点の順であり、その品質の評価はそれぞれ良、良、可であった（第2表）。

トウフ粕のサイレージ化には、発酵基質としてビートパルプ、圧ペン大麦などを用いることあるいは発酵基質の代わりに酵素類を添加することで良質なサイレージを得られることが知られている（馬場ら、1999）。本試験では、フスマ、米ヌカおよび白ヌカという3つの発酵基

第2表 トウフ粕サイレージのpH、有機酸組成およびV-SCORE

| サイレージの種類      | pH  | 有機酸組成 (%FM <sup>a</sup> ) |     |        |                 | VBN/TN <sup>b</sup><br>(%) | V-SCORE <sup>c</sup><br>(点) |
|---------------|-----|---------------------------|-----|--------|-----------------|----------------------------|-----------------------------|
|               |     | 乳酸                        | 酢酸  | プロピオン酸 | 酪酸              |                            |                             |
| フスマ・トウフ粕サイレージ | 4.2 | 2.3                       | 0.2 | 0.1    | 0.3             | 7.6                        | 72                          |
| 米ヌカ・トウフ粕サイレージ | 4.1 | 2.4                       | 0.9 | 0.2    | ND <sup>d</sup> | 6.8                        | 90                          |
| 白ヌカ・トウフ粕サイレージ | 3.9 | 1.4                       | 0.2 | 0.2    | ND              | 3.2                        | 96                          |

<sup>a</sup>新鮮物当たり

<sup>b</sup>全窒素(TN)に対する揮発性塩基態窒素(VBN)の割合

<sup>c</sup>評点は80点以上で良、60～80点が可、60点以下が不良と3段階に設定されている

<sup>d</sup>検出されず

第3表 配合飼料およびトウフ粕サイレージの化学成分

| 項目             | 大すう育成用<br>配合飼料 <sup>z</sup> | サイレージの種類         |                  |                  |
|----------------|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                |                             | フスマ <sup>y</sup> | 米ヌカ <sup>x</sup> | 白ヌカ <sup>w</sup> |
| 乾物(DM, %)      | -                           | 91.8             | 90.4             | 92.0             |
| - %DM -        |                             |                  |                  |                  |
| 粗蛋白質(CP)       | 14.0                        | 21.9             | 21.1             | 18.0             |
| 粗脂肪            | 2.0                         | 8.3              | 23.6             | 9.9              |
| 粗纖維            | 8.0                         | 12.9             | 13.6             | 7.1              |
| 粗灰分            | 9.0                         | 5.1              | 9.0              | 3.9              |
| 可溶無窒素物(NFE)    | 67.0                        | 51.8             | 32.7             | 61.1             |
| Ca             | 0.70                        | 0.30             | 0.15             | 0.43             |
| P <sup>v</sup> | 0.40                        | 0.77             | 1.65             | 0.60             |

<sup>z</sup> 表示表より引用<sup>y</sup> フスマ・トウフ粕サイレージ<sup>x</sup> 米ヌカ・トウフ粕サイレージ<sup>w</sup> 白ヌカ・トウフ粕サイレージ<sup>v</sup> 全リン含量を示す

質を用いて、トウフ粕のサイレージ化を行った結果、保存性についてはpHの面で発酵基質による違いは認められなかったものの、発酵品質についてはV-SCOREの結果から、フスマに比べ米ヌカおよび白ヌカが発酵基質として優れていることが明らかになった。とくに白ヌカ・トウフ粕サイレージのV-SCOREが高得点を示した点については、白ヌカのNFE含量はフスマおよび米ヌカに比べ高かった(第1表)ことから、NFE中に乳酸発酵を促す可溶性糖類が多く含まれる可能性が示唆された。

## 2. 発酵基質の違いがトウフ粕サイレージの栄養価に及ぼす栄養価

トウフ粕サイレージのCP含量は、配合飼料に比べいずれも高い値を示した(第3表)。その他の成分については、米ヌカ・トウフ粕サイレージで粗脂肪含量が高く、NFE含量が少ないという特徴がみられた。各トウフ粕サイレージとも、その化学成分はそれぞれの原材料の成分(第1表)を反映する結果を示した。本試験のトウフ粕サイレージは、いずれの発酵基質を用いた場合にもP含量が高く、米ヌカ・トウフ粕サイレージではCaに比べPが10倍以上多く含まれていた。飼料として与えるCaおよびPは、その含量比率が2:1または1:1になる場合に有効であり、Caに比べPが多く含まれる場合には、とくに幼動物において成長の停止をきたす恐れがあるとされている(森本, 1980)。本試験で用いたような植物性原料(トウフ粕および3つの発酵基質)に含まれるPにはフィチン態Pが多く含まれており、これを分解する酵素フィターゼを有していない鶏では、植物性飼料中のPの利用率は低い((独)農業・生物系特定産業技術研究機構, 2004)。したがって、フスマ・トウフ粕サイレージと白ヌカ・トウフ粕サイレージについては鶏の発育に悪い影響を及ぼさないと考えられたが、PをCaの10倍以上含む米ヌカ・トウフ粕サイレージについては、給与の際にCa/P比が適正範囲内になるよう他の飼料と調製する必要があると思われた。

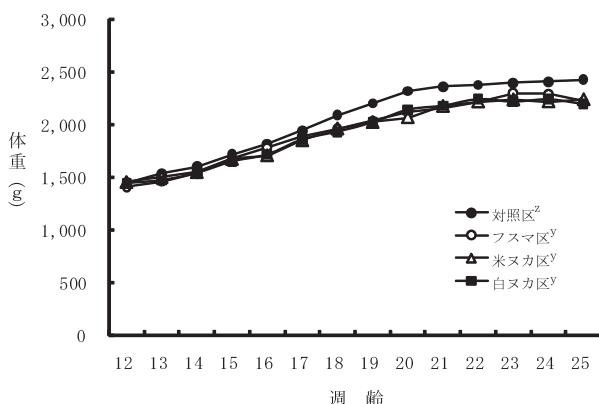
配合飼料およびトウフ粕サイレージ(新鮮物当たり)の栄養価を原物当たりで第4表に示した。MEおよびCP含量には発酵基質間で有意差が認められず、いずれも配合飼料の2/3程度であった。ただし、カロリー・蛋白比については、各トウフ粕サイレージとも配合飼料に近い値を示した。

