

発芽期および幼植物の発達初期において
耐塩性の異なる植物が塩ストレス条件下で示す
応答についての研究

(The study on response of plants whose
tolerance is differ under salt stress at seed
germination and early seedling development)

松 本 法 子

2015

目 次

	頁
第1章 序 論	1
第2章 発芽期の応答	
2-1 耐塩性の異なる4種の植物の塩ストレス下における発芽率の経時的変化	
1. 目 的	5
2. 材料と方法	5
3. 結 果	7
4. 考 察	9
5. 要 約	11
2-2 耐塩性の異なる4種の植物が塩ストレス下において発芽を開始するまでの期間における水分含有率の経時的変化	
1. 目 的	13
2. 材料と方法	13
3. 結 果	14
4. 考 察	16
5. 要 約	18
2-3 要 約	19
第3章 幼植物の応答	
3-1 100 mmol L ⁻¹ NaCl 処理下においてインゲンの幼植物はどのような応答を行うか	

1. 目的	20
2. 材料と方法	21
3. 結果	23
4. 考察	30
5. 要約	32
3-2 50 mmol L ⁻¹ NaCl 処理下においてインゲンの幼植物はどのような応答を行うか	
1. 目的	34
2. 材料と方法	34
3. 結果	36
4. 考察	43
5. 要約	44
3-3 100 mmol L ⁻¹ NaCl 処理下においてキャベツの幼植物はどのような応答を行うか	
1. 目的	45
2. 材料と方法	45
3. 結果	47
4. 考察	51
5. 要約	53
3-4 50 mmol L ⁻¹ および 100 mmol L ⁻¹ NaCl 処理下においてズッキーニの幼植物はどのような応答を行うか	
1. 目的	54

2. 材料と方法	54
3. 結果	56
4. 考察	60
5. 要約	65
3-5 要約	66
第4章 総括	68
謝辞	71
参考文献	72
要約	77
英文要約	79
学位論文の基礎となる学会公表論文のリスト	81

第1章 序論

1) 乾燥地の砂漠化と塩類集積

国連環境計画 (UNEP) およびミレニアム生態系評価 (MA) によれば、乾燥地とは、年間の降水量を可能蒸発散量で割った値である、乾燥度指数の値が 0.65 よりも低い地域をいう (篠田 2009)。乾燥地は地球上の総陸地面積 $153 \times 10^6 \text{ km}^2$ のうち 41.3% を占め、面積では $60.9 \times 10^6 \text{ km}^2$ に及んでいる。現在、世界の人口の約 3 分の 1 に相当する 20 億人以上の人々がそこで生活している (Adeelら 2005) が、気候変動に関する政府間パネル (IPCC) の報告書によると、現在の人口増加率、気候変動、現在の水消費のパターンが続くと仮定すれば、2025 年にはその人数は 50 億人にも達する、とされている (マスリン 2006)。

乾燥地の 10 から 20% では砂漠化のような土壌の劣化が進んでいる (篠田 2007)。砂漠化の原因には降水量の減少や高温化など気候の変動によるものと過度の土地利用や不適切な水管理など人為的な要因によるものがある (山本 2008)。人為的な要因としては森林の過伐採、過放牧による植生の過剰利用、農地の不適切管理、不適切な施肥、塩類の集積などが挙げられる。このうち塩類の集積は次のような過程を経て進行する。

乾燥地では水資源が不足しているため、良質な水は優先的に都市用水に配分され、農業用水としては地下水、排水および汚染処理水などの塩を含んだ水を使用する頻度が増加している。不適切な水管理により、塩類を多量に含んだ地下水面が上昇する。高温で降水量が少ない乾燥地では蒸発によって水分が失われ地表面に塩類が集積するのである。耕作可能な乾燥地域のうち灌漑農地は約 $1.5 \times 10^6 \text{ km}^2$ であるが、特に

灌漑農地では、塩類の集積による作物生産の減少が問題となっている。乾燥地に限らず、世界の食料の3分の1を生産している、灌漑農地の約20%は塩により影響を受けている、と試算されている(Xuら 2011)。

2) 人口増加と食料増産の必要性

世界の人口は急速に増加しており、国連(2013)によると、2050年の世界人口の予測は95.5億人であり、2062年には100億人を超えると予測されている。人口の増加に伴って食料需要も一層増大することが予想されている。FAO(2006)によれば、開発途上国では、穀物需要が1999年から2001年の3か年平均である11億トンから、2050年には21億トンにまで増大し、それに対応するため、3億トンを輸入せざるを得ないと予測されている。しかし、耕作適地や灌漑用水は減少している(Cakmak 2002)。地球温暖化の進行により、水の蒸発量が増加すれば水の供給はさらに不足し、灌漑農地の塩類化が進行する。また、海面の上昇による帯水層の塩水化や農地の塩害も懸念されている(マスリン 2006)。

したがって、食料増産のためには塩類の集積した農地を活用することが必要となる。このような農地で安定した食料確保を行うためには、塩類に対して耐性を持つ植物の栽培が有用であり、塩に対して耐性を持つ植物が塩ストレスに対してどのような応答を行っているのかを解明することは極めて重要となっている。

3) 植物の耐塩性は変化する

塩類の集積した農地の活用と人口増加による食料増産の必要をともに解決するためには、塩に対する耐性の強い植物の栽培を行うことが急務とされている。中生植物

の耐塩性についてはこれまで広く研究されており、その耐性の強弱についても分類が行われている(FAO 2002)。しかし、植物の耐塩性は、生育の全期間を通じて一定ではない(Nukayaら 1984)。

複数の研究者が生育段階によって塩ストレスに対する耐性が変化することを確認している。例えば、オオムギ、コムギ、トウモロコシでは発芽時や生育の後期、穀粒が発達する段階(grain development)に比べて、幼植物が生長する時期において塩に対する耐性が弱い(Mano and Takeda 1995、Maas and Poss 1989、Kaddah and Ghowail 1964)。栄養生長期のトマトは、幼植物の初期に塩類環境にさらすと著しく塩ストレスの影響を受ける(Dumbroff and Cooper 1974)。イネでは、品種によって塩に対する耐性の強い時期が異なる。オーストラリアのイネ(品種 Pelde)は、発芽時において塩に対する耐性が強い。しかし、栄養生長期の初期や、生殖生長期においては塩に対する耐性が最も弱い。一方、日本のイネ(品種 ソメワカ)は、発芽時や栄養生長期には塩に対する耐性が弱い、生殖生長期においては塩に対する耐性が最も強い(Heenan 1988)。

植物の中には、生長するために塩類を必要とする植物があり、これを塩生植物というが、塩生植物であっても発芽期においては、生長した植物と比較して塩に対する耐性が弱い傾向にある(Ungar 1996)。例えば、*Gypsophila ob lanceolata* の種子は 100 mmol L⁻¹を超える濃度の NaCl 溶液では発芽できない(Sekmenら 2012)。しかし、栄養生長期においては 300 mmol L⁻¹ NaCl でも生存することができる。また、*Casuarina equisetifolia* の種子は、50 mmol L⁻¹ NaCl における発芽率が 0 mmol L⁻¹ NaCl における発芽率の約半分に低下する。しかし、その幼植物は 500 mmol L⁻¹ NaCl でも生存することができる。(Tani and Sasakawa 2003)。

したがって、中生植物および塩生植物は生育段階のいずれかの段階で塩に対する

耐性が変化する。しかし、その時期については明らかではない。

4) 本研究の目的

本研究では、植物の塩に対する耐性がいつ変化するのかを明らかにするために、まず発芽期に注目した。種子の発芽は、その後の植物の生育および作物の収量にも影響を及ぼすため、植物の生育過程において重要な段階である(Bewley 1997)。第2章では、塩に対する耐性の異なる4種の野菜を供試植物として、塩ストレス下における発芽率の経時変化を調査した。その後、塩ストレスが播種から発芽までの期間において吸水を阻害しているかどうかを調査した。続いて第3章では、発芽後の幼植物を用いて、塩ストレスを開始する時期の違いがその生育にどのような影響を与えるのかを調査した。

第2章 発芽期の応答

2-1 耐塩性の異なる 4 種の植物の塩ストレス下における発芽率の経時的変化

1. 目的

植物の耐塩性は、生育段階によって異なることが知られている。しかし、耐性が変化する時期がいつであるのかについては明確にされていない。そこで、収穫期における耐性が強いアスパラガス、やや強いズッキーニ、やや弱いキャベツおよび耐性が弱いインゲンを用いて、塩ストレス下における発芽期の応答を調査することにした。まず、4種の植物の発芽率を経時的に観察することにより、耐性の違いにより、発芽率に差が生じるのかどうかを確認した。

2. 材料と方法

1) 供試植物

供試植物としては、FAO の分類により、塩に対する耐性が強いアスパラガス (*Asparagus officinalis* 品種 ポールトム)、やや強いズッキーニ (*Cucurbita pepo* 品種 ダイナー)、やや弱いキャベツ (*Brassica oleracea* var. *capitata* 品種 金系 201 号)、耐性が弱いインゲン (*Phaseolus vulgaris* 品種 ナール) の4種を用いた。いずれの種子も栽培用に市販されているものを使用した。

2) 栽培条件

播種前にアスパラガスのみ次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素 $\approx 1\%$)に15分間浸漬して種子の表面を殺菌した。アスパラガス、ズッキーニ、インゲンについては20 mLの0(蒸留水、対照区とする)、50、100、150または200 mmol L⁻¹ NaClを加えた10 cm × 15 cmのプラスチックトレイに脱脂綿を敷き、その上に播種した。キャベツについては20 mLの0(蒸留水、対照区とする)、50、100、150または200 mmol L⁻¹ NaClを加えた6.5 cm × 6.5 cmのプラスチックポットに脱脂綿を敷き、その上に播種した。各トレイまたはポットあたり30粒(インゲンのみ15粒)の種子を用いた。各処理について4反復で実験を行った。

ポットおよびトレイにはプラスチック製の蓋をし、暗所25°Cの培養室内で栽培を行った。ポットおよびトレイは毎日重量を測定し、塩濃度が一定となるよう、蒸留水を補充した。発芽した種子の数はズッキーニ、キャベツおよびインゲンについては7日まで、アスパラガスについては14日まで毎日記録した。種子から幼根が1から2 mm伸び出した時点を発芽と判断した。

3) 統計処理

植物種ごとに、塩処理濃度の違いによる発芽率につき統計処理ソフト Graph-Pad Prism(version 5.04 for Windows)を用いて、有意確率 $p < 0.05$ で1元配置分散分析を行った。有意性が認められた場合、Tukeyの方法による多重比較($p < 0.05$)により各処理間の有意差を求めた。

3. 結果

4種の植物はNaClストレスに対して異なった反応を示した(図2-1)。塩に対する耐性が弱いインゲン(図2-1A)は播種後速やかに発芽した(図2-1A)。播種後2日における200 mmol L⁻¹ NaCl処理区のインゲンの発芽率は65%であり、他の処理区に対して有意に低かった。しかし、播種後3日までに他の処理区とほぼ同じ90%以上の発芽率となった。

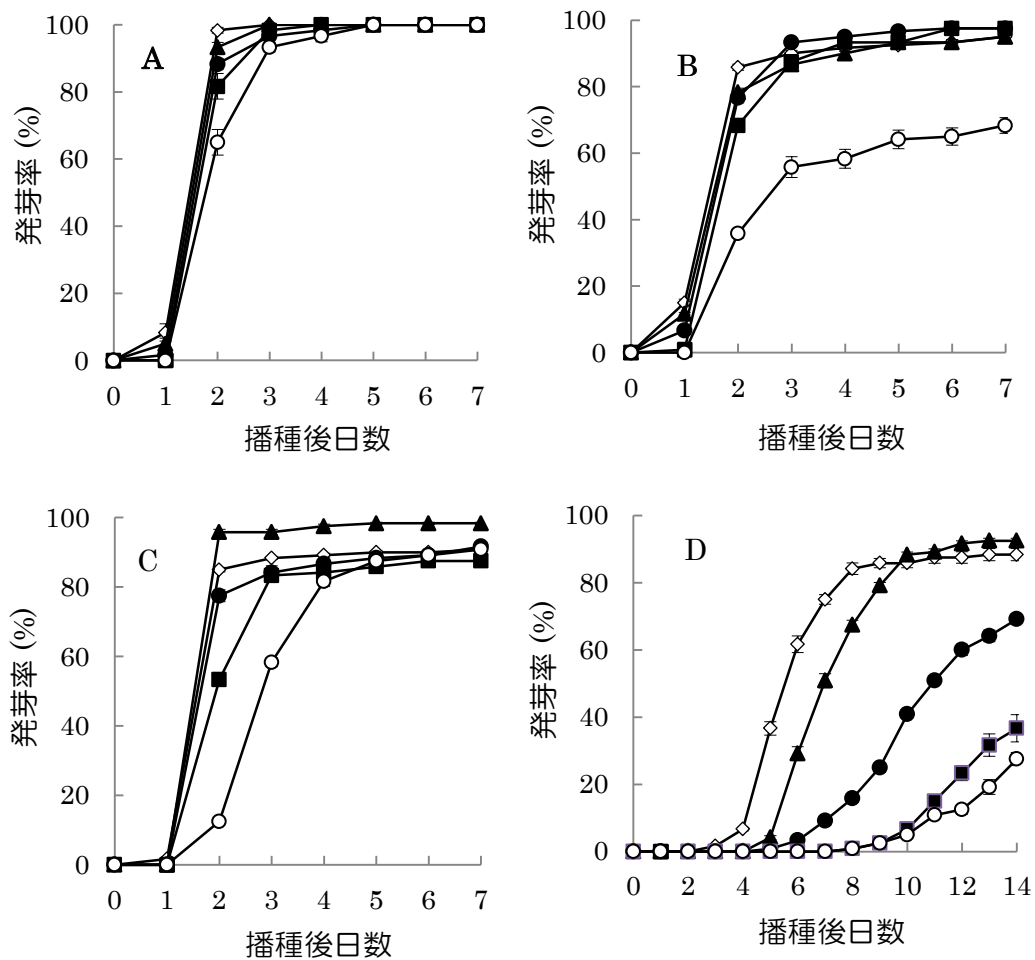


図2-1 NaCl処理下における4種の植物の発芽率

A:インゲン、B:キャベツ、C:ズッキーニ、D:アスパラガス。
 ◇:0(対照区)、▲:50、●:100、■:150、○:200 mmol L⁻¹ NaCl。
 データは4反復の平均値±標準誤差で示している。

塩に対する耐性がやや弱いキャベツも播種後速やかに発芽した(図 2-1B)。播種後 2 日における発芽率は 150 mmol L⁻¹ NaCl 処理区が 68%、200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区が 36%であり、対照区に対して有意に低かった。150 mmol L⁻¹ NaCl 処理区は、播種後 3 日までに対照区とほぼ同じ約 90%まで上昇した。しかし、処理濃度が最も高かった 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区は実験を終了した播種後 7 日まで他の処理区より有意に低いままであった。

塩に対する耐性がやや強いズッキーニでは、高濃度の NaCl 処理区において発芽の開始が遅れが認められた(図 2-1C)。播種後 2 日の発芽率は 150 mmol L⁻¹ NaCl 処理区が 53%、200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区が 12%であり、他の処理区より有意に低かった。しかし、播種後 3 日までに 150 mmol L⁻¹ NaCl 処理区は 83%に達し、播種後 4 日には 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区は 82%に達した。これは対照区の種子が 2 日までに示した発芽率に近い数値であった。播種後 6 日および 7 日になると、各処理区の間には有意差は認められなくなった。最終的な発芽率は全ての処理区において 80%以上であった。

塩に対する耐性が強いアスパラガスの種子は他の種に比べてさらに発芽が遅れた(図 2-1D)。アスパラガスの場合、対照区の種子が発芽を開始したのは播種後 3 日であった。播種後 8 日までは、全ての NaCl 処理区におけるアスパラガスの発芽率が対照区より有意に低かった。しかし、50 mmol L⁻¹ NaCl 処理区は、播種後 9 日以降、対照区との間に有意差が認められなくなった。また、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理区は、播種後 13 日以降、対照区との間に有意差が認められなくなった。

NaCl 濃度が増加するにつれて発芽の開始が遅れる期間は長くなり、最終的な発芽率も低くなった。播種後 14 日における発芽率は、50 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の 92%から 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の 27%までの範囲であった。

4. 考 察

4種の植物の中で、塩に対する耐性が弱いインゲンは、最終的な発芽率がNaClストレスにより低下することはなかった(図 2-1A)。インゲンの種子は 150 mmol L⁻¹ および 200 mmol L⁻¹ NaCl のような高濃度の塩処理下でも著しい遅れを示すことなく発芽し、全ての NaCl 処理区において 3 日以内に 90%以上の種子が発芽した。これらの結果は、インゲンの種子が塩処理下であっても吸水を開始するとすぐに発芽を開始することを示している。

塩に対する耐性がやや弱いキャベツの発芽率は、最も高い処理濃度であった 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区では播種後 7 日まで低いままであったが、150 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の発芽率は播種後 3 日には回復した(図 2-1B)。大沢(1965)はキャベツの地上部の収量が 50%減少する塩濃度は 9,000 ppm(概ね 154 mmol L⁻¹ NaCl に相当する)であった、と報告している。200 mmol L⁻¹ NaCl 処理はこれより高濃度の処理であり、キャベツの発芽率は、その収量が著しく減少するような高い塩濃度では低いままであることを示している。Jamilら(2007)は秋キャベツと春キャベツの発芽率について調査している。秋キャベツの種子は 9.4 dS m⁻¹(概ね 80 mmol L⁻¹ NaCl に相当する)の塩処理下でも 70%以上の発芽率を示した。一方、春キャベツの発芽率は約 50%に留まっていた。さらに Jamilらは塩ストレス下で高い発芽率を示した秋キャベツは、春キャベツに比べて、発芽を完了するまでにより多くの時間を要した、と述べている。これは、同じ植物種であっても塩に対する耐性が強い品種においては発芽に遅れが生じることを示している。

ズッキーニの種子は 150 mmol L⁻¹ NaCl および 200 mmol L⁻¹ NaCl といった高濃度の塩処理下では、播種後 1 日および 2 日において発芽に遅れが認められた(図 2-1C)。しかし、それらの処理区の発芽率は、播種後 3 日および 4 日において急激に上昇した。FAO(2002)によると、ズッキーニのように塩に対する耐性がやや強い植物の収量が

50%減少する ECe の値は 10-15 dS m⁻¹(概ね 95-140 mmol L⁻¹ NaCl に相当する)である。したがってズッキーニの種子は、その果実収量が著しく減少する高濃度の塩処理下においても 80%以上の発芽率を維持することができる。Sorkhi Lalelou ら(2013) は naked pumpkin (*Cucurbita pepo*) の発芽率について調査している。これによると、60 mmol L⁻¹ および 120 mmol L⁻¹ NaCl の塩処理下において naked pumpkin の発芽率には有意差は認められなかった。しかし、60 mmol L⁻¹ および 120 mmol L⁻¹ NaCl の塩処理下における発芽速度については有意差が認められた。さらに 120 mmol L⁻¹ NaCl 処理下における発芽速度は 60 mmol L⁻¹ NaCl 処理下における発芽速度に比べて遅かった。Sorkhi Lalelou らは最終的な発芽率を測定した日数を明らかにしてはいないが、240 mmol L⁻¹ NaCl 処理区における naked pumpkin の発芽率は約 30%であった。したがって、ズッキーニにおいても 200 mmol L⁻¹ NaCl を超える濃度の塩処理下では発芽率が低いままである可能性も考えられる。

塩に対する耐性が強いアスパラガスでは、NaCl 濃度が増加するにつれて発芽に遅れが生じた(図 2-1D)。本研究では播種後 14 日で実験を終了したため、アスパラガスの最終的な発芽率を測定していない。Uno ら(1996)は播種後 14 日のアスパラガスの発芽率について 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理区では 50.0%であり、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理区では 11.5%である、と報告している。しかし、Uno らは発芽率の経時的な変化については言及していない。これらの結果から、塩に対する耐性が強い植物種は、高濃度の塩ストレス下においては発芽に先立って浸透調節等を行い、その後吸水を行うのではないかと仮説を立てた。

なお、発芽率については、塩に対する耐性だけではなく、種子の持つ特性によって変化した可能性も考えられるため、種子の表面および粒子の大きさについても考察を行うことにする。Harperら(1966)は、種子の表面の滑らかさと発芽率との関係を調査している。種子の表面が粘性の物質で覆われている *Lepidium sativum* や *Camelina*

sativa の種子の発芽率は、水分張力100 cm (概ね-10 kPaの水ポテンシャルに相当する)の条件下で95%以上であった。種子の表面が滑らかで大粒であるソラマメの発芽率は最も低く、水分張力0 cm (概ね-0.1 kPaの水ポテンシャルに相当する)の条件下でも発芽することができなかった。種子の表面が同じ状態であれば、小さい粒の種子の方がよく発芽した。本研究で用いた種子の大きさは、大きい順にズッキーニ(耐性がやや強い)、インゲン(耐性が弱い)、アスパラガス(耐性が強い)、キャベツ(耐性がやや弱い)であり、種子の大きさと塩に対する耐性とは関係していなかった。

アスパラガスの種皮は厚く、硬い(農文協 2004)。インゲン、キャベツおよびズッキーニは最適条件下では40時間以内に発芽するが、アスパラガスは発芽までに10日を要する。アスパラガスは、吸水を行うためにより時間を要することから、これが発芽までに多くの日数を要する理由の一つとされている。そこでアスパラガスの種子を播種前に2日間蒸留水に浸漬した。この処理によって発芽までの日数は短縮し、100 mmol L⁻¹ NaCl処理下での発芽率は僅かに上昇したが、発芽曲線の形は変化しなかった。

5. 要 約

塩に対する耐性が異なる4種の植物を用いて、0、50、100、150 および 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理下で発芽させ、発芽率の経時的変化を調査した。

発芽率は、塩に対する耐性によって変化した。塩に対する耐性が弱いインゲンは、高濃度の NaCl 処理下においても速やかに発芽を開始し、発芽率も高かった。塩に対する耐性がやや弱いキャベツもインゲンとよく似た傾向を示したが、最も高い塩濃度である 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区で発芽率が低くなり、それは播種後 7 日まで継続した。塩に対する耐性がやや強いズッキーニでは、高い塩濃度である 150 mmol L⁻¹ NaCl 処理区および 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区において、発芽の開始に遅れが認められた。しかし、播種後 3 日および 4 日には、発芽率が急激に上昇した。塩に対する耐性が強い

アスパラガスでは、最も低い塩濃度である 50 mmol L^{-1} NaCl 処理区から発芽の開始に遅れが認められた。アスパラガスもズッキーニの場合と同様に、発芽率がその後急激に上昇したが、実験を 14 日で終了したため、高濃度の処理区における最終的な発芽率を確認することはできなかった。

これらの結果から、塩に対する耐性が強い植物種は、塩ストレス下においては発芽に先立って、まず浸透調節等を行い、発芽を積極的に遅らせているのではないかと仮定した。

2-2 耐塩性の異なる 4 種の植物が塩ストレス下において発芽を開始するまでの期間における水分含有率の経時的変化

1. 目的

2-1において、塩に対する耐性が強いアスパラガスおよび塩に対する耐性がやや強いズッキーニは、塩ストレス下において発芽の開始が対照区に比べて遅くなった。この原因は、播種後において、これらの種子が吸水を遅らせているためではないかと考え、播種から対照区の種子が発芽を開始するまでの期間について水分含有率の経時的変化を調査した。

2. 材料と方法

1) 供試植物

供試植物は2-1と同じ植物種および品種を用いた。

2) 栽培条件

種子は脱脂綿を敷いた 10 cm × 15 cm のプラスチックトレイの上に播種した。NaCl 処理は 0 (蒸留水、対照区とする)、100 または 200 mmol L⁻¹ NaCl の 3 種類とした。各処理 4 反復で実験を行った。インゲンとズッキーニについては、発芽まで 3 時間ごとに 6 粒ずつサンプリングを行った。キャベツについては、発芽まで 3 時間ごとに 10 粒ずつサンプリングを行った。アスパラガスについては、播種後 24 時間までは 3 時間ごとに、その後は 1 日に 1 回ずつ発芽まで 10 粒ずつサンプリングを行った。採取した種子は蒸留水ですすぎ、ペーパータオルで拭いた後、新鮮重を測定した。サンプリング後、

種子は 70℃で 2 日間乾燥し、乾物重を測定した。水分含有率は次の算式で算出した。

$$\text{水分含有率} = [(\text{新鮮重} - \text{乾物重}) / \text{新鮮重}] \times 100\%$$

3) 統計処理

統計処理については、2-1と同様に行った。

3. 結果

播種前の種子の水分含有率は 5.4%から 7.7%までの範囲であった(図 2-2)。インゲンの種子の水分含有率はキャベツおよびズッキーニの種子よりゆっくり増加した。播種後 3 時間の各処理区の水分含有率は、17.8%から 20.7%までの範囲であり、処理間に有意差は認められなかった(図 2-2A)。播種後 6 時間、21 時間および 24 時間において 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の水分含有率は対照区の水分含有率より有意に低かった。播種後 18 時間においては、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理区および 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の水分含有率は対照区の水分含有率より有意に低かった。対照区の種子は、播種後 21 時間までに発芽を開始した。

キャベツの種子の水分含有率は速やかに増加し、播種後 3 時間で 26.8%から 29.5%までの範囲となった(図 2-2B)。播種後 15 時間で 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の水分含有率は他の処理区より有意に高かった。対照区の種子は播種後 18 時間までに発芽を開始した。

ズッキーニの種子の水分含有率も速やかに増加し、播種後 3 時間において全ての処理区で 30%以上となった(図 2-2C)。発芽後 12 時間と 15 時間において 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の水分含有率は 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の水分含有率より有意に

低かった。対照区の種子は播種後 21 時間までに発芽を開始した。

アスパラガスの種子の場合、水分含有率は 4 種の植物の中で最もゆっくりと増加した。播種後 3 時間の水分含有率は 16.0%から 18.7%であった(図 2-2D)。播種後 6 時間において、対照区の水分含有率は NaCl 処理区の水分含有率より有意に高かった。また、播種後 48 時間と 72 時間において 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区の水分含有率は対照区の水分含有率より有意に低かった。対照区の種子は播種後 96 時間までに発芽を開始した。

対照区の種子が発芽を開始するまでの期間における、対照区と NaCl 処理区との間の水分含有率の差は全ての種においてわずかであった。

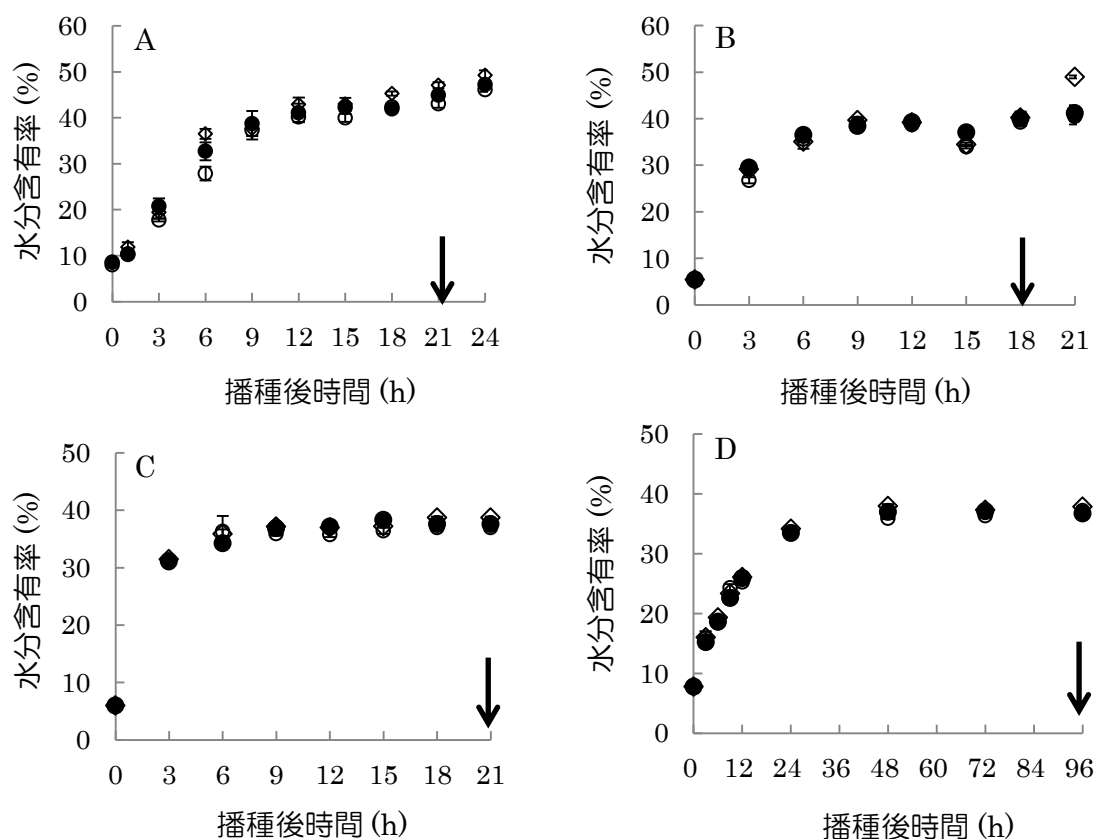


図 2-2 4 種の植物の水分含有率の変化

A: インゲン、B: キャベツ、C: ズッキーニ、D: アスパラガス。◇:0(対照区)、▲:50、●:100、■:150、○:200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区。データは 4 反復の平均値±標準誤差で示している。水分含有率はサンプリングごとに異なった種子を用いて測定した。図中の矢印は対照区の種子が発芽を開始した時間を示している。

4. 考 察

2-1において、塩に対する耐性が強い種は、塩処理下での発芽が対照区に比べて遅くなることを確認した。そこでズッキーニおよびアスパラガスの種子は、発芽に先立ってまず浸透調節等を行い、その後吸水を加速させるのではないかと、という仮説を立てた。これについて種子による吸水という観点から考察を行う。

種子による吸水には3つの段階がある(Bewley 1997)。第1段階は急速な吸水が生じる、物理的な吸水の過程である。この過程は死んだ種子においても観察される。第2段階は発芽の準備段階であり、この段階では吸水は減少し、植物は発芽に備えて生理学的な変化および代謝の変化を開始する。第3段階は発芽後、幼根によって吸水が行われる過程である。Mirandaら(2010)はcape gooseberryの種子の吸水はNaClによって影響を受けた、と報告している。しかし、Mirandaらは発芽した後の対照区の種子の吸水と、発芽する前のNaCl処理区の種子の吸水とを比較しており、これは既に吸水の第3段階にある対照区と吸水の第2段階にあるNaCl処理区とを比較していることを意味している。すなわち、第3段階にある対照区では幼根が活発に吸水を行っているのに対し、第2段階にあるNaCl処理区では種子が吸水を控えているのである。したがって、本研究では対照区の種子が発芽するまで、すなわち種子の吸水の第2段階までの期間における種子の吸水について調査した。全ての植物種において吸水前の水分含有率は10%以下であったが、発芽直前には約40%にまで増加した(図2-2)。また、植物種に関わらず、対照区的水分含有率とNaCl処理区的水分含有率にはほとんど差が認められなかった。したがって、塩に対する耐性が強い種において発芽の開始に遅れが生じるのは、発芽前に吸水を遅らせているためではないことが明らかになった。