つしま地鶏ではME2.9~3.0 kcal/g, CP含量16~17.5% (カロリー・蛋白比171~181) の栄養価の飼料を給与することで増体、飼料効率および枝肉歩留の面で良好な結果が得られたと報告されている(島澤・荒木, 2000a, b)。水分含量が約60%と高いトウフ粕サイレージのME, CP含量からみた栄養価は低いことから、単体での給与は肉用鶏の発育、飼料利用性および産肉性に悪影響を及ぼすことが予想された。したがって、肉用鶏へのトウフ粕サイレージ給与については、配合飼料の一部(20~30%)を代替するような形が望ましいと考えられた。

## 3. トウフ粕サイレージの給与がつしま地鶏の飼料利用性と産肉能力に及ぼす影響

配合飼料と各トウフ粕サイレージを7:3の割合(原物重比)で混合した飼料の給与がつしま地鶏の発育に及ぼす影響を第1図に示した。各区とも20週齢まで順調な体重増加を示したが、21週齢以降体重の伸びは緩やかになった。試験期間中における平均体重には各区とも個体間のばらつきが大きく、区間差は認められなかった。

トウフ粕サイレージがつしま地鶏の飼料摂取量、ME摂取量、日増体量ならびに飼料要求率に及ぼす影響を第5表に示した。すべての項目について、各区間に有意差は認められなかった。本村ら(1991b)はつしま地鶏肉用交雑鶏の雌をブロイラー用飼料(ME 3.10~3.20 kcal/g, CP19~23%)で飼育した場合には16週齢の時点で体重が2,800 gに達し、飼料要求率が約3.0であることを報告しており、その一方で卵用鶏育成飼料(ME 2.65~2.80 kcal/g, CP14~18%)を一部の期間(0~10週齢もしくは10~16週齢)給与した場合には16週齢までの増体



第1図 トウフ粕サイレージを給与した「つしま地鶏」の成長曲線

<sup>z</sup> 大すう育成用配合飼料のみ給与<sup>y</sup> 大すう育成用配合飼料と発酵基質(フスマ・米ヌカ・白ヌカ)の異なるトウフ粕サイレージを7:3の割合で混合した飼料をそれぞれ給与

と飼料利用性がともに低下することを明らかにしている。本試験の結果は本村ら (1991b) の報告に比べ体重、飼料要求率ともに劣っていたが、これには各区の ME および CP 含量の低さが関与しているものと考えられた。また、飼料要求率が高かったことについては、各区の増体量が21週齢以降停滞したにもかかわらず、その後5週間飼養を継続したため、飼料を消費したことが関与しているものと推察された (第1図)。

トウフ粕サイレージの給与がつしま地鶏の解体成績に及ぼす影響を第6表に示した。すべての項目について各区

間に有意差は認められず、前述した本村ら (1991b) の試験でもつしま地鶏の解体成績に給与飼料 (プロイラー用飼料) の栄養価による影響は認められなかったことから、トウフ粕サイレージを30%代替給与した本試験と一致した結果が得られた。したがって、プロイラー用飼料の30%をトウフ粕サイレージで代替しても解体成績の面で遜色ないことが明らかとなった。

トウフ粕サイレージの給与がつしま地鶏のムネ肉ならびにモモ肉の食味性に及ぼす影響を第7表に示した。ムネ肉およびモモ肉ともにすべての項目について各区間に有意差は認められなかった。本村ら (1991a) はつしま地鶏における肉の食味性について、プロイラーに比べ肉がよく締まって歯ごたえがある、呈味があるといった評価を得たと報告している。本試験でもパネリストより同様な評価を得るとともに、各区ともトウフ粕サイレージ給与によるムネ肉およびモモ肉の食味性の違いは認められなかった。

以上より、トウフ粕をフスマ、米ヌカおよび白ヌカのいずれかの発酵基質を用いて、サイレージ化することで保存性が高まり、中でも米ヌカならびに白ヌカを添加することで発酵品質が高まることが明らかになった。また、トウフ粕サイレージは肉用系地鶏に対し給与飼料の一部を代替しても慣行飼料給与の場合と飼料利用性や産肉性の面で遜色なかったことから、自給飼料として十分に利用可能であることが示された。

第4表 配合飼料およびトウフ粕サイレージの栄養価

| 飼料の種類                   | 代謝エネルギー含量<br>(ME, kcal/g) | 粗蛋白質(CP, %) | カロリー・蛋白比<br>- %FM <sup>y</sup> - |
|-------------------------|---------------------------|-------------|----------------------------------|
| 大すう育成用配合飼料 <sup>z</sup> | 2.80                      | 14.0        | 200                              |
| フスマ・トウフ粕サイレージ           | 1.71±0.10                 | 9.9         | 173                              |
| 米ヌカ・トウフ粕サイレージ           | 1.84±0.71                 | 9.7         | 190                              |
| 白ヌカ・トウフ粕サイレージ           | 1.55±0.33                 | 7.9         | 196                              |

平均値±標準偏差(n=4)