種子の発芽はアブシジン酸(ABA)とジベレリン(GA)の拮抗作用に依存している(Ogawaら 2003)。一般的にABAは休眠を継続させ、GAは発芽を促進するといわれ

ている。ダイズにおいては塩ストレスに応答して、塩に対する耐性が強い品種である Lee68 でも、塩に対する耐性が弱い品種である N2899 でも ABA 濃度が増加し、GA 濃度は減少した(Xu ら 2011)。さらに、塩に対する耐性が強い品種である Lee68 は、塩に対する耐性が弱い品種である N2899 に比べて ABA 濃度が高くなった。本研究では種子の ABA 濃度と GA 濃度を測定していないが、アスパラガスとズッキーニにおいて ABA 濃度が増加し、GA 濃度が減少していた可能性は考えられる。ダイズにおいては塩に対する耐性が弱い品種である N2899 の発芽は、塩に対する耐性が強い品種である Lee68 に比べて遅かった(Xu ら 2011)。しかし、本研究ではインゲンと 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区を除くキャベツの発芽には遅れが認められなかった。したがって発芽の遅れは ABA と GA の関係だけでは説明できない。

また、キャベツおよびインゲンの種皮は膜状であり、ズッキーニの種皮は殻状であったが、どちらの種子においても吸水は速やかに行われ、種皮の特性によって吸水速度に差は認められなかった(図 2-2)。

塩に対する耐性が強いアスパラガスおよび塩に対する耐性がやや強いズッキーニでは、塩処理下における種子の水分含有率に差が認められなかったにも関わらず、高濃度の NaCl 処理下では発芽に遅れが生じた。植物は生物的なストレスや非生物的なストレスに対抗するために様々な防御システムを持っている。これらの防御機構は塩ストレスによって抑制されることが知られている。例えば、シロイヌナズナの病害抵抗性は 10 mmol L⁻¹ NaCl 処理によって低下することが明らかになっている(Yasuda ら 2008)。環境ストレスまたは病害に応答するための遺伝子の発現や代謝の変化には多くのエネルギーを消費する。特に種子においてはエネルギーの供給は限られており、植物はこれらのストレスに応答するため、エネルギーを分配しなければならない(Yasuda ら 2008)。アスパラガスおよびズッキーニが高レベルの NaCl 処理下において浸透調節等のために優先的にエネルギーを消費するのであれば、これによって幼根が伸長するためのエネルギーは減少し、結果として発芽の遅れを引き起こす。インゲ

ンやキャベツではこのような機構が欠落しているため、速やかに発芽が開始する、と考えられる。この仮説は 150 mmol L⁻¹ NaCl 処理下で発芽しなかったアスパラガスの種子を蒸留水に戻したところ、5 日以内にそのうち 80%の種子が発芽したという、観察によって裏付けられる。発芽期における耐塩性を判定する場合には、最終的な発芽率に加えて、発芽率の経時的な変化も調査すべきである。

5. 要 約

塩に対する耐性が異なる 4 種の植物を用いて、0、100 および 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理下で、播種から対照区の種子が発芽するまでの期間について水分含有率の変化を調査した。

塩に対する耐性が弱いインゲン、やや弱いキャベツおよびやや強いズッキーニは、播種後速やかに吸水を行い、対照区と NaCl 処理区との間に顕著な差は認められなかった。塩に対する耐性が強いアスパラガスにおいても、吸水速度については他の 3 種に比べてゆっくりしていたが、対照区と NaCl 処理区との間に顕著な差は認められなかった。

したがって、塩に対する耐性が強い種においては、吸水が遅れたために発芽の開始に遅れが生じたのではないことが明らかになった。

2-3 要約

中生植物の耐塩性については広く研究されており、塩ストレス下における生産量を基準にして、耐性が強い種、やや強い種、やや弱い種、耐性が弱い種に分類されている。しかし、塩に対する耐性は植物の生育段階によって変化する。第2章では、生育段階のうち発芽時に注目した。それは発芽が植物のその後の成長や収量に影響を及ぼすためである。

塩に対する耐性の異なる4種の植物、インゲン(耐性が弱い)、キャベツ(やや弱い)、ズッキーニ(やや強い)、アスパラガス(耐性が強い)を用いて、0(対照区)、50、100、150、200mmol L⁻¹ NaCl 処理下での発芽率を比較した。

インゲンとキャベツは対照区、NaCl 処理区ともに速やかに発芽した。ただし、キャベツでは最も塩濃度が高い処理区で発芽に遅れが認められた。ズッキーニは高濃度のNaCl 処理区で、アスパラガスでは全てのNaCl 処理区で対照区に比べて発芽に遅れが認められた。

このためズッキーニとアスパラガスの種子はまず最初に浸透調節等を行い、その後吸水を行うのではないかと仮定した。しかしどの種においても発芽までに対照区とNaCl 処理区との間には水分含有率に差は認められなかった。したがってNaCl による塩ストレスは、種子による吸水を阻害しなかった。

発芽時における耐塩性を判定する場合には、最終的な発芽率に加えて、発芽率の経時変化をも測定すべきである。

第3章 幼植物の応答

第2章では、塩に対する耐性の異なる4種の野菜の種子を用いて5種類のNaCl濃度で塩処理を行い、各処理区の発芽率の経時的変化を調査した。その結果、塩に対する耐性がやや強いズッキーニおよび塩に対する耐性が強いアスパラガスは塩濃度が上昇すると発芽開始までに日数を要し、その後発芽率が急速に上昇した。それに対して、塩に対する耐性が弱いインゲンは、高い塩濃度においても発芽の開始が遅れることなく、高い発芽率を維持した。また塩に対する耐性がやや弱いキャベツは、一定の濃度まではインゲンと同様の傾向を示したが、最も塩濃度の高い処理区(200 mmol L⁻¹ NaCl)では発芽率が低いままであり、最終的には70%に満たなかった。

したがって、塩に対する耐性が強い種および塩に対する耐性がやや強い種では、発芽までの間に塩に対する反応を行い、その後吸水を開始するのではないかと仮定した。しかし、発芽までの期間における種子の水分含有率について大きな差は認められなかった。

そこで第3章では、それらのうち3種の植物を用いて、発芽前の種子、および発芽後10日までの幼植物に50 mmol L⁻¹または100 mmol L⁻¹ NaClの塩ストレスを塩処理開始の時期をずらして与え、その後の生育がどう変化するのかを調査した。

3-1 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理下においてインゲンの幼植物はどのような応答を行うか

1. 目的

塩に対する耐性が弱いインゲンは、塩ストレス下でも速やかに発芽を開始した。その理由として、インゲンは発芽時には浸透調節等を行っておらず、種子が持っているエ

エネルギーを優先的に発芽に利用することができたためではないか、と考えた。そこで、発芽前および発芽後に塩処理開始の時期をずらして塩ストレスを与え、発芽後の幼植物の生育にどのような変化が認められるのかを調査した。

2. 材料と方法

1) 供試植物

供試植物として FAO の分類によると塩に対する耐性が弱いインゲン (*Phaseolus vulgaris* 品種 ナール) を用いた。

2) 栽培条件

8 つのプラスチックトレイ (10 cm × 15 cm) を準備した。対照区および発芽後の塩処理区用として、6 つのトレイには 20 mL の蒸留水、発芽前の 50 mmol L⁻¹ 塩処理区用として、1 つのトレイに 20 mL の 50 mmol L⁻¹ NaCl、発芽前の 100 mmol L⁻¹ 塩処理区用として、最後のトレイに 20 mL の 100 mmol L⁻¹ NaCl を入れた。プラスチックトレイには脱脂綿を敷き、その上に種子を播種した。1トレイあたり 30 粒の種子を用いた。トレイにはプラスチック製の蓋をし、25°C 暗所の培養室内に置いた。トレイは毎日重量を測定し、処理濃度が変化しないよう、蒸留水を補充した。

種子は播種後 1 日から 2 日にかけて発芽した。播種後 2 日目までに発芽した種子を 2 分の 1 強度の Hoagland 溶液 (以下、培養液という) 100 mL を入れた、200 mL 容のプラスチックポット (6.5 cm × 6.5 cm × 6.5 cm) に移した。種子を支えるためにポットにはスポンジ (6 cm × 6 cm × 2 cm) を敷いた。培養液には 0、50 または 100 mmol L⁻¹ となるよう、NaCl を添加した (処理区の詳細については、**3) 塩処理** に述べている)。ポットは毎日重量を測定し、処理濃度が変化しないよう、蒸留水を補充した。

各処理 3 反復で、1ポットあたり 8 個体とした。実験は 25°Cの培養室で蛍光灯の照明により明期 14 時間、暗期 10 時間の条件下で行った。幼根が培養液に到達するまでポットにはプラスチック製の蓋をした。

3) 塩処理

NaCl 濃度は 0 mmol L⁻¹(T₀, 対照区)、50 mmol L⁻¹(T₅₀)または 100 mmol L⁻¹(T₁₀₀)の 3 種類であるが、処理開始の時期をずらしたのは T₁₀₀ 区のみである。NaCl 処理は発芽前(-0 で表す)または播種後 2 日(-2 で表し、発芽後 1 日または 2 日のものが含まれる)、4 日(-4 で表し、発芽後 3 日または 4 日のものが含まれる)、6 日(-6 で表し、発芽後 5 日または 6 日のものが含まれる)、8 日(-8 で表し、発芽後 7 日または 8 日のものが含まれる)または 10 日(-10 で表し、発芽後 9 日または 10 日のものが含まれる)に開始した。したがって T₁₀₀₋₂ は 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理を播種後 2 日目に開始したことを示す。

収穫は播種後 15 日に行った。しかし、茎に萎れが生じたものはそれより早く収穫した。収穫後、草丈と根長および新鮮重を測定した。なお、根はスポンジから引き抜くときに切断することが多かったため、根長は参考値である。試料は 70°Cで 48 時間乾燥させ、乾物重を測定した。水分含有率は次の算式で計算した。

$$\text{水分含有率} = [(\text{新鮮重} - \text{乾物重}) / \text{新鮮重}] \times 100\%$$

4) 統計処理

データは、統計処理プログラム Graph-Pad Prism (version 5.04 for windows) を用いて有意確率 $p < 0.05$ で 1 元配置分散分析を行った。有意性が認められた場合、Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) により各処理間の有意差を求めた。

3. 結果

1) NaCl が生育に及ぼす影響

播種後 2 日における発芽率は、蒸留水に播種した 6 つのトレイ(T₀ 区および T₁₀₀₋₂ 区から T₁₀₀₋₁₀ 区用)が 86.7%から 96.7%、平均で 92.1%、T₅₀₋₀ 区が 96.7%、T₁₀₀₋₀ 区が 86.7%であった。

茎に萎れが生じたため、苗が自立できなくなり、播種後 15 日より前に収穫したのは、次の 4 処理区であった。収穫した時期と塩処理後の日数は、T₁₀₀₋₄ 区および T₁₀₀₋₆ 区が播種後 10 日 (処理 8 日間および 6 日間)、T₁₀₀₋₈ 区が播種後 11 日 (処理 5 日間)、T₁₀₀₋₁₀ 区が播種後 12 日 (処理 4 日間)であった。図 3-1-1 に播種後 8 日と、早期に収穫を行った処理区の収穫時の生育状況を示した。

播種後 8 日は、T₁₀₀₋₈ 処理区の処理から 1 日後である。T₁₀₀₋₈ 処理区および T₁₀₀₋₁₀ 処理区は、既に初生葉が展開していることがわかる。一方で、T₁₀₀₋₄ 処理区および T₁₀₀₋₆



図 3-1-1 茎に萎れが生じた処理区の播種後 8 日目と収穫時の様子

処理区では、初生葉が展開しないまま、あるいは小さい初生葉が展開した段階で茎が倒れてしまった。

収穫時の草丈および根長を表 3-1-1 に示した。草丈は発芽前に処理を開始した区では、NaCl 濃度が高くなるにつれて急激に減少した。T₅₀₋₀ 区および T₁₀₀₋₀ 区の草丈は、それぞれ T₀ 区の 55.5% および 23.4% であった。発芽後に処理を開始した区では、処理の開始が早い区ほど草丈が低かった。最も草丈が低かった T₁₀₀₋₂ 区は T₀ 区の 26.0% であり、発芽前に処理を行った T₁₀₀₋₀ 区とよく似た値を示した。T₁₀₀₋₄ 区は T₅₀₋₀ 区と、T₁₀₀₋₁₀ 区は T₀ 区と、それぞれよく似た値を示した。

根長についても草丈と同じような傾向を示した。発芽前に処理を開始した区では、T₅₀₋₀ 区および T₁₀₀₋₀ 区の根長は、それぞれ T₀ 区の 72.2% および 17.6% であった。草丈と比較すると、T₅₀₋₀ 区では根長の方が草丈より抑制の程度が低かったが、T₁₀₀₋₀ 区では根長の方が草丈より強く抑制された。発芽後に処理を開始した区では、T₁₀₀₋₂ 区が T₀ 区の 18.7% で草丈の場合と同様に T₁₀₀₋₀ 区とよく似た値を示したが、T₅₀₋₀ 区とよく似た値を示したのは T₁₀₀₋₈ 区であり、発芽後の処理においても草丈に比べて根の伸長が抑制された。

表3-1-1 収穫時の生育調査

処理区	草丈 (cm)	根長 (cm)
T ₀ (対照区, 0 mmol L ⁻¹ NaCl)	13.52 ± 0.39 a	13.42 ± 0.51 a
T ₅₀₋₀ (50 mmol L ⁻¹ NaCl, 発芽前に処理開始)	7.50 ± 0.44 b	9.69 ± 0.55 bc
T ₁₀₀₋₀ (100 mmol L ⁻¹ NaCl, 発芽前に処理開始)	3.17 ± 0.10 c	2.36 ± 0.48 e
T ₁₀₀₋₂ (播種後2日に処理開始)	3.52 ± 0.42 c	2.51 ± 0.31 e
T ₁₀₀₋₄ (播種後4日に処理開始)	7.60 ± 0.37 b	5.68 ± 0.58 d
T ₁₀₀₋₆ (播種後6日に処理開始)	9.17 ± 0.84 b	7.81 ± 0.70 cd
T ₁₀₀₋₈ (播種後8日に処理開始)	12.82 ± 0.53 a	9.84 ± 0.65 bc
T ₁₀₀₋₁₀ (播種後10日に処理開始)	13.36 ± 0.51 a	12.15 ± 0.70 ab

数値は3反復の平均値±標準誤差。1ポットの個体数は3から8個体。異なるアルファベットはTukeyの方法による多重比較($p < 0.05$)によって処理間に有意差が認められたことを示している。

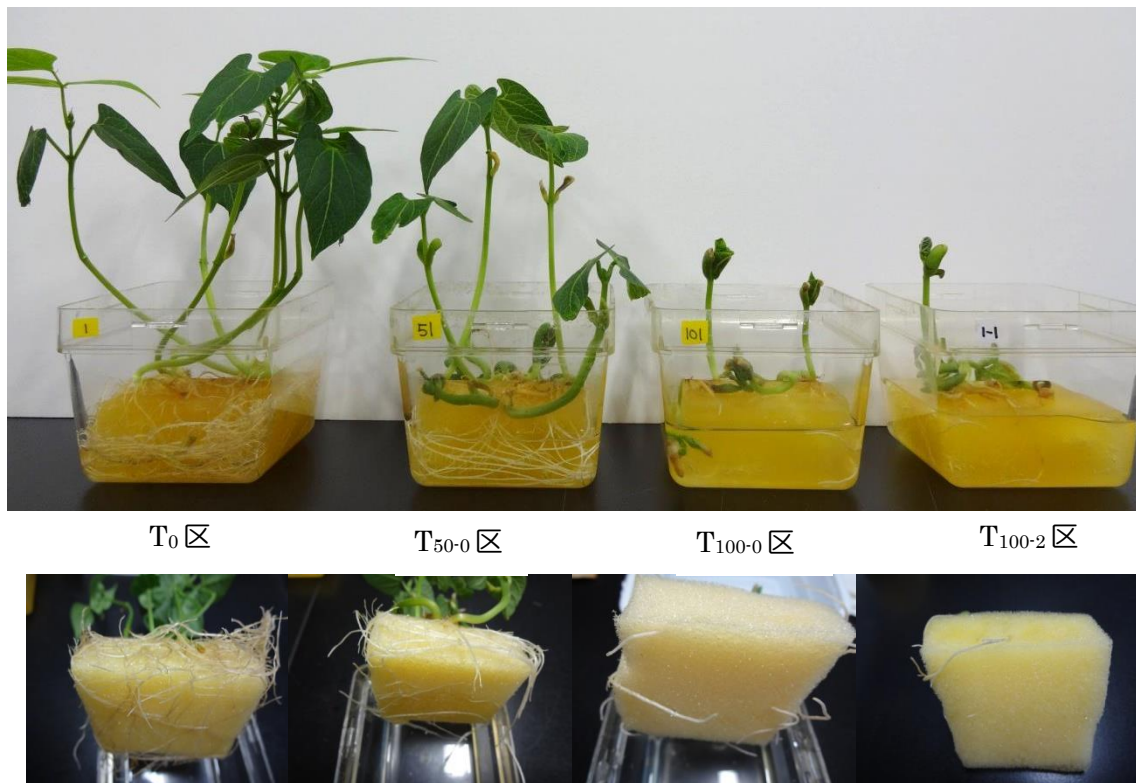


図 3-1-2 収穫時の地上部および根の状態

収穫時(播種後 15 日)の地上部および根の状態を図 3-1-2 に示した。

生育調査の項目とはしなかったが、NaCl 処理は葉の展開にも大きな影響を与えていた。T₀ 区では初生葉および普通葉が展開していたが、T₅₀₋₀ 区では初生葉の展開までであり、T₁₀₀₋₀ 区、T₁₀₀₋₂ 区では子葉の展開も十分ではなかった。

また、根長の伸長だけでなく、根の発達についても塩処理の濃度が増加するにつれて著しく抑制された。

2) NaCl が新鮮重に及ぼす影響

各器官別の収穫時の新鮮重を図 3-1-3 に示した。

葉の新鮮重は、発芽前に処理を開始した区では T₅₀₋₀ 区が T₀ 区の 1.17 倍、T₁₀₀₋₀ 区

が T_0 区の 0.75 倍で、塩濃度によって応答が異なったが、どちらの処理区も T_0 区との間には有意差は認められなかった(図 3-1-3A)。発芽後に処理を開始した区では処理の開始が遅くなるにつれて新鮮重が減少した。最も低い値を示したのは T_{100-10} 区で T_0 区の 0.30 倍であった。 T_{100-4} 区以降の処理区は、 T_0 区との間に有意差が認められた。

茎と根の新鮮重は同じような傾向を示した。発芽前に処理を開始した区では、 T_{50-0} 区が茎では T_0 区の 0.92 倍、根では T_0 区の 0.90 倍、 T_{100-0} 区が茎では T_0 区の 0.41

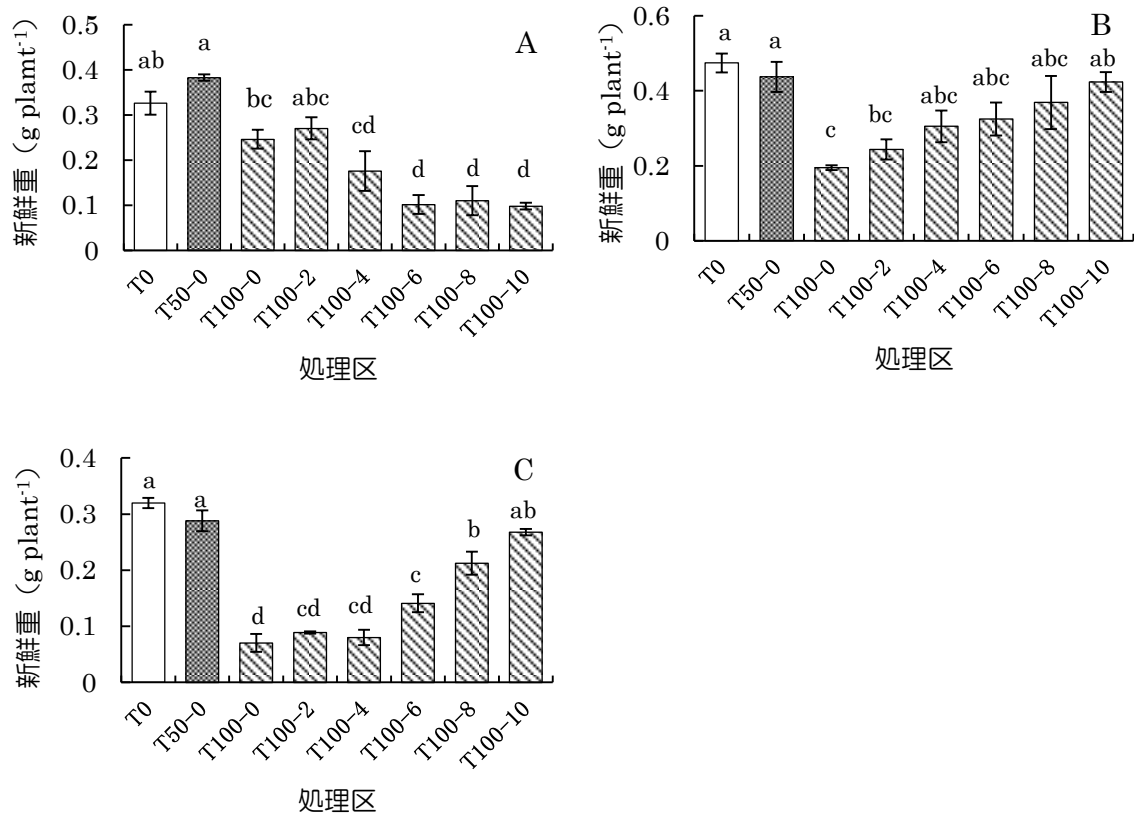


図 3-1-3 インゲンの葉(A)、茎(B)、根(C)の新鮮重

T_0 は対照区、 T_{50-0} は発芽前に 50 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-0} は発芽前に 100 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-2} は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-4} は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-6} は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-8} は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-10} は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 3 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 3 から 8 個体である。データは 3 反復の平均値 ± 標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

倍、根では T_0 区の 0.22 倍で、塩濃度が増加するにつれて減少した(図 3-1-3B、C)。
 T_{50-0} 区では茎、根ともに T_0 区との間に有意差は認められなかったが、 T_{100-0} 区では有意に減少した。また、 T_{100-0} 区では根の新鮮重の方が茎の新鮮重より減少の程度が大きかった。

発芽後に処理を開始した区では、処理の開始が遅くなるにつれて新鮮重が増加する傾向にあった。茎では T_0 区の 0.51 倍(T_{100-2} 区)から 0.89 倍(T_{100-10} 区)まで、根では T_0 区の 0.25 倍(T_{100-4} 区)から 0.84 倍(T_{100-10} 区)までで、発芽後の処理開始でも根の新鮮重の方が減少の程度が大きく、特に塩処理開始の早い処理区で顕著であった。

3) NaCl が乾物重に及ぼす影響

各器官別の収穫時の乾物重を図 3-1-4 に示した。

葉では新鮮重の場合とは異なる傾向を示した(図 3-1-4A)。発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 1.42 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 1.49 倍であり、どちらの処理区も T_0 区より増加したが、 T_0 区との間に有意差は認められなかった。

発芽後に処理を開始した区では処理開始の時期が早いものほど乾物重が多くなる傾向にあり、この点では新鮮重と同様であったが、 T_0 区に対する割合は T_0 区の 0.98 倍(T_{100-8} 区)から 1.72 倍(T_{100-2} 区)までであり、 T_0 区と同程度か、 T_0 区より増加した。
 T_{100-2} 区と T_{100-6} 区は T_0 区に対して有意に増加した。

茎では、傾向としては新鮮重と同様であった(図 3-1-4B)。発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 0.91 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.57 倍であり、 T_{50-0} 区は新鮮重の場合とほぼ同じで T_0 区との間に有意差は認められなかったが、 T_{100-0} 区では新鮮重の場合より T_0 区に対する相対値が増加し、 T_0 区との間に有意差が認められた。

発芽後に処理を開始した区では、 T_{100-2} 区が T_0 区の 0.63 倍であったのを除くと、い

いずれも T_0 区より増加し、1.11 倍 (T_{100-4} 区) から 1.22 倍 (T_{100-10} 区) であった。 T_{100-2} 区は T_0 区より有意に低く、 T_{100-10} 区は T_0 区より有意に高かったが、他の処理区は T_0 区との間に有意差は認められなかった。

根では新鮮重と同じ傾向を示した (図 3-1-4C)。発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 0.84 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.33 倍であり、 T_{50-0} 区では新鮮重の場合より減少したが、 T_{100-0} 区では逆に新鮮重の場合より増加した。茎の場合と同様に T_{50-0} 区は T_0 区との間に有意差が認められなかったが、 T_{100-0} 区は T_0 区との間に有意差が認められた。

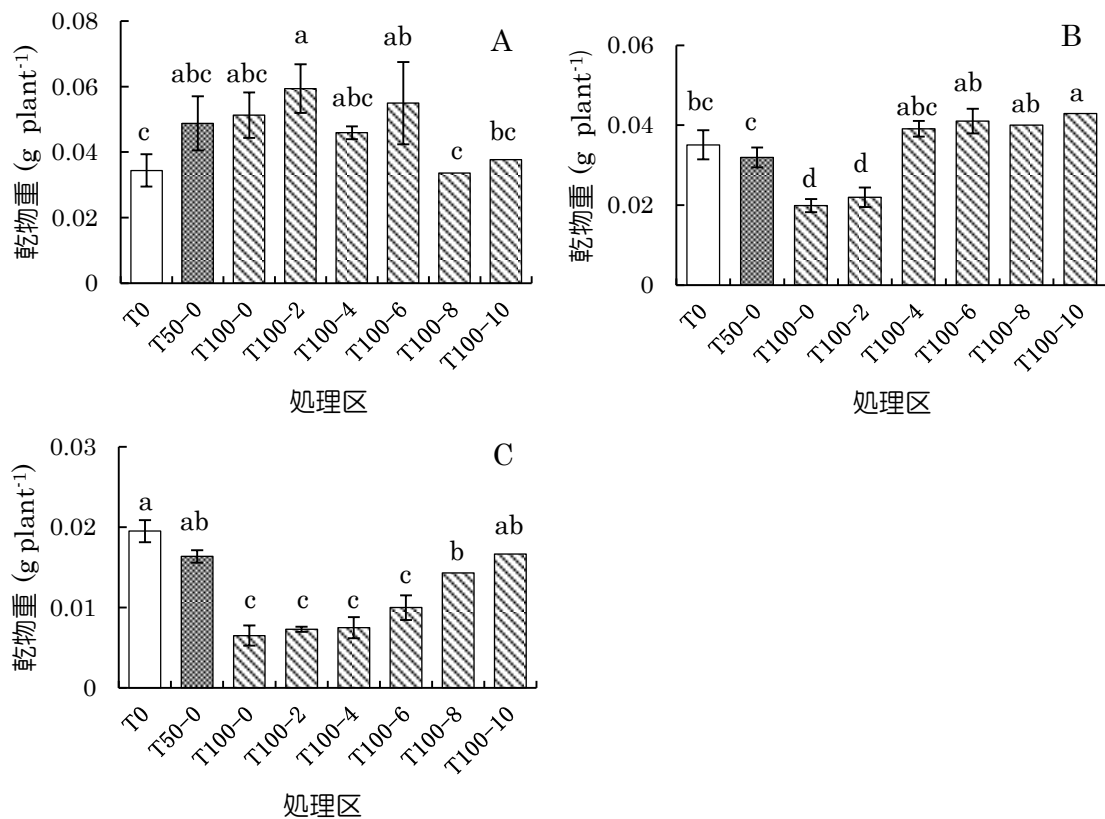


図 3-1-4 インゲンの葉(A)、茎(B)、根(C)の乾物重

T_0 は対照区、 T_{50-0} は発芽前に 50 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-0} は発芽前に 100 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-2} は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-4} は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-6} は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-8} は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-10} は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 3 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 3 から 8 個体である。データは 3 反復の平均値 ± 標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

発芽後に処理を開始した区では T_0 区の 0.37 倍 (T_{100-2} 区) から 0.85 倍 (T_{100-10} 区) までであり、新鮮重の場合に比べてわずかに高くなった。 T_{100-10} 区を除いて、 T_0 区より有意に低かった。

4) NaCl が水分含有率に及ぼす影響

各器官別の収穫時の水分含有率を図 3-1-5 に示した。

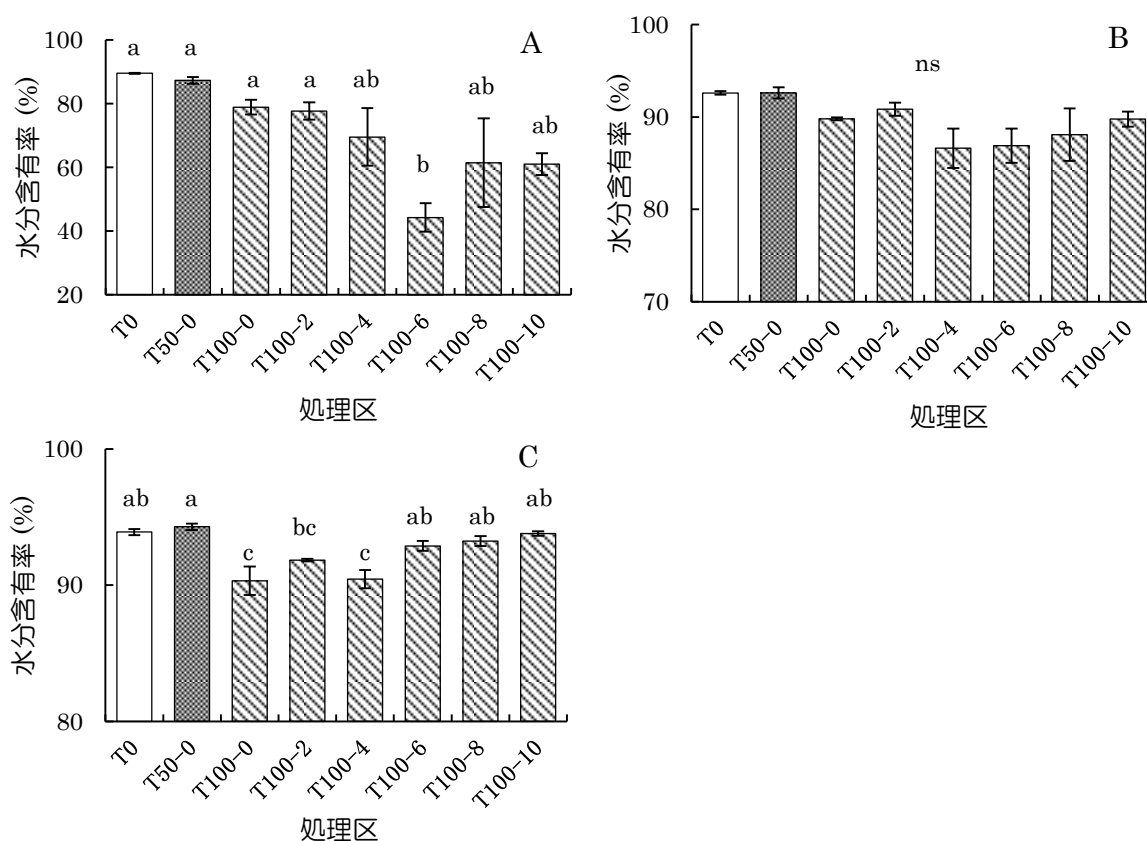


図 3-1-5 インゲンの葉(A)、茎(B)、根(C)の水分含有率

T_0 は対照区、 T_{50-0} は発芽前に 50 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-0} は発芽前に 100 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-2} は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-4} は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-6} は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-8} は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-10} は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 3 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 3 から 8 個体である。データは 3 反復の平均値 ± 標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