<sup>z</sup> 表示表より引用<sup>y</sup> 新鮮物当たり第5表 トウフ粕サイレージを給与した「つしま地鶏」の飼料摂取量、代謝エネルギー(ME)摂取量<sup>z</sup>、日増体量ならびに飼料要求率

| 項目               | 区分 <sup>y</sup> |            |            |            |
|------------------|-----------------|------------|------------|------------|
|                  | 対照区(n=8)        | フスマ区(n=9)  | 米ヌカ区(n=8)  | 白ヌカ区(n=9)  |
| 飼料摂取量(g DM/日)    | 105.1±10.5      | 121.0±5.8  | 124.7±21.0 | 111.6±7.1  |
| ME 摂取量(kcal/羽/日) | 294.3±29.4      | 336.5±83.0 | 393.7±65.4 | 336.8±21.3 |
| 日増体量(g/日)        | 11.2±1.9        | 9.3±3.6    | 9.1±2.2    | 8.7±1.6    |
| 飼料要求率            | 6.9±0.7         | 8.3±1.0    | 9.2±1.3    | 9.2±2.3    |

平均値±標準偏差

<sup>z</sup> 飼料摂取量に各飼料の代謝エネルギー含量(ME)を乗じた値<sup>y</sup> 対照区: 大すう育成用配合飼料のみ給与、フスマ区・米ヌカ区・白ヌカ区: 大すう育成用配合飼料と発酵基質(フスマ・米ヌカ・白ヌカ)の異なるトウフ粕サイレージを7:3の割合で混合した飼料をそれぞれ給与

第6表 トウフ粕サイレージを給与した「つしま地鶏」の解体成績

| 項目        | 区分 <sup>z</sup> |           |           |           |
|-----------|-----------------|-----------|-----------|-----------|
|           | 対照区(n=8)        | フスマ区(n=9) | 米ヌカ区(n=8) | 白ヌカ区(n=9) |
| 裸体重 (g)   | 2,258±228       | 2,056±296 | 1,964±404 | 2,007±194 |
| 腹腔内脂肪 (g) | 83.5±26.8       | 66.1±27.4 | 50.4±41.1 | 53.8±12.5 |
| 枝肉重量 (g)  | 1,642±89        | 1,538±202 | 1,459±352 | 1,515±192 |
| 枝肉歩留 (%)  | 67.2±1.5        | 66.5±3.5  | 64.5±9.0  | 67.8±2.5  |

平均値±標準偏差

<sup>z</sup> 対照区：大すう育成用配合飼料のみ給与

フスマ区・米ヌカ区・白ヌカ区：

大すう育成用配合飼料と発酵基質(フスマ・米ヌカ・白ヌカ)の異なるトウフ粕サイレージを7:3の割合で混合した飼料をそれぞれ給与

第7表 トウフ粕サイレージを給与した「つしま地鶏」のムネならびにモモ肉の食味性

| 項目   | 区分 <sup>z</sup> |      |      |      |
|------|-----------------|------|------|------|
|      | 対照区             | フスマ区 | 米ヌカ区 | 白ヌカ区 |
| ムネ肉  |                 |      |      |      |
| 歯ごたえ | 0.55            | 0.60 | 0.60 | 0.75 |
| 多汁性  | 0.40            | 0.23 | 0.58 | 0.85 |
| 風味   | 0.33            | 0.53 | 0.78 | 0.83 |
| 総合評価 | 0.53            | 0.63 | 0.80 | 1.00 |
| モモ肉  |                 |      |      |      |
| 歯ごたえ | 0.90            | 0.95 | 1.10 | 0.88 |
| 多汁性  | 0.83            | 1.30 | 1.13 | 1.10 |
| 風味   | 0.98            | 1.08 | 1.18 | 1.28 |
| 総合評価 | 1.08            | 1.35 | 1.35 | 1.18 |

平均値 (40名のパネリストによる評価)

<sup>z</sup> 対照区：大すう育成用配合飼料のみ給与

フスマ区・米ヌカ区・白ヌカ区：

大すう育成用配合飼料と発酵基質(フスマ・米ヌカ・白ヌカ)の異なるトウフ粕サイレージを7:3の割合で混合した飼料をそれぞれ給与

(官能評価の基準)

| 評点 | 歯ごたえ  | 多汁性   | 風味    | 総合評価  |
|----|-------|-------|-------|-------|
| 3  | 非常に良い | 非常にある | 非常に良い | 非常に良い |
| 2  | かなり良い | かなりある | かなり良い | かなり良い |
| 1  | 良い    | ある    | 良い    | 良い    |
| 0  | 普通    | 普通    | 普通    | 普通    |
| -1 | 悪い    | ない    | 悪い    | 悪い    |
| -2 | かなり悪い | かなりない | かなり悪い | かなり悪い |
| -3 | 非常に悪い | 非常にない | 非常に悪い | 非常に悪い |

## 要 約

トウフ粕のサイレージ化における発酵基質の違いが品質と栄養価に及ぼす影響を検討するとともに、そのサイレージを長崎県作出のつしま地鶏肉用交雑鶏（以下、つしま地鶏）に給与した場合の飼料利用性、産肉性ならびに肉の食味性を明らかにした。生トウフ粕にフスマ、米ヌカあるいは白ヌカを7:3の割合（原物重比）で混合し、密封室温保存してトウフ粕サイレージを調製した（以下、フスマ区、米ヌカ区および白ヌカ区）。

(1)貯蔵6週目の各区のpHは4.2以下であり、フスマ区と米ヌカ区の乳酸含量は2%以上であった。また、米ヌカ区と白ヌカ区のV-SCOREは90点以上となり、フスマ区より優れた発酵品質を示した。フスマ区、米ヌカ区お