葉の水分含有率は発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 0.97 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.88 倍であり、処理濃度が高くなるにつれて減少したが、有意差は認められなかった(図 3-1-5A)。発芽後に処理を開始した区では、概ね処理開始の時期が遅くなるにつれて減少する傾向にあった。 T_0 区に対しては 0.49 倍(T_{100-6} 区)から 0.87 倍(T_{100-2} 区)までの範囲であった。

茎の水分含有率は発芽前に処理を開始した区では、 T_{50-0} 区が T_0 区の 1.00 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.97 倍であり、器官別では NaCl による影響を最も受け難かった(図 3-1-5B)。

発芽後に処理を開始した区でも T_0 区の 0.93 倍(T_{100-4} 区)から 0.98 倍(T_{100-2} 区)までであり、 T_0 区よりわずかに減少したが、全ての処理区で有意差は認められなかった。

根の水分含有率は発芽前に処理を開始した区では、 T_{50-0} 区が T_0 区の 1.00 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.96 倍と、茎とよく似た傾向を示した(図 3-1-5C)。

発芽後に処理を開始した区では、概ね処理開始の時期が遅くなるにつれて水分含有率が高くなる傾向にあったが、新鮮重の場合ほど大きく変化することはなく、NaCl による影響を受け難かった。

4. 考 察

100 mmol L⁻¹ NaCl 処理は、インゲンの生育を著しく抑制した(表 3-1-1)。インゲン 19 品種を用いた山内ら(1997)の研究によると、インゲンの草丈は 40 mmol L⁻¹ および 80 mmol L⁻¹ NaCl 処理によって 19 品種全体の平均でそれぞれ対照区の 46.1% および 16.1% に減少した。本研究で用いた品種ナールはつるなしの品種であるため、山内らが用いた 19 品種のうち、つるなし 11 品種の平均を求めると、それぞれ対照区の 55.5% および 18.6% であった。山内らによると 2 種類の塩処理による草丈相互の間には、 $r = 0.817$ の正の相関関係が認められた。本研究では、発芽前の処理区の草丈は T_{50-0} 区および T_{100-0} 区でそれぞれ T_0 区の 55.5% および 23.4% であり、処理濃度の違

いを考慮すると、山内らの結果よりやや高い値を示した。山内らは品種ナールについては調査しておらず、NaCl 処理開始の時期も初生葉展開後 5 日栽培した後であるため、この差が品種の違いによるものであるのか、生育段階の違いによるものであるのかについては不明である。

収穫時の草丈は、塩処理開始の時期が遅くなるにつれて高くなった。しかし、表 3-1-1 の値は収穫時の草丈であり、これには NaCl 処理開始前に生育した部分も含まれているため、処理開始の遅い区が必ずしも NaCl 処理下で生育が良かったことを示している訳ではない。T₁₀₀₋₈ 区の処理開始から 1 日経過した、播種後 8 日の生育状態 (図 3-1-1) を見ると、T₁₀₀₋₈ 区および T₁₀₀₋₁₀ 区の草丈は、既に高さ 6.5 cm のポットの縁を大きく超えており、NaCl 処理後には茎があまり伸長しなかった。さらに、草丈 (表 3-1-1) と茎の新鮮重 (図 3-1-3B) とは同じ傾向を示していたため、特定の NaCl 処理区において茎の太さが特に太くなった訳ではないと考えられる。

また、茎に萎れが生じたため、早期に収穫した処理区についてみると、NaCl 処理の開始時期が遅くなるにつれて苗が自立できなくなるまでの期間が短くなっており、NaCl 処理の開始時期の違いは、苗の生存に大きな影響を与えた。しかし、その他の処理区では、子葉の展開も完了しておらず (図 3-1-2)、NaCl 処理の開始時期を早めることが耐性を強めている訳ではなかった。

葉では新鮮重と乾物重で傾向が異なっていた (図 3-1-3A、3-1-4A)。これについては、T₀ 区では苗の生育が進み、初生葉と普通葉のみとなっていた (図 3-1-6A) のに対し、T₁₀₀₋₀ 区では大きな子葉が残っていた (図 3-1-6B) ため、塩処理開始時期の早いものでは、子葉の乾物重が大きく影響したことが考えられる。



A 収穫時の各器官 T₀ 区



B 収穫時の各器官 T₁₀₀₋₀ 区

図 3-1-6 インゲン収穫時の各器官



図 3-1-7 インゲンの茎の萎れの始まり

処理後 9 日の T₁₀₀₋₆ 区 2 ポットの生育状況

また、T₁₀₀₋₆ 区は葉の水分含有率が異常に低い値となったが、これは初生葉のほぼ全ての葉が萎れていた(図 3-1-7)ことが原因である。

障害は葉から始まり、続いて茎の萎れが生じた。インゲンは、根あるいは茎基部に特異的に Na を蓄積し、上部茎葉への Na の移動を抑制することが認められている(山内ら 1997)。本研究では、初生葉のみ、または第1普通葉までの苗を用いたため、葉の障害が上部から始まるのか、または下部から始まるのかについては判断できなかった。茎についてみると、萎れは頂端部分から始まった(図 3-1-7)。茎の太さも基部に近い部分は比較的太く、しっかりしていた。

根長は草丈より伸長が抑制され(表 3-1-1)、新鮮重も同じ傾向を示した(図 3-1-3C)。また、根の発達も著しく阻害されていたため、地上部に著しい障害が発生することになったものと考えられる。

5. 要 約

塩に対する耐性が弱いインゲンを用いて、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行い、塩処理開始時期の違いが生育に及ぼす影響を調査した。

100 mmol L⁻¹ NaCl 処理は、インゲンの生育を著しく抑制した。草丈と根長とを比較すると、根の生育の方がより抑制を受けていた。また、収穫時の草丈および根長は、塩処理開始の時期が遅くなるほど長くなっており、これはインゲンの幼植物が塩処理下においてよく生長できなかったことを示している。茎および根の新鮮重も同じ傾向を示した。葉では、塩処理開始の比較的早い処理区で新鮮重、乾物重が高い値を示した。

が、これについてはこれらの処理区の生育が遅れ、残っていた子葉の重量が影響したものである、と判断した。水分含有率は、最初に萎れを生じた葉において著しく低くなった。

これらの結果から、インゲンは 100 mmol L^{-1} NaCl 処理下では、発芽時から塩に対する耐性を獲得していないことが明らかになった。

3-2 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理下においてインゲンの幼植物はどのような応答を行うか

1. 目的

3-1において、塩に対する耐性が弱いインゲンは、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理下で著しい生育の抑制を受けた。そこで処理濃度を低くした場合のインゲンの生育を比較するため、50 mmol L⁻¹ NaCl 処理下で、3-1と同様に発芽前および発芽後に塩処理開始の時期をずらして塩ストレスを与え、発芽後の幼植物の生育にどのような変化が認められるのかを調査した。

2. 材料と方法

1) 供試植物

供試植物としては3-1と同じインゲン (*Phaseolus vulgaris* 品種 ナール) を用いた。

2) 栽培条件

種子を発芽させるために8つのプラスチックトレイ(10 cm × 15 cm)を準備した。対照区および発芽後の塩処理区用として、6つのトレイには20 mLの蒸留水、発芽前の50 mmol L⁻¹ 塩処理区用として、1つのトレイに20 mLの50 mmol L⁻¹ NaCl、発芽前の100 mmol L⁻¹ 塩処理区用として、最後のトレイに20 mLの100 mmol L⁻¹ NaClを入れた。プラスチックトレイには脱脂綿を敷き、その上に種子を播種した。1トレイあたり36粒の種子を用いた。トレイにはプラスチック製の蓋をし、25°C暗所の培養室内に置いた。トレイは毎日重量を測定し、処理濃度が変化しないよう、蒸留水を補充した。

種子は播種後1日から2日にかけて発芽した。播種後2日目に最初の処理区の種

子を蒸留水のトレイから 50 mmol L^{-1} NaCl のトレイに移した。播種後 4 日目に、発芽した種子を 40 mL の培養液を入れた 200 mL 容プラスチックポット (6.5 cm × 6.5 cm × 6.5 cm) に移した。発芽した種子を支えるためにポットにはスポンジを敷いたが、収穫時に根を切断してしまうことが多かったため、今回は厚さを半分にしたスポンジ (6 cm × 6 cm × 1 cm) を用いた。培養液には 0、50 または 100 mmol L^{-1} となるよう、NaCl を添加した。播種後 6 日目に 10 mL、8 日目に 40 mL の 0、50 または 100 mmol L^{-1} NaCl を含む培養液を追加し、全量を 100 mL とした。ポットは毎日重量を測定し、処理濃度が増えないよう、蒸留水を補充した。

各処理 4 反復で、1 ポットあたり 5 個体とした。実験は 25°C の培養室で蛍光灯の照明により明期 14 時間、暗期 10 時間の条件下で行った。幼根が培養液に到達するまでポットにはプラスチック製の蓋を被せた。

3) 塩処理

NaCl 濃度は 0 mmol L^{-1} (T_0 、対照区)、 50 mmol L^{-1} (T_{50}) または 100 mmol L^{-1} (T_{100}) の 3 種類であるが、処理開始の時期をずらしたのは T_{50} 区のみである。NaCl 処理の表示は 3-1 に準ずる。

播種後 24 日で収穫した。しかし、茎に萎れが生じたものはそれより早く収穫した。収穫後、草丈と根長および新鮮重を測定した。なお、根はスポンジから引き抜くときに切断することがあり、根長は参考値である。試料は 70°C で 48 時間乾燥させ、乾物重を測定した。水分含有率の計算は 3-1 と同様に行った。

4) 統計処理

統計処理の方法は、3-1 と同様に行った。

3. 結果

1) NaCl が生育に及ぼす影響

播種後 2 日における発芽率は、蒸留水に播種した 6 つのトレイ (T_0 区用および T_{50-2} 区から T_{50-10} 区用) が 77.8% から 94.4%、平均で 84.3%、 T_{50-0} 区が 72.2%、 T_{100-0} 区が 75.0% であった。

NaCl 処理区で最初に茎に萎れが生じたのは、 T_{50-6} 区と T_{50-8} 区が播種後 12 日 (NaCl 処理後 6 日および 4 日)、 T_{100-0} 区が播種後 15 日 (NaCl 処理後 15 日)、 T_{50-2} 区が播種後 18 日 (NaCl 処理後 16 日) であった。特に T_{50-6} 区では処理開始後 3 日までは T_{50-2} 区および T_{50-4} 区より生育が良かったが、4 日後から急激に萎れが進んだ。

T_{50-4} 区では茎の萎れは生じなかったが、葉は枯れたものが多かった。播種後 15 日には、全ての処理区で何らかの障害が認められた。

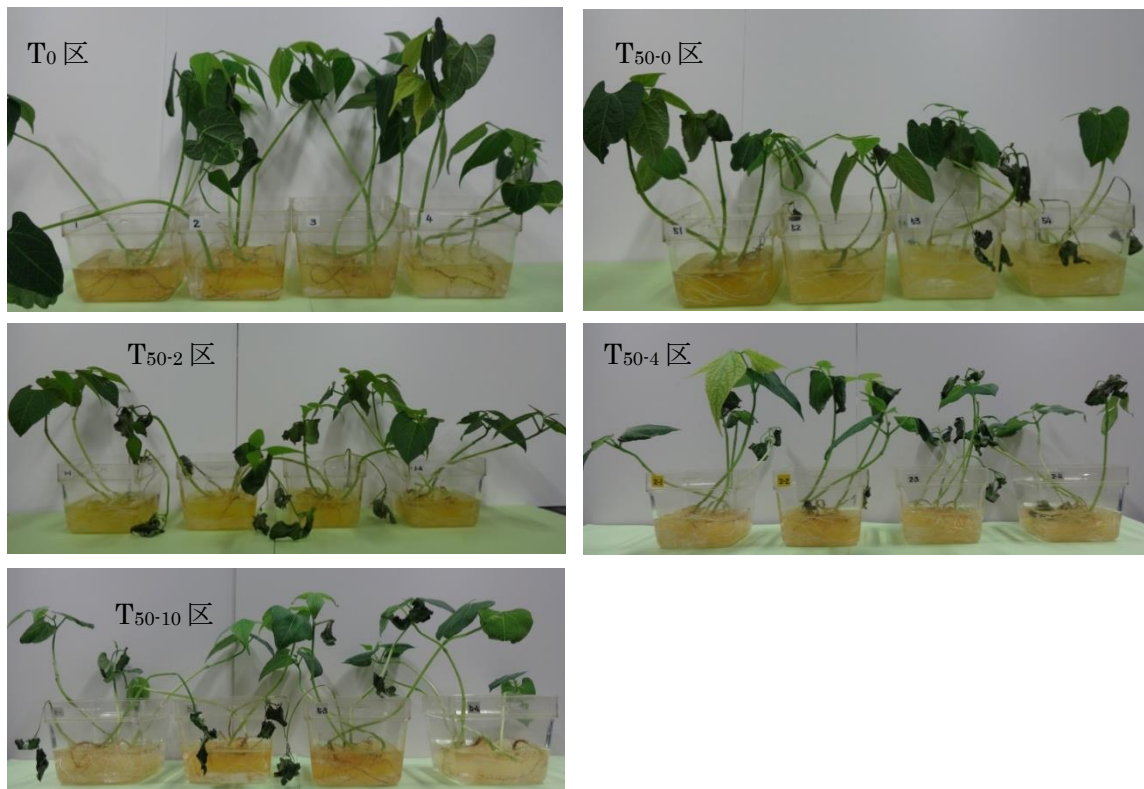


図 3-2-1 播種後 24 日の生育状況

播種後 24 日より前に収穫を行ったのは T₁₀₀₋₀ 区が播種後 20 日と 22 日に 2 ポットずつ、T₅₀₋₆ 区および T₅₀₋₈ 区が播種後 19 日 (処理 13 日間および処理 11 日間) であった。収穫時において最も障害の程度が小さかったものは、T₅₀₋₁₀ 区であったが、葉には縁の萎れや枯れなどの障害が認められた (図 3-2-1)。同一の処理区でも、被害の程度については個体差が大きかった。

収穫時の生育調査の結果を表 3-2-1 に示した。NaCl 処理濃度が増加するにつれて草丈が減少するのは、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理の場合と同じであったが、発芽前に処理を行った区では T₅₀₋₀ 区が T₀ 区の 72.9%、T₁₀₀₋₀ 区が T₀ 区の 37.5% であり、どちらの処理区も T₀ 区との差が小さくなった。発芽後に処理を開始した処理区間において T₅₀₋₁₀ 区を除いて有意差は認められず、処理開始の時期によって草丈は影響を受けなかった。

根長は発芽前に処理を行った区では T₅₀₋₀ 区が T₀ 区の 115.4%、T₁₀₀ 区が T₀ 区の 52.5% であった。発芽後に処理を開始した区では、T₅₀₋₁₀ 区を除いて有意差は認められず、根長は T₅₀₋₁₀ 区を除いて処理開始の時期による影響を受けなかった。栽培期間中の観察では、T₀ 区の根には、褐変が認められ、NaCl 処理区に比べて根の発達も悪かった (図 3-2-2)。

表 3-2-1 収穫時の生育調査

処理区	草丈 (cm)	根長 (cm)
T ₀ (対照区, 0 mmol L ⁻¹ NaCl)	17.31 ± 1.24 a	12.28 ± 1.15 ab
T ₅₀₋₀ (50 mmol L ⁻¹ NaCl, 発芽前に処理開始)	13.50 ± 0.31 c	13.20 ± 0.72 ab
T ₁₀₀₋₀ (100 mmol L ⁻¹ NaCl, 発芽前に処理開始)	6.50 ± 0.51 d	6.45 ± 0.78 c
T ₅₀₋₂ (播種後2日に処理開始)	13.18 ± 0.35 bc	15.30 ± 0.70 a
T ₅₀₋₄ (播種後4日に処理開始)	12.25 ± 0.32 c	13.83 ± 0.78 ab
T ₅₀₋₆ (播種後6日に処理開始)	14.17 ± 0.58 bc	12.09 ± 0.66 ab
T ₅₀₋₈ (播種後8日に処理開始)	14.75 ± 0.49 abc	12.87 ± 0.52 ab
T ₅₀₋₁₀ (播種後10日に処理開始)	15.59 ± 0.35 ab	10.79 ± 0.11 b

数値は 4 反復の平均値 ± 標準誤差。1 ポットの個体数は 3 から 5 個体。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

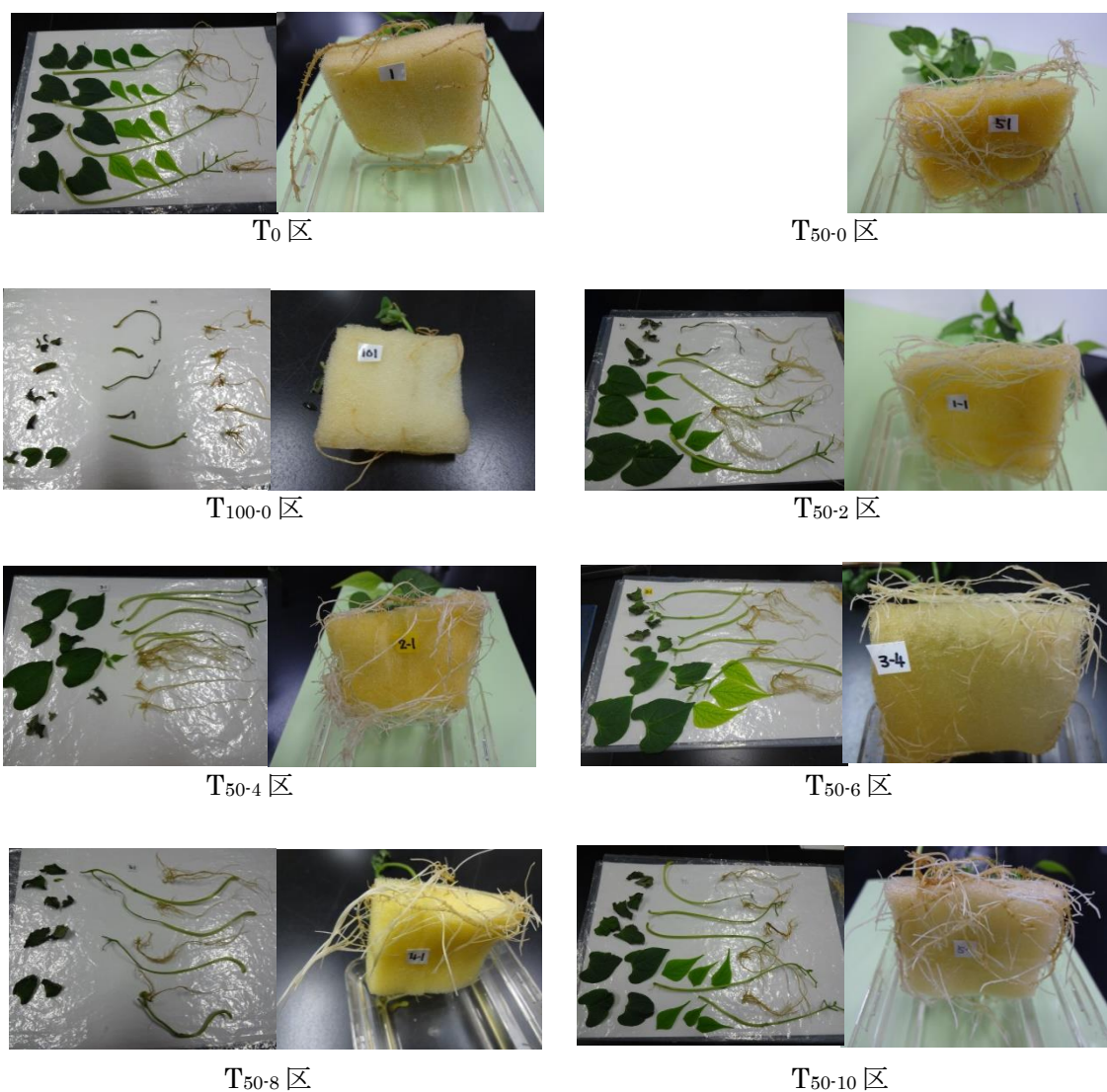


図 3-2-2 収穫時の各器官と根の発達状況

2) NaCl が新鮮重に及ぼす影響

各器官別の収穫時の新鮮重を図 3-2-3 に示した。

葉では、発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 0.59 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.29 倍であり、塩濃度が増加するにつれて著しく減少した(図 3-2-3A)。発芽後に処理を開始した区では、 T_{100-10} 区を除いて処理開始の時期が遅くなるにつれて新鮮重が減少した。最も低い値を示したのは T_{100-8} 区で T_0 区の 0.30 倍であった。 T_{100-4} 区以

降の処理区は T_0 区との間に有意差が認められた。しかし、処理開始の時期によって有意差は認められなかった。

茎では、発芽前に処理を開始した区では、 T_{50-0} 区が T_0 区の 0.92 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.44 倍であった(図 3-2-3B)。新鮮重は T_{50-0} 区では T_0 区との間に有意差は認められなかったが、 T_{100-0} 区では有意に減少した。

発芽後に処理を開始した区では、処理開始の時期に関わらず T_0 区より増加し、 T_0 区の 1.01 倍(T_{50-2} 区)から 1.11 倍(T_{50-4} 区)までの範囲であった。

根では、発芽前に処理を開始した区では、 T_{50-0} 区が T_0 区の 1.95 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.82 倍であり、 T_{50-0} 区では有意に増加した(図 3-2-3C)。

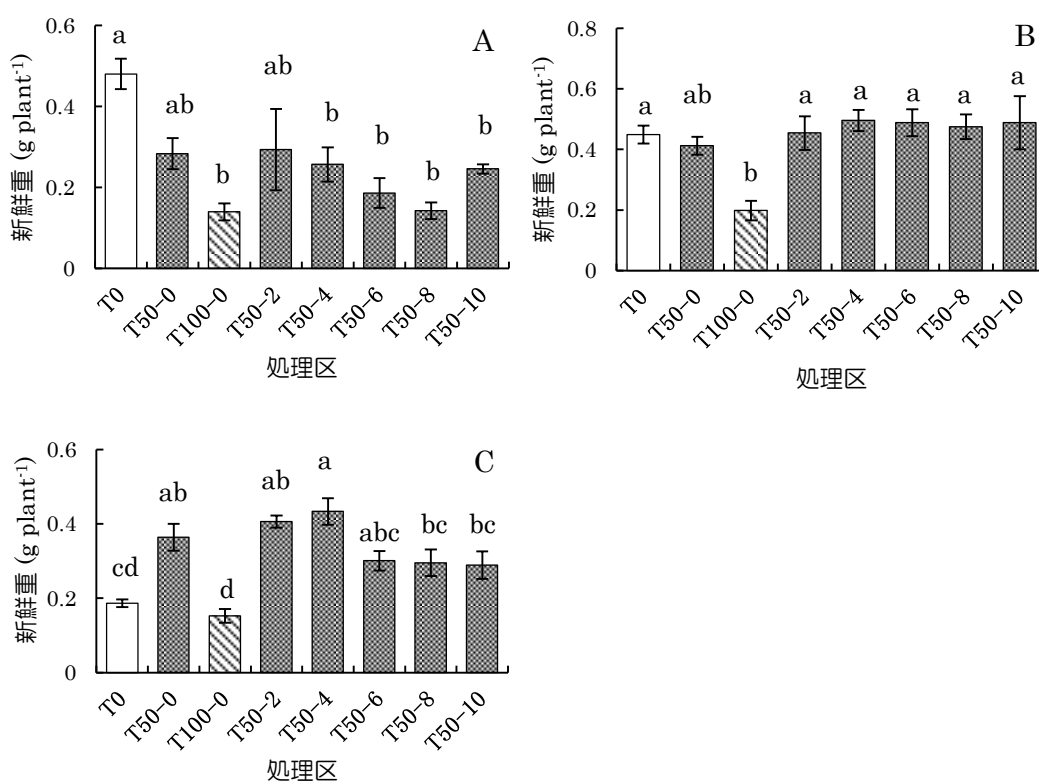


図 3-2-3 インゲンの葉(A)、茎(B)、根(C)の新鮮重

T_0 は対照区、 T_{50-0} は発芽前に 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、 T_{100-0} は発芽前に 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、 T_{50-2} は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-4} は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-6} は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-8} は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-10} は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 4 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 3 から 5 個体である。データは 4 反復の平均値±標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

発芽後に処理を開始した区では、処理開始が比較的遅い T₅₀₋₆ 以降の処理区の新鮮重が低かったが、いずれの処理区においても T₀ 区より増加した。その範囲は T₀ 区の 1.55 倍(T₅₀₋₁₀ 区)から 2.32 倍(T₅₀₋₄ 区)までであり、T₅₀₋₆ 以降の処理区は T₀ 区との間に有意差は認められなかった。

3) NaCl が乾物重に及ぼす影響

各器官別の収穫時の乾物重を図 3-2-4 に示した。

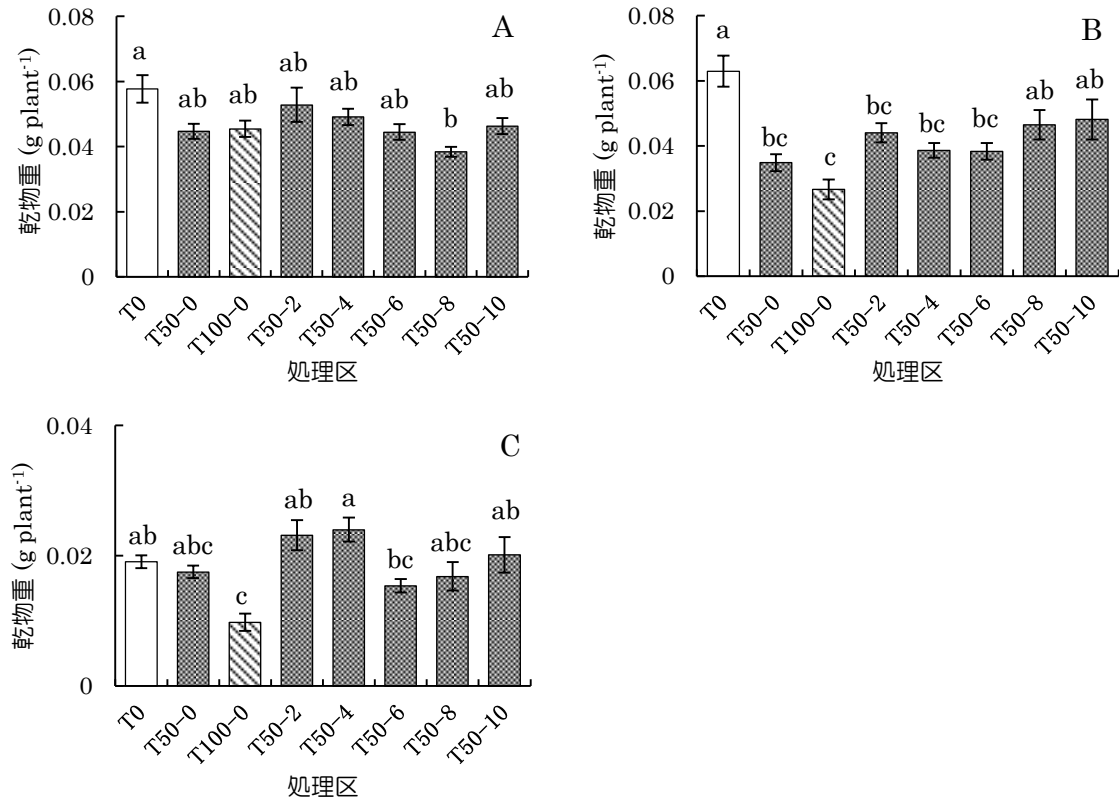


図 3-2-4 インゲンの葉(A)、茎(B)、根(C)の乾物重

T₀ は対照区、T₅₀₋₀ は発芽前に 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、T₁₀₀₋₀ は播種前に 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₂ は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₄ は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₆ は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₈ は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₁₀ は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 4 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 3 から 5 個体である。データは 4 反復の平均値 ± 標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

葉では、発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 0.77 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.79 倍であり、いずれも T_0 区より減少したが、処理濃度の違いによる差はほとんど認められなかった(図 3-2-4A)。

発芽後に処理を開始した区では、新鮮重の場合と同様に処理開始の時期が早いものほど乾物重が多くなる傾向にあり、 T_0 区の 0.66 倍(T_{50-8} 区)から 0.91 倍(T_{50-2} 区)までであった。 T_{50-8} 区以外の処理区は T_0 区との間に有意差が認められず、処理開始の時期の違いによっても有意差は認められなかった。

茎では、発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 0.55 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.42 倍であった(図 3-2-4B)。特に T_{50-0} 区は新鮮重の場合と異なり、著しく減少した。いずれの処理区も T_0 区との間に有意差が認められたが、処理濃度の違いによって有意差は認められなかった。

発芽後に処理を開始した区では処理間で大きな変動は認められなかった。いずれの処理区も T_0 区より減少し、 T_0 区の 0.61 倍(T_{50-6} 区)から 0.76 倍(T_{100-10} 区)の範囲であった。葉の場合と同様、処理開始の時期によって有意差は認められなかった。 T_{50-2} 区から T_{50-6} 区までの処理区は T_0 区より有意に低かった。

根では、発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 0.92 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.51 倍であり、いずれも新鮮重の場合より減少した(図 3-2-4C)。 T_{50-0} 区は T_0 区との間に有意差は認められず、 T_{100-0} 区は T_0 区との間に有意差が認められた。