よび白ヌカ区の代謝エネルギー（以下、ME）ならびに粗蛋白含量（以下、CP）は1.71, 1.84および1.55 kcal/g, 9.9, 9.7および7.9%であった。(2)12週齢のつしま地鶏♀36羽を用いて、市販配合飼料（ME: 2.8 kcal/g, CP: 14.0%）のみを給与した区、市販配合飼料と各サイレージの混合飼料（原物重比で7:3）を給与した区の計4区を設け、25週齢まで肥育したところ、終了時体重と飼料要求率には各区間で有意差がみられず、解体成績についても同様であった。肉の食味性についてもムネ肉とモモ肉では各区間に有意差が認められなかった。

以上より、トウフ粕をフスマ、米ヌカおよび白ヌカのいずれかの発酵基質を用いて、サイレージ化することで保存性が高まり、とくに米ヌカならびに白ヌカを添加することで発酵品質が高まることが明らかになった。また、

トウフ粕サイレージは肉用系地鶏に対し給与飼料の一部を代替しても慣行飼料給与の場合と飼料利用性や産肉性の面で遜色なかったことから、自給飼料として十分に利用可能であることが示された。

### 引用文献

- 阿部 亮・吉田宣夫・今井明夫・山本英雄. 2000. 未利用有機資源の飼料利用ハンドブック. 385pp. サイエンスフォーラム. 東京.
- 天笠啓祐・郡司和夫・魚住道郎・北林寿信・増井和夫・安田節子. 2002. 肉はこう食べよう, 畜産をこう変えよう. 203pp. コモンズ. 東京.
- 馬場武志・田中剛・井上信明. 1999. トウフ粕混合サイレージの発酵品質と開封後の品質変化. 福岡県農業総合試験場研究報告. 18: 143-146.
- 稻垣純一. 2005. わが国農業の転換点にたつ畜産. 畜産の研究. 59(1): 74-80.
- 入江正和. 1995. 食肉の官能検査と調理法. 畜産の研究. 49(3): 53-58.
- 自給飼料品質評価研究会(編). 2001. 改訂粗飼料の品質評価ガイドブック. 196pp. 日本草地畜産種子協会. 東京.
- 神 勝紀. 2004. 飼料資源 穀類, 穀類副産物. p. 65-72. 唐澤 豊編. 動物の飼料. 文永堂. 東京.
- 森本 宏. 1980. 飼料学. 727pp. 養賢堂. 東京.
- 本村高一・真鳥 清・山口俊彦. 1991a. つしま地鶏肉用交雑鶏の能力比較－2元交雑鶏の能力－. 長崎県畜産試験場研究報告. 1: 105-118.
- 本村高一・真鳥 清・山口俊彦. つしま地鶏肉用交雑鶏の飼養管理－CP. ME 水準と増体量－. 1991b. 長崎県畜産試験場研究報告. 1: 119-123.
- 村田富夫. 2005. 循環型社会の形成と畜産の機能. 畜産の研究. 59(1): 87-92.
- 中西良孝・東 めぐみ・西田理恵・高山耕二・伊村嘉美. 2009. 解纖処理竹材のサイレージ化とその発酵品質. 日本暖地畜産学会報. 52(1): 27-32.
- (独)農業技術研究機構(編). 2001. 日本標準飼料成分表(2001年版). 245pp. 中央畜産会. 東京.
- (独)農業・生物系特定産業技術研究機構(編). 2004. 日本飼養標準・家禽(2004年版). 124pp. 中央畜産会. 東京.
- 嶋澤光一・荒木 勉. 2000a. つしま地鶏肉用交雑鶏の栄養水準の検討(第1報). 長崎県畜産試験場研究報告. 9: 20-22.
- 嶋澤光一・荒木 勉. 2000b. つしま地鶏肉用交雑鶏の栄養水準の検討(第2報). 長崎県畜産試験場研究報告. 9: 23-24.
- 山本静二・辻井弘忠. 1988. 自家配トウフ粕サイレージの調製とその消化試験. 畜産の研究. 42(10): 52.



資料

## ミクロネシア連邦で栽培される作物とその利用事例

遠城道雄

鹿児島大学農学部附属農場 890-0065 鹿児島市郡元

### Case of Cultivated Crops and its Utilization in Federated States of Micronesia

Michio Onjo

Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890-0065

#### はじめに

ミクロネシアとは、ギリシャ語で「小さな島々」という意味であり、赤道以北の東経135度から175度の地域をさし、マリアナ諸島、カロリン諸島、マーシャル諸島、ギルバート諸島およびナウル島で構成されている（印東、2005）。著者は、これまで主にカロリン諸島に位置するミクロネシア連邦において、栽培される作物の種類やその利用方法について調査を行ってきた。本資料では、その代表的な作物である、ジャイアントスワンプタロ（*Cyrtosperma chamissonis* (Schott) Merr.），ヤムイモ（*Dioscorea* spp.）およびパンノキ（*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg）について紹介する。

#### ミクロネシア連邦の概要

ミクロネシア連邦は東からコスラエ、ポンペイ、チューク、ヤップの4つの州から構成されている。4島とも1500年代からスペイン、ドイツ、日本そしてアメリカの順で統治をうけた後、1986年に独立した。600近くの島嶼からなっており、そのうち、約60島が有人島とされる（Galbraith et al., 2000）。気候は熱帯海洋性であり、年間降雨量は州や島によって違いが見られるが3000から5000mm、年平均気温は約27°Cでほぼ一定している。なお、コスラエ州での調査は行っていないので、本資料には入っていない。

コスラエ州を除いた3州とも国際線が発着する空港がある主島と呼べる島、すなわちポンペイ州ではポンペイ島、ヤップ州ではヤップ島およびチューク州ではウエノ島と、それぞれ離島部からなっている。首都はポンペイ島のパリキールに置かれている。

#### 現在の食糧事情

現在の主食はいずれの州においても全量輸入に依存する米である。商店で販売される米のパッケージを見ると、アメリカ、オーストラリア、韓国産がほとんどである。その他の主な食料品である小麦粉、ラーメン、缶詰、缶・ペットボトル飲料などいずれも輸入であり、輸入食料品への依存度の高さが窺える（Onjo et al., 2003）。とはいえ、本来は下記にあげる作物を主食としていたことは言うまでもないし、現在もその重要性は高い。