発芽後に処理を開始した区では T_0 区の 0.80 倍(T_{50-6} 区)から 1.26 倍(T_{50-4} 区)までであり、新鮮重の場合に比べて著しく低くなった。全ての処理区において T_0 区との間には有意差が認められなかった。

4) NaCl が水分含有率に及ぼす影響

各器官別の収穫時の水分含有率を図 3-2-5 に示した。

葉では発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 0.95 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区

の 0.74 倍であり、処理濃度が高くなるにつれて減少した(図 3-2-5A)。

発芽後に処理を開始した区では、 T_{50-2} 区で葉の著しい枯れが認められたこともあり、 T_0 区の 0.81 倍(T_{50-2} 区)から 0.92 倍(T_{50-10} 区)までの範囲であったが、処理区内での変動が大きく有意差は認められなかった。

茎と根の水分含有率は、同じような傾向を示した。発芽前に処理を開始した区では、 T_{50-0} 区が茎、根ともに T_0 区の 1.06 倍、 T_{100-0} 区が茎では T_0 区の 1.00 倍、根では T_0 区の 1.03 倍であり、 T_{50-0} 区は茎、根ともに T_0 区より有意に増加し、 T_{100-0} 区は茎では

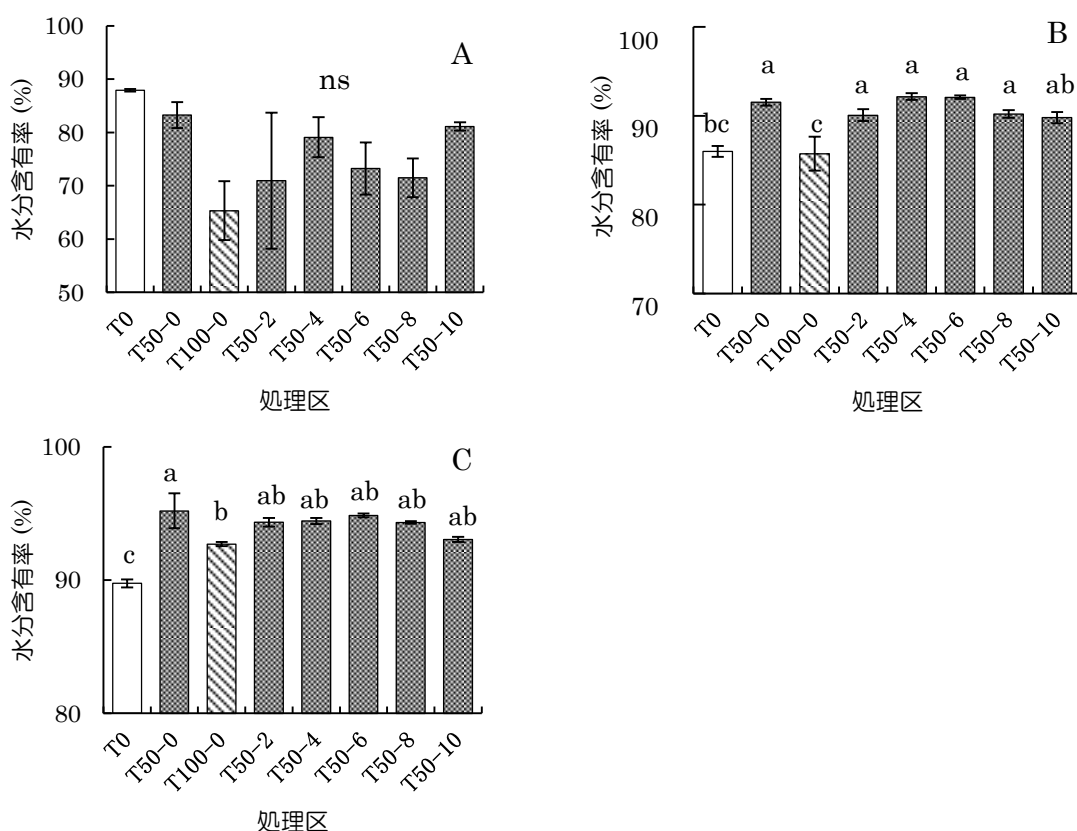


図 3-2-5 インゲンの葉(A)、茎(B)、根(C)の水分含有率

T_0 は対照区、 T_{50-0} は発芽前に 50 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-0} は播種前に 100 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{50-2} は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-4} は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-6} は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-8} は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-10} は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 4 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 3 から 5 個体である。数値は 4 反復の平均値 ± 標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

T₀区とほぼ同じで、根では有意に増加した(図 3-2-5B、C)。

発芽後に処理を開始した区は、茎では T₀ 区の 1.04 倍(T₅₀₋₁₀ 区)から 1.07 倍(T₅₀₋₆ 区)、根では T₀ 区の 1.04 倍(T₅₀₋₁₀ 区)から 1.06 倍(T₅₀₋₆ 区)であり、茎の T₅₀₋₁₀ 区を除いて、全ての処理区で T₀ 区より有意に増加した。また、茎、根ともに処理開始時期の違いによって、有意差は認められなかった。

4. 考 察

50 mmol L⁻¹ NaCl 処理は、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理の場合と異なり、インゲンの生育には著しい影響を与えなかった。草丈は T₀ 区より低かったものの、T₅₀ 区内では有意差は認められず(表 3-2-1)、これは発芽後比較的初期に NaCl 処理を開始した T₅₀₋₂ 区、T₅₀₋₄ 区の幼植物が塩処理下でも生育を継続できたことを示している。

また、根長は T₅₀₋₁₀ 区を除いて T₀ 区と同程度か、T₀ 区より長く、有意差は認められなかったものの、処理開始の時期が早い区の根が長い傾向にあった。栽培期間中の観察においても、T₀ 区の根は NaCl 処理区より発達が悪かった。インゲンは根の酸素要求量大きいことが知られている(位田 1953)。今回の実験では通気を行わずに栽培を行っており、これが T₀ 区の根の発達に影響を与えた可能性も考えられる。T₅₀ 区の根は、処理開始の時期が比較的早いものほどよく発達して、褐変も認められなかったことから、NaCl 処理は通気を行わない栽培条件において根の発達に良い影響を与えていることが窺える。

この実験では栽培期間が 24 日と 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理の場合(播種後 15 日で収穫)に比べて長かったこともあり、T₅₀ 処理各区でも初生葉および普通葉が展開し、子葉が脱落していた。このため、葉の新鮮重、乾物重において、子葉の重量が影響を与えることはなかった。

茎および根では、茎の T₅₀₋₁₀ 区を除いて、T₀ 区に比べて水分含有率が有意に高く、これが NaCl 処理下でも生育を継続できた原因のひとつである、と考えられる。しかし、

葉では収穫時まで全ての NaCl 処理区で萎れや枯れの障害が認められており、茎や根で高い水分含有率を維持し、草丈や根長の伸長に障害が生じなかったことが塩に対する耐性に直接関係している訳ではなかった。また、 T_{50} 区の処理区相互では生育に有意差が認められなかったことから、 50 mmol L^{-1} NaCl 処理下においても、インゲンは発芽前には塩に対する耐性を獲得しておらず、発芽後もその耐性が変化しないことが明らかになった。

5. 要約

塩に対する耐性が弱いインゲンを用いて、 50 mmol L^{-1} NaCl 処理を行い、塩処理開始時期の違いが生育に及ぼす影響を調査した。

50 mmol L^{-1} NaCl 処理は、**3-1**で行った 100 mmol L^{-1} NaCl 処理の場合と同様にインゲンの生育を抑制したが、抑制の程度は軽く、草丈では T_{50-10} 区を除き、また根長ではすべての処理区で、塩処理の開始時期に関わらず有意差は認められなかった。これはインゲンの幼植物が、 50 mmol L^{-1} NaCl 処理下で生育を継続することができたことを示している。

新鮮重についても、葉、茎では全ての処理区で、根では T_{50-4} 区を除き、塩処理開始の時期に関わらず有意差は認められなかった。茎、根では茎の T_{50-10} 区を除いて T_0 区より有意に高い水分含有率を示し、これが塩処理下における生育の継続を可能にした理由であろうと考えられる。なお、水分含有率についても、塩処理開始の時期による差は認められなかった。

しかし、葉では全ての塩処理区において萎れまたは枯れの症状が認められた。したがって、 50 mmol L^{-1} NaCl 処理下においても、インゲンは発芽時には塩に対する耐性を獲得していないことが明らかになった。

3-3 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理下においてキャベツの幼植物はどのような応答を行うか

1. 目的

塩に対する耐性がやや弱いキャベツは、塩ストレス下において、塩に対する耐性が弱いインゲンと同様に速やかに発芽を開始した。したがって、キャベツにおいても発芽時には浸透調節等を行っていないのであろう、と仮定した。また、キャベツではインゲンと異なり、最も高い処理濃度であった 200 mmol L⁻¹ NaCl 処理区における発芽率が約 70%と低いまま播種後 7 日まで変化しなかった。そこで、発芽前および発芽後に塩処理開始の時期をずらして塩ストレスを与え、発芽後の幼植物の生育にどのような変化が認められるのかを調査した。

2. 材料と方法

1) 供試植物

供試植物として FAO の分類によると塩に対する耐性がやや弱いキャベツ (*Brassica oleracea* var. *capitata* 品種 金系 201 号)を用いた。

2) 栽培条件

種子を発芽させるために 8 つのプラスチックトレイ (10 cm × 15 cm) を準備した。対照区および発芽後の塩処理区用として、6 つのトレイには 20 mL の蒸留水、発芽前の 50 mmol L⁻¹ 塩処理区用として、1 つのトレイに 20 mL の 50 mmol L⁻¹ NaCl、発芽前の 100 mmol L⁻¹ 塩処理区用として、最後のトレイに 20 mL の 100 mmol L⁻¹ NaCl を入れた。

プラスチックトレイには脱脂綿を敷き、その上に種子を播種した。1トレイあたり40粒の種子を用いた。トレイにはプラスチック製の蓋をし、25°C暗所の培養室内に置いた。トレイは毎日重量を測定し、処理濃度が変化しないよう、蒸留水を補充した。

播種から1、2日後、種子は発芽した。播種後2日目に、発芽した種子を80 mLの培養液を入れた200 mL容プラスチックポット(6.5 cm × 6.5 cm × 6.5 cm)に移した。発芽した種子を支えるためにポットにはスポンジ(6 cm × 6 cm × 2 cm)を敷いた。培養液には0、50 または 100 mmol L⁻¹ となるよう、NaClを添加した。

ポットは毎日重量を測定し、処理濃度が変化しないよう、蒸留水を補充した。

各処理4反復で、1ポットあたり9個体とした。実験は25°Cの培養室で蛍光灯の照明により明期14時間、暗期10時間の条件下で行った。幼根が培養液に到達するまでポットにはプラスチック製の蓋をした。

3) 塩処理

NaCl濃度は0 mmol L⁻¹(T₀、対照区)、50 mmol L⁻¹(T₅₀)または100 mmol L⁻¹(T₁₀₀)の3種類であるが、処理開始の時期をずらしたのはT₁₀₀区のみである。NaCl処理の表示については**3-1**に準ずる。

播種後22日で収穫した。収穫後、草丈、葉数と根長および新鮮重を測定した。根はスポンジから引き抜くときに切断することが多かったため、根長は参考値である。試料は70°Cで48時間乾燥させ、乾物重を測定した。水分含有率の計算は**3-1**と同様に行った。

4) 統計処理

統計処理の方法は、**3-1**と同様に行った。

3. 結果

1) NaCl が生育に及ぼす影響

播種後2日の発芽率は、蒸留水に播種した6つのトレイ(T₀区用およびT₁₀₀₋₂区からT₁₀₀₋₁₀区用)が85.0%から95.0%、平均で89.6%、T₅₀₋₀区が97.5%、T₁₀₀₋₀区が92.5%であった。

収穫時の草丈および根長を表3-3-1に示した。草丈は発芽前に処理を開始した区では、NaCl濃度が高くなるにつれて伸長が抑制され、T₅₀₋₀区およびT₁₀₀₋₀区の草丈は、それぞれT₀区の75.9%および51.9%であった。発芽後に処理を開始した区では、処理開始の時期が遅くなるにつれて草丈が長くなる傾向にあり、T₀区に対して40.6%(T₁₀₀₋₂区)から89.7%(T₁₀₀₋₈区)までの値を示した。T₁₀₀₋₈区を除いて、T₀区との間に有意差が認められた。

葉数は、全ての処理区において本葉1枚前後の値を示し、T₀区が最も低い値を示した。T₁₀₀₋₈区のみ、T₀区との間に有意差が認められた。なお、NaCl処理区の苗の葉は、T₀区に比べて幅が広く、大きかった。

根長は、発芽前に処理を開始した区ではT₀区より短く、T₅₀₋₀区およびT₁₀₀₋₀区の根長は、それぞれT₀区の89.1%および93.4%であった。草丈と比較すると、T₅₀₋₀区、

表3-3-1 収穫時の生育調査

処理区	草丈 (cm)	葉数	根長 (cm)
T ₀ (対照区,0 mmol L ⁻¹ NaCl)	3.42 ± 0.07 a	0.76 ± 0.69 b	3.64 ± 0.69 ns
T ₅₀₋₀ (50 mmol L ⁻¹ NaCl, 発芽前に処理開始)	2.60 ± 0.10 bcd	0.78 ± 0.35 ab	3.24 ± 0.35 ns
T ₁₀₀₋₀ (100 mmol L ⁻¹ NaCl, 発芽前に処理開始)	1.78 ± 0.08 ef	0.85 ± 0.40 ab	3.40 ± 0.40 ns
T ₁₀₀₋₂ (播種後2日に処理開始)	1.39 ± 0.11 f	0.80 ± 0.45 ab	2.20 ± 0.45 ns
T ₁₀₀₋₄ (播種後4日に処理開始)	2.11 ± 0.15 d	1.02 ± 0.52 ab	2.48 ± 0.52 ns
T ₁₀₀₋₆ (播種後6日に処理開始)	2.50 ± 0.04 cd	0.93 ± 0.18 ab	2.65 ± 0.18 ns
T ₁₀₀₋₈ (播種後8日に処理開始)	3.07 ± 0.12 ab	1.07 ± 0.39 a	3.74 ± 0.39 ns
T ₁₀₀₋₁₀ (播種後10日に処理開始)	2.91 ± 0.19 bc	0.96 ± 0.55 ab	3.09 ± 0.55 ns

数値は4反復の平均値±標準誤差。1ポットの個体数は7から9個体。異なるアルファベットはTukeyの方法による多重比較(p<0.05)によって処理間に有意差が認められたことを示している。

T₁₀₀₋₀ 区ともに抑制の程度は低かった。また、T₅₀₋₀ 区と T₁₀₀₋₀ 区とを比較すると、草丈と異なり、T₅₀₋₀ 区より T₁₀₀₋₀ 区の方がわずかに長かった。

発芽後に処理を開始した区では、処理開始の早い区(T₁₀₀₋₆ 区まで)では根長が短く、処理開始の遅い区(T₁₀₀₋₈ 区以降)では T₀ 区に近い値を示したが、各処理区内の標準誤差が大きかったため、全ての処理区において有意差は認められなかった。