#### 栽培される主な作物

##### 1. ジャイアントスワンプタロ（*Cyrtosperma chamissonis* (Schott) Merr.）

サトイモ科に属する湿地性のタロイモであり、大きいものでは、草丈が3 m以上にも達する（第1、2図）。栽培には真水と、海水が浸入しない湿地の形成が必要であ



第1図 ジャイアントスワンプタロ(チューク州)

2009年11月30日 受付日

2009年12月15日 受理日

Corresponding author. E-mail: michionj@agri.kagoshima-u.ac.jp



第2図 ジャイアントスワンプタロの栽培(ポンペイ州)



第3図 儀式で利用されるヤムイモ(左)とパンノミ(右)(ポンペイ州)

る。雨量が多い島嶼とはいえ、環礁域などの島では、湿地の造成はむずかしい。聞き取りによる調査では、場所を決めたら、バナナ、パンノキなどの葉を大量に投入し、土壤を改良してから、水を引き、湿地を人工的に造成して栽培を始めるとのことであった。ポンペイ州の離島部では、栽培前に一度海水を引き込んでから、数ヶ月放置して、栽培を始める方法もあるそうである。いずれもわき水もしくは高所からの流水が流れ込むような場所で湿地が形成されており、水がきれいなことと、いくらかの流れがあることが栽培には好条件とされるため、水稻と同じように水の管理が重要である。栽培方法は簡単であり、収穫時にイモの上部を茎ごと切断し、葉を除いた後に、再度収穫した場所もしくはすぐ近くに植え込む。収穫までは最低2~3年が必要であるが、そのまま、10年以上置かれていることもある。調査した3州のいずれでも栽培されているが、ヤップ州では、ヤップ島や離島部とともに栽培が多く見られる (Nakano and Onjo, 2003)。同州の2000年の調査では、センチュウによるといわれるイモの腐敗、肥大阻害被害が多く認められたが、その後の分類で、見つかったセンチュウは1種類のみであり、その種は植物寄生性でなく、動物寄生性であった (Sakamaki et al., 2001)。このことは、病原菌など別の原因でイモが腐敗し、その腐敗菌などにセンチュウが2次的に寄生している可能性を示しており、さらなる調査が必要である。

このイモは、収穫適期までには、期間を要するが、後述するヤムイモやパンノキのように収穫に季節性がなく、周年収穫が可能である。この点で、島外からの食料が原則として海上輸送に依存し、気象条件や船の状況によっては供給不安定である島嶼においては、たいへん適した作物であると言える。

## 2. ヤムイモ (*Dioscorea* spp.)

ヤマノイモ科に属するつる性作物であり、収穫期には季節性がある。著者がこれまで確認したヤムイモ種はダイジヨ (*D.alata* L.), トゲドコロ (*D.esculenta* (Lour.) Burk.), *D.trifida* L., カシュウイモ (*D.bulbifera* L.), そして *D.pentaphylla* L. である。ポンペイ島ではこれ以



第4図 樹木の枝を利用したヤムイモ栽培(ヤップ州)

外の種の存在も報告されている (Raynor et al., 1992)。食用の中心はダイジヨとトゲドコロであり、とくにダイジヨの系統は多数あり、ポンペイ島では100系統以上 (Raynor et al., 1992), ヤップ島では19系統 (Merlin et al., 2000) との報告がある。なお、2007年に著者らが行ったチューク州での調査では、ヤムイモ類はほとんど観察されなかった (未発表)。ポンペイ州、ヤップ州とも主島部での栽培が主であり、離島部での栽培はほとんど見られない。これは、離島部は低島であり、珊瑚に由来する土壤のため、アルカリ度が高く、ヤムイモ類の生育がむずかしいことによるものと思われる。

ポンペイ島のヤムイモは、食用よりもむしろ冠婚葬祭などの儀式用として重用される (第3図)。そのため、塊茎が大きいことが最重要課題となる。儀式などで用いられる塊茎は、おとなが2から4人で運ぶのが普通であり、最低でも1株が40 kg以上はあるものと推定される。具体的な栽培方法については Raynor et al. (1992) が詳しく報告している。地上部成長量が収量増加に結びつくことが知られているため、ヤシやパンノキなどに蔓を上らせたり (第4図)、日本のブドウ棚のようなテラスを作って、



第5図 ヤムイモのテラス栽培(ポンペイ州)



第7図 パンノミの断面(ポンペイ州)



第6図 パンノミ(ポンペイ州)



第8図 マールの貯蔵(チューク州)

そこに蔓をはわせる栽培方法（第5図）が多い。ポンペイ島では2000年以降、ヤムイモの世界的な主要病害である炭そ病が急速に広がり、かなりのダイジョ系統が消滅した可能性が高い。2007年の調査では、島民が抵抗性系統を見つけて、その繁殖を州農業局とともに実施中であった。

### 3. パンノキ (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg)

パンノキ（パンノミ）は、クワ科の植物である。果実は、デンブンとタンパク質に富んでおり、太平洋島嶼では非常に重要な作物である（第6、7図）。原産地は西太平洋とされ、現在は太平洋だけでなく、カリブ海や中南米、アフリカの一部でも栽培されている（Ragone, 1997）。

有種子と無種子のタイプがあるが、有種子タイプであっても種子量の多少に大きな違いがあり、非常に多くの遺伝的変異や種間交雑種もあるとされる（Ragone, 1997）。ヤムイモと同様に収穫期に季節性があり、果実自体の貯蔵もむずかしい。そのため、発酵させて、土中に保存する「マール（マル）」（第8図）と呼ばれる方法がある（今西・吉良, 1975）。まず、表皮をむいてから、果実を細かく切る。それを海水に浸してから、バナナやパンノキの葉で幾重にも包み、土中に埋める。雨水が入ると、発酵がうまくいかないところで、葉の外側にはビニルが使われていたり、土中ではなく、プラスチック製のア