2) NaCl が新鮮重に及ぼす影響

各器官別の収穫時の新鮮重を図 3-3-1 に示した。

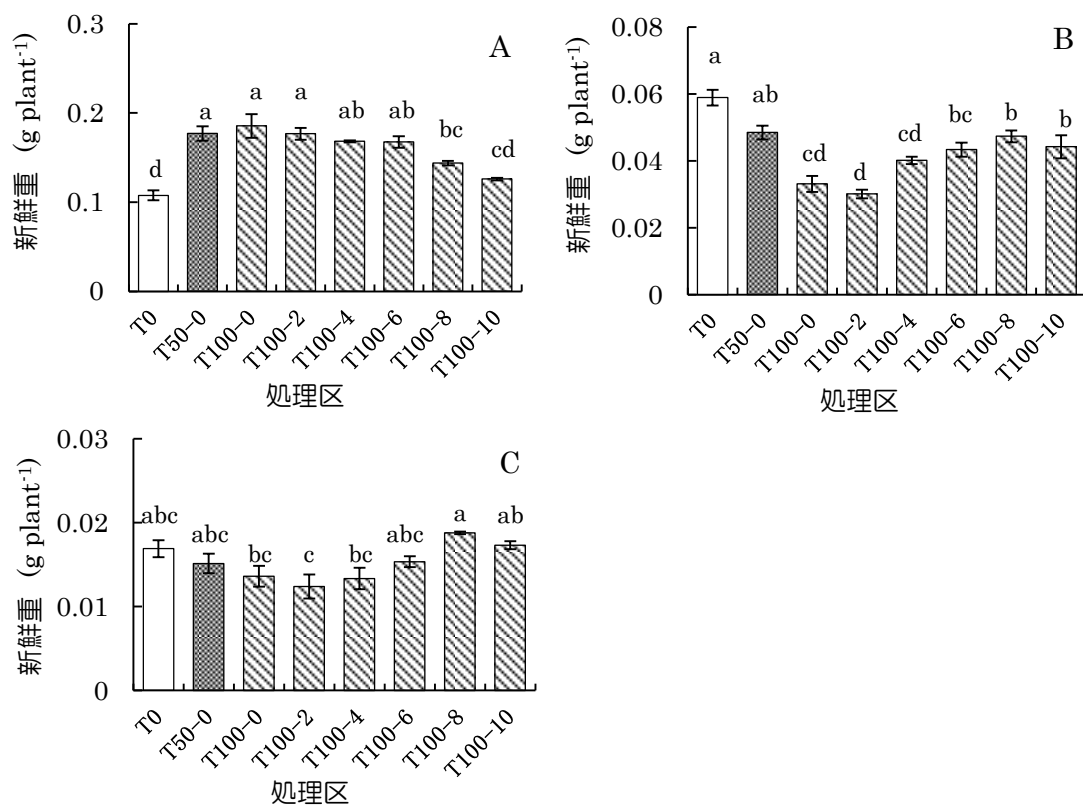


図 3-3-1 キャベツの葉(A)、茎(B)、根(C)の新鮮重

T₀ は対照区、T₅₀₋₀ は発芽前に 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、T₁₀₀₋₀ は発芽前に 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、T₁₀₀₋₂ は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、T₁₀₀₋₄ は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、T₁₀₀₋₆ は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、T₁₀₀₋₈ は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、T₁₀₀₋₁₀ は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 4 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 7 から 9 個体である。数値は 4 反復の平均値±標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

葉では NaCl 処理によって、発芽前に処理を開始した区でも発芽後に処理を開始した区でも T_0 区より新鮮重が増加した(図 3-3-1A)。発芽前に処理を開始した区では T_{50-0} 区が T_0 区の 1.64 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 1.72 倍であり、わずかに T_{100-0} 区の方が高い値を示した。

発芽後に処理を開始した区では処理開始の時期が遅くなるにつれて新鮮重が減少し、 T_0 区の 1.17 倍(T_{100-10} 区)から 1.64 倍(T_{100-2} 区)の範囲であった。最も低い T_{100-10} 区を除いて、 T_0 区との間には有意差が認められた。

茎では、葉の場合とは異なり NaCl 処理によって、発芽前に処理を開始した区でも発芽後に処理を開始した区でも T_0 区より新鮮重が減少した(図 2-3-1B)。発芽前に処理を開始したものは、 T_{50-0} 区が T_0 区の 0.82 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.56 倍であり、 T_{50-0} 区では T_0 区との間に有意差は認められなかったが、 T_{100-0} 区では有意に減少した。

発芽後に処理を開始した区では、葉の場合と異なり、処理の開始が遅くなるにつれて新鮮重が増加する傾向にあった。しかし、最も高い値を示した T_{100-8} 区でも T_0 区の 0.80 倍であり、NaCl 処理によって茎の伸長が抑制されたこと(表 3-3-1)とよく対応していた。草丈と茎の新鮮重との間には、 $r = 0.944$ の正の相関関係が認められた。

根では発芽前に処理を開始した区では、 T_0 区より新鮮重が減少した(図 3-3-1C)。 T_{50-0} 区は T_0 区の 0.89 倍、 T_{100-0} 区は T_0 区の 0.80 倍で、NaCl 濃度が高くなるにつれて減少はしたが、その程度は茎の場合と比較して小さく、有意差は認められなかった。

発芽後に処理を開始した区では、処理開始の時期が遅くなるにつれて新鮮重が増加する傾向にあり、 T_0 区の 0.73 倍(T_{100-2} 区)から、1.11 倍(T_{100-8} 区)までであった。しかし、 T_0 区との間に有意差は認められなかった。

3) NaCl が水分含有率に及ぼす影響

各器官別の収穫時の水分含有率を図 3-3-2 に示した。

葉では、発芽後に処理を開始した区のうち T_{100-10} 区を除く全ての処理区で水分含有

率が 95% 以上となり、全ての処理区において有意差は認められなかった(図 3-3-2A)。

茎では発芽前に処理を開始した区では、NaCl 濃度が増加するにつれて水分含有率が減少し(図 3-3-2B)、 T_{50-0} 区が T_0 区の 0.96 倍、 T_{100-0} 区が T_0 区の 0.95 倍であった。 T_0 区と T_{100-0} 区との間には有意差が認められた。

発芽後に処理を開始した区では全ての NaCl 処理区の水分会含有率が T_0 区の 0.95 倍であり、NaCl 処理の開始時期の違いによる変化は極めて小さかった。

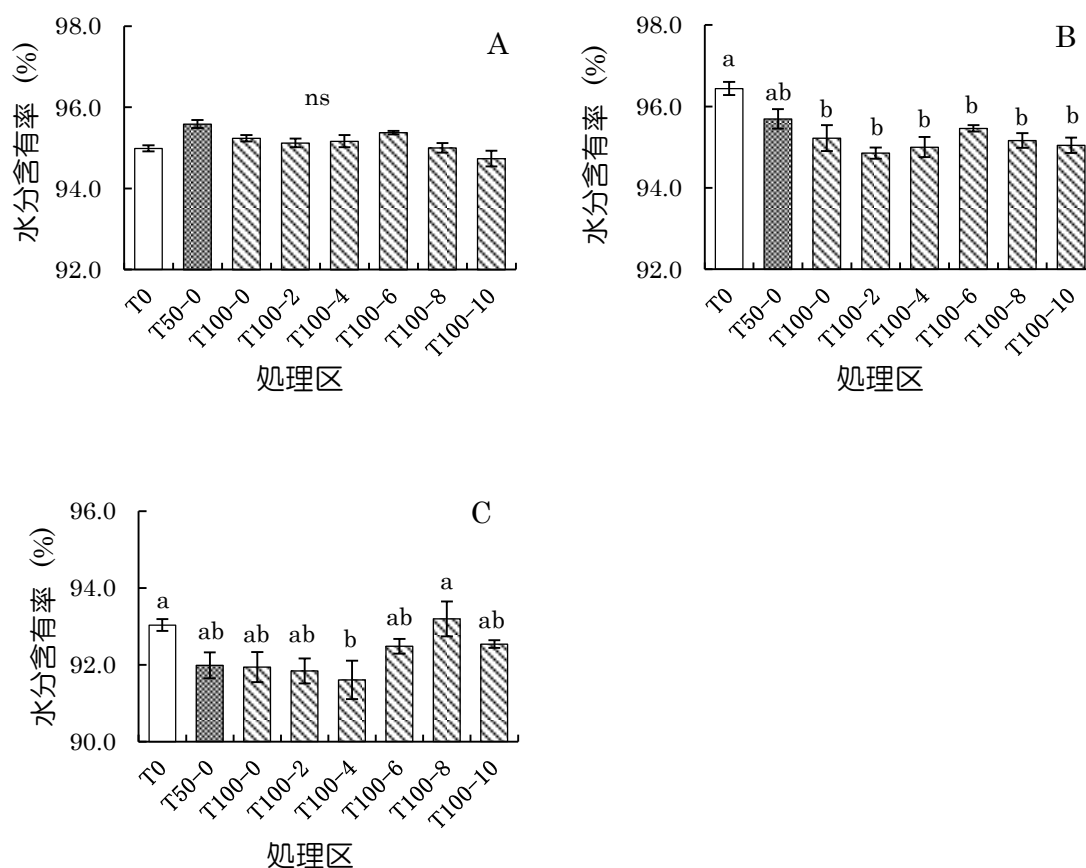


図 3-3-2 キャベツの葉(A)、茎(B)、根(C)の水分会含有率

T_0 は対照区、 T_{50-0} は発芽前に 50 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-0} は発芽前に 100 mmol L^{-1} NaCl 処理を行った区、 T_{100-2} は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-4} は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-6} は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-8} は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、 T_{100-10} は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 4 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 7 から 9 個体である。数値は 4 反復の平均値 \pm 標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

根の水分含有率は、発芽前に処理を開始した区では、 T_{50-0} 区、 T_{100-0} 区ともに T_0 区の 0.99 倍であり(図 3-3-2C)、処理濃度によって変化が認められなかった。

発芽後に処理を開始した区は、 T_0 区の 0.98 倍(T_{100-4} 区)から 1.00 倍(T_{100-8} 区)であった。しかし、 T_0 区との間に有意差が認められたのは、 T_{100-4} 区のみであった。

4. 考 察

100 mmol L⁻¹ NaCl 処理は、キャベツの生育を著しく抑制した(表 3-3-1)。最も抑制を受けたのは草丈であった。草丈は、発芽後の処理では処理開始の時期が遅くなるほど長くなる傾向にあり、これは、塩処理の開始が早い処理区において、塩処理後に生育が抑制されたことを示している。しかし、同じように草丈の伸長が著しく抑制されたインゲン(表 3-1-1)と異なり、キャベツにおいて茎の萎れは認められなかった。

100 mmol L⁻¹NaCl で処理を行ったインゲンの場合、 T_0 区の収穫時の草丈は 13.52 cm(表 3-1-1)であり、 T_0 区の収穫時の草丈が 3.42 cm(表 3-3-1)であったキャベツに比べてはるかに長かった。また、インゲンにおいて萎れにより苗が自立できず、早期に収穫した処理区の草丈は平均で 7.60 cm 以上であった。したがって、キャベツでは茎の基部から頂端までの長さが短かったことが萎れの発生が認められなかった原因のひとつではないかと考えられる。インゲンは通常、播種から収穫まで 55 日から 65 日程度である(農文協 2004)が、キャベツの場合は収穫まで 3 か月から 5 か月程度(農文協 2004)要する。今回収穫したキャベツは芽生えの状態であり、各器官の水分含有率(図 3-3-2)を見ると、92%から 96%が水分であった。したがって、生育段階の違いも影響しているかもしれない。

草丈と茎の新鮮重との間には高い正の相関関係が認められたが、茎の新鮮重(図 3-3-1B)では草丈(表 3-3-1)ほど処理間に有意差が認められなかったことから、NaCl 処理の開始時期が早い処理区では茎の太さが太くなっていた可能性が考えられる。

大沢(1965)は、キャベツを収穫期まで栽培し、1,000 ppm および 2,000 ppm NaCl 処理下(概ね 17 mmol L^{-1} および 34 mmol L^{-1} NaCl に相当する)では、収量の増加とともに、葉数も増加したと報告している。本研究では第1葉が展開したかどうかの生育段階で収穫を行ったため、葉数については T_{100-8} 区が T_0 区に対して有意に多かったのを除いて、 T_0 区との間に有意差が認められなかったが、葉の新鮮重は T_{100-10} 区を除いて有意に増加した。葉の水分含有率については全ての処理区において有意差が認められなかったことから、NaCl 処理により、葉の面積が増大または肥厚したか、あるいは硬化したことが考えられる。栽培期間中の観察でも、NaCl 処理区の葉の大きさは T_0 区より大きかったことが認められた。また、 T_{100} 区においては葉の表面に光沢も認められた。大沢(1965)は、キャベツでは 8,000 ppm および 16,000 ppm NaCl 処理(概ね 137 mmol L^{-1} および 274 mmol L^{-1} NaCl に相当する)において葉の表面が異常にワックス質で覆われることを報告している。藤原ら(2002)は、キャベツの播種後約 1 か月の苗が、5 日間の 0.3% NaCl 処理によって、葉の表面のワックス量を対照区よりも 20% 増加させたと報告している。そして、クチクラワックスの生成が促進され、クチクラ蒸散が抑制される結果、葉の水利用効率が向上し、乾燥環境への適用性が向上する、と述べている。本研究においても、キャベツでは葉の萎れもなく、葉の水分含有率は、全ての器官の中で最も高かった。したがって、キャベツの幼植物における塩に対する耐性は、葉の表面のワックス量の変化によるところが大きいのではないかと考えられる。田附と塩(2007)は、塩に対する耐性がやや弱いキュウリの幼植物を用いて塩ストレス下における茎の太さと蒸散速度との関係を調査している。これによると、顕著な萎れを伴わない 60 mmol L^{-1} NaCl までの塩濃度の範囲においては、両者の間に比例関係が認められ、塩ストレスによって茎の太さと蒸散速度がともに低下した。本研究のキャベツでは、 T_{100} 処理区において葉の表面のワックス量が増加したと考えられるが、茎の太さも太くなっている可能性があり、茎の太さが茎の細胞の膨圧にほぼ比例する(田附、塩 2007)と考えると、茎の膨圧を維持しながら、葉の蒸散速度を低下させて、体内の水分

含有率を高く維持していたことも窺える。

大沢(1965)はキャベツを耐塩性蔬菜として分類しており、低濃度の NaCl によって生育促進効果が認められるのは、好 Na 性植物の示す特異的反応のようである、と指摘している。

したがってキャベツの幼植物は、発芽時には塩に対する耐性を獲得している可能性が考えられる。

5. 要 約

塩に対する耐性がやや弱いキャベツを用いて、100 mmol L⁻¹NaCl 処理を行い、塩処理開始時期の違いが生育に及ぼす影響を調査した。

100 mmol L⁻¹NaCl 処理は、キャベツの茎の生育を抑制した。収穫時の草丈は処理の開始時期が遅くなるほど長くなっており、これはキャベツにおいて幼植物が塩処理下においてよく生長できなかったことを示している。葉は塩処理区で大きくなり、また、表面には光沢が認められた。根長については全ての処理区において有意差は認められなかった。全ての処理区で葉や茎に萎れが生じることはなかった。

新鮮重は葉では処理開始が遅くなるにつれて減少し、茎では処理開始が遅くなるにつれて増加した。収穫時の幼植物が芽生えの段階であったこともあり、各器官の水分含有率は、いずれも高い値を示した。したがって、キャベツは発芽時に耐性を獲得している可能性が考えられる。

3-4 50 mmol L⁻¹ および 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理下においてズッキーニの幼植物はどのような応答を行うか

1. 目的

塩に対する耐性がやや強いズッキーニは、高濃度の塩ストレス下において発芽の開始に遅れが認められた。しかし、種子の吸水については対照区と比較して大きな差は認められなかった。したがって、ズッキーニの種子は発芽を開始する前に浸透調節等を行っているのではないかと