第9図 保冷ケースを利用したマールの貯蔵(チューク州)

イスボックス（第9図）や大きなバケツが使用されることもある。早ければ、加工後数カ月目から利用でき、数年以上の貯蔵が可能である。食べるときは、貯蔵場所から取り出した「マール」をこねた後、バナナやパンノキの葉で包み、茹でる。ポンペイ島やヤップ島では、ごくまれにみられる程度であったが、チューク州では、調査した3島のどこにでもよくみられ、とくに主島ウエノ島では、ほとんどの露店に茹でられた「マール」が並べられ、販売されていた（第10図）。これまでの3州の調査時期は、年次は異なるものの、いずれも10月中旬から11



第10図 バナナとパンノキの葉で包まれて販売されるマー  
ル(チューク州)

月下旬であったことを考えると、季節による違いは、ほとんどの考慮しなくともよいと思われる。そのため、なぜチューク州で「マー」が多く見られるかは、パンノキの種類と収穫期、他作物との関係や輸入食料の量など今後の調査にゆだねなければならないが、チューク州におけるこの食品への依存度がポーンペイ島やヤップ島に比べて、格段に高いことは間違いないと思われる。

#### 4. その他の作物

いずれの州でも、主島ではキャッサバ (*Manihot esculenta* Crantz) の栽培も多い。他に料理用バナナ (*Musa* spp.) も多く見られる。また、日本のサトイモ (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) と同種の作物もよく見られる。

#### 要 約

ミクロネシア連邦で栽培される主な作物は湿地性のタロイモであるジャイアントスワンタロ、ヤムイモ類、パンノキである。ジャイアントスワンタロは湿地が必要であるので、栽培前に湿地の造成が必要となるが、周年で

の収穫が可能である。ヤムイモやパンノキは収穫期に季節性があるため、パンノキからは発酵貯蔵食品が製造されている。

キーワード：ジャイアントスワンタロ、パンノキ、ミクロネシア、ヤムイモ

#### 引用文献

- Galbraith, K., G. Bendure and N. Friary. 2000. Micronesia (4th edition). p.224-225. Lonely Planet Publications. Australia.
- 今西錦司・吉良龍夫. 1975. ポナペ島－生態学的研究－(復刻版). 今西錦司編. p.205-210. 講談社.
- 印東道子. 2005. ミクロネシアを知るための58章. 印東道子編. p.16-19. 明石書店, 東京.
- Merlin, M., A. Kugfas, T. Keene, and J. Juvik. 1996. Plant People and Ecology in Yap. p.55-70. East-West Center. Hawaii.
- Nakano, K. and M. Onjo 2003. An overview of aroid cultivation on atoll in the Pacific Ocean. Kagoshima Univ. Res. Center for the Pac. Islands Occasional Papers. 39: 87-89.
- Onjo, M., K. Nakano, S. Tominaga, K. Tsuda, K. Ichitani and B.J. Park. 2003. Agricultural and food supply on Ulithi Atoll. Kagoshima Univ. Res. Center for the Pac. Islands Occasional Papers. 39: 51-54.
- Ragone, D. 1997. Breadfruits. pp74. IPGRI. Rome.
- Raynor, B., A. Lorens and J. Phillip. 1991. Traditional yam cultivation on Pohnpei, Eastern Caroline Islands, Micronesia. Economic Botany. 46: 25-33.
- Sakamaki, Y., M. Onjo and S. Taura. 2001. Sustaining agricultural production in Yap. An assessment of pest insects and plant diseases. Kagoshima Univ. Res. Center for the Pac. Islands Occasional Papers. 34: 101-104.

付 錄

農場研究報告投稿規程および原稿作成要領 (平成21年6月改定)

(投稿規程)

- 鹿児島大学農学部農場研究報告（以下、本報告と呼ぶ）に掲載する論文は、農学部教員、技術職員、学生などが、原則として農場の施設、設備、生産物などを利用して行った学術的に価値があり、かつ農業現場において利用価値のある未発表の原著論文、総説および資料とする。
  - 原著論文：
  - 総説：農業科学・技術に関する特定の研究課題について、関連分野の業績を引用し、研究動向及び研究の解決の方向に関して著者の課題意識に基づいて論説したもの。
  - 資料：農学に関する学術情報、統計等を解説的に紹介したもの。  
技術および検査方法等を教育的に解説したもの。  
環境因子（土壤、気象、生物など）の記録・分析結果、部局発展の歴史など。
- 論文の投稿者は原則として農学部教員（退職者または転任者を含む）であること。技術職員、学部学生、大学院生、研究生および留学生が筆頭著書のときは教員が共著者であること。学部外の共著者については、所属先の所在地を併記する。
- 本報告に掲載された論文の著作権は、鹿児島大学農学部農場研究報告編集委員会（以下、編集委員会と呼ぶ）に帰属する。また、本報告を他に利用しようとする場合、当該利用者は、あらかじめその利用につき編集委員会の許可を得なければならない。
- 投稿予定者は9月30日までに、著者名、所属、表題、種類（論文－和文・英文、総説、資料）および本文、図、表を含む原稿の刷り上がり頁数を記載した「投稿原稿申し込みカード」を編集委員会事務局（農場事務担当係長）に提出する。
- 論文は和文、英文のいずれも受け付けるが、下記に定める原稿作成要項に基づいて作成する。
- 作成した原稿は、正1部、コピー2部を11月30日までに編集委員会事務局に提出する。その際は一括して大形封筒に入れ、編集委員会指定の「投稿原稿送付カード」を貼り付ける。「投稿原稿送付カード」に記載する事項は、投稿責任者とその連絡先および著者名、所属機関名、表題、別刷希望数、原稿（本文、図、表、写真等）の枚数などである。なお、投稿が11月30日を超えた場合は投稿辞退とみなすものとする。
- 投稿原稿は投稿された日を受付日とし、編集委員会によって採択された日をもって受理日とする。受付日と受理日は論文の第1頁目の脚注に記載する。
- 受付原稿は編集委員会が選定した校閲者により、校閲を受ける。また、受付原稿について編集委員会はその内容、字句について、加除・訂正を行うことがある。
- 印刷経費についてはその年度の実状に応じて、著者にその一部を請求する場合がある。カラー印刷の図版（写真を含む）は実費の全額を著者負担とする。
- 別刷は論文1篇につき100部まで無償とし、それを超える分の経費については著者負担とする。
- 投稿者がカラー写真代等の著者負担金の支払いを怠っているときは、論文掲載を保留することがある。
- 原稿が採択された場合は、最終稿1部と、それを納めた電子ファイルを編集委員会事務局に提出する（図、写真を含む）。
- 原稿と電子ファイルは、印刷終了後に返却する。
- 「投稿原稿申し込みカード」と「投稿原稿送付カード」は、別添カードをコピーして使用するものとする。
- この規程に定めのない事項は、編集委員会が処理するものとする。

(原稿作成要領)

- 投稿原稿は「Word」または「一太郎」を用いて執筆し、A4判用紙に印刷する。  
書式設定は、和文は1頁を40字×25行、英文は1頁を60字×25行（語間のスペース、ピリオド、ハイフン等を含む）とし、字の大きさは12ポイントで、行間を充分にあけて横書きにする。余白は上下左右とも25 mm程度あけ、用紙の下端部中央に頁数を明記する。
- 和文論文の内容区分および配列は以下のとおりとする。  
①表題、②著者名、③所属機関名および所在地、④以上の①～③の英文訳、⑤Summary、⑥Key Words（英文）、⑦キーワード（和文）、⑧本文（原則として緒言、材料および方法、結果、考察、⑨要約、⑩引用文献、⑪表、図、写真の順とする。ただし、結果と考察を一括して結果および考察としてもよい。また、謝辞を入れる場合は要約の最後に続けて記載する。）

## 3. 表紙の書き方は次のとおりとする。

- 1) 表題, 著者名, 所属機関名, その所在地は英文訳を付けて原稿の1枚目に記す. さらに, 内容を端的に表す略表題(ランニングヘッド)を記入する. 和文では28字以内, 英文では40字以内とする.
- 2) 著者が複数で同一機関に所属する場合は著者名を連記し, 次欄に所属機関名とその所在地を記す. 著者が異なる機関に所属する場合は, 著者名を連記し, その右肩に肩付き数字<sup>[1, 2, ...]</sup>を付け, 次欄に数字ごとに所属機関名とその所在地を記す. 投稿責任者氏名の右肩に\*を付して, 脚注に「\*Corresponding author. E-mail: xxxx@yyy.zz.jp」と記す. なお, 著者に所属機関の変更が生じた場合は著者名の右肩に<sup>[a, b, ...]</sup>を付し, 脚注にその旨を記す(投稿責任者を除き, 所在地の記述はしない).
- 3) 上記和文記載の英訳については, 著者名は名, 姓の順に書き, 所属機関名とその所在地はイタリック表記とする.

4. Summaryは原稿の2頁より始め, 1行65字ダブルスペース25行を原則として記載する. 字数は400字以内とする. Summaryに続けて, 5語以内のKey wordsおよび日本語のキーワードを加え, いずれもアルファベット順(ABC順)に記載する.

5. 3頁以降は, 諸言, 材料および方法, 結果, 考察, 要約(謝辞), 文献の各項目に区分して記述する.

- 1) 句読点は「, .」とする. また, 句読点, 括弧, ハイフン等は全角とし, 数字は半角とする. 数字と単位の間に半角スペースを挿入する. ただし, ℃, %の場合に限り, スペースは挿入しない.
- 2) 数字は原則として, アラビア数字を用いるが, 熟語として使用されている数字は漢字とする(例:一部, 一度).
- 3) フォントの指定は, ゴシック体~~~~~~~, イタリック体~~\_\_\_~~, のように該当語の下に赤線で入れる.
- 4) 文献引用の記載については, 単名の場合は(藤巻, 2002; 稲葉, 2003; Mowlen, 1987), 2名の場合は(中條・堀込, 1998), 3名以上の場合は(Bakkeら, 1997; 藤川ら, 1971)のように記載する(番号, 記入は廃止する).
- 5) 文献の記載順序は, 筆頭著者, 2番目以降の著者を含め, ABC順とする. 著者名がすべて同一の場合は, 年代順とし, 同一著者かつ同一年の場合は発表年のあとにアルファベットを附記し区別する(例: 大森, 1999a, b).
- 6) 用語, 単位など

数字は, 算用数字を用い, 度量衡の単位および略語はCGS単位またはSI単位を用いる. 数字および英字は半角文字を用いる.

[例] 度量衡の単位および略語

mol, mmol, N, %, m, cm, mm, nm, pm, cm<sup>2</sup>, kl, dl, l, ml, μl, kg, g, mg, μg, ng, pg, hr, min, sec, rpm, Hz, Bq, cpm, dpm, ppm, ppb, ℃, J, pH, Ld<sub>50</sub>, IU, kDa

## 7) 外国語

外国名, 外国機関名等は, 原語のまま第1字を大文字で記述する. ただし, 国名, 地名等は原則としてカタカナで表示する.

## 8) 動植物名および学名

動植物名は, 原則として漢字を使用する. ただし, 一般的に使用されているものに限り, それ以外のものは, カタカナで表示する. 学名は, 初出の箇所では, 必ず2名法による正式名を記す. それ以外の箇所では混乱の起こらない限り, 属名はイニシャルのみとしてよい. 種名について論ずる場合等はこの限りでない. 学名はイタリック体とし, 命名者名は普通字体とする(英文も同じ).

## 9) 薬品名など

薬品・機器名: 原則として, 薬品名は一般名または局方名をカタカナで表示し, 機器名等は一般に使われている名称を和文で表示する.

## 6. 表・図(写真)の作成は次のとおりとする.

- 1) 表, 図(写真)は1枚ごとに作成する. 表題および説明は和文, 英文のいずれでも可とする. 表, 図(写真)はそれぞれ第1表(Table 1), 第1図(Fig. 1)というように一連の番号を付ける.
- 2) 表はエクセルで作成する. 表の表題は表の上側に置く. 表中の縦罫線は使用しない. 脚注を示すにはアルファベットの逆順に<sup>(z, y, x, ...)</sup>肩付けする. 統計的有意差を示すにはアルファベットの正順に<sup>(a, b, c, d, ...)</sup>用い, その旨を脚注に示す. アステリクス(\*5%, \*\*1%)の使用は可.
- 3) 写真は, 図と記載して一連の番号をつける. カラー印刷を希望する場合は, その旨を明記する(費用は著者負担).
- 4) 図(写真)の表題および説明文は, 図の番号順にまとめて別紙に記載し, 図の前に置く.
- 5) 表, 図には, それぞれ右肩に黒鉛筆書きで筆頭著者名と番号を記入する.
7. 本文中の表, 図, 写真の挿入箇所は, 原稿の右欄外に赤字で指定する.
8. 引用文献の記載は次のとおりとする.

- 1) 記載順序は、2番目以降の著者名を含め、全てアルファベット順とし、著者名が同一の場合は発表年順とする。
- 2) 文献記載は、著者名、年次、表題、誌名、巻、頁とする。
- 3) 引用文献リスト中の英数字の後に付すコンマ (,)、ピリオド (.)、セミコロン (;)、コロン (:) は半角文字とし、その後に半角スペースを挿入する。誌名の短縮形は、それぞれの学会誌の指示に従うものとする。各巻を通じて頁を付してある場合は、巻のみとし、号数は省略する。
- 4) 私信や未発表のデータを引用する場合は、引用文献に記載せず、本文中の引用箇所にそれぞれ（私信）、（未発表）と記す。ただし、投稿して受理されたものは、印刷中（in press）を巻の後にカッコ付けて付し、引用文献に列記する。
- 5) 単行本の場合は、著者名、年次、書名、頁、発行者、発行地とする。
- 6) 訳本の場合は、著者名、年次、書名（訳者名）、頁、発行者、発行地とする。
- 7) その他、引用文献記載は所属学会誌に準ずるものとする。なお、英文論文の文献リストにおいては、日本語論文の場合は（In Japanese）を末尾に、日本語論文でSummaryないしはAbstractがある文献には（In Japanese with English summary (or abstract)）を末尾に記入する。日本語で書かれた単行本の場合、英文の題名、著者名、出版社名などがあるときは、ヘボン式ローマ字で表記し、いずれも（In Japanese）を末尾に記入する。

[引用文献の例]

- Bakke, H., T. Steine and A. Eggum. 1997. Flavour score and content of free fatty acids in goat milk. *Acta Agric. Scand.* 27: 245-249.
- 中條忠久・堀込 充. 1998. おおつぶ星. 品種登録. 6926.
- 藤川琢磨・浜島守男・安田耕作. 1971. 短鎖脂肪酸を含むグリセリドのガスクロマトグラフィーによる脂肪酸組成分析法. 油化学. 20: 138-143.
- 藤巻 宏. 2002. 生物統計解析と実験計画. p.86-98. 養賢堂. 東京.
- 稻葉昭治. 2003. 野菜のポストハーベスト. p.152-190. 矢沢 進編著. 図説野菜新書. 朝倉書店. 東京.
- Mowlen, A. 1987. 家畜. p.78-87. Broom, D. M. 編著. 動物大百科第10巻（正田陽一監修. 澤崎徹他共訳）. 平凡社. 東京.

9. 英文原稿の内容区分および配列

- 1) 表紙に Title, Author(s)' name(s), Affiliation(s) and Mailing address(es), 2頁に Summary, Key Words, 3頁以降に Text (Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References), 和文要約（表題、著者名、所属機関名および所在地を記入）を順番に作成し、最後に Tables and Figures を添付する。ただし、表紙にランニングヘッド（英文）を記入して置く。
- 2) 原稿は著者の責任において文法上の誤りのないようにし、提出前に熟達者の校閲を受けること。外国人英文校閲者の紹介は、編集委員会では行わない。

10. 資料および総説の内容区分と配列

- 1) 資料は、表紙に①表題、②著者名、③所属機関名および所在地、④以上の①～③の英文訳、2頁以降に⑤本文（体裁は投稿者の裁量とする）、⑥要約、⑦キーワード、⑧引用文献を番号順に作成し、最後に⑨表、図、写真を添付する。
- 2) 総説は、資料の内容区分から⑥要約、⑦キーワードを除いた形で執筆・配列する。

11. 執筆に当たっては、本報告の最新号に掲載してある論文を参照すること。

---

鹿児島大学農学部農場研究報告  
第32号

平成22年3月12日 印刷  
平成22年3月16日 発行

編集兼発行 鹿児島大学農学部附属農場  
〒890-0065 鹿児島市郡元一丁目21番24号  
電話 (099) 285-8771 (代)

印 刷 斯文堂株式会社

---

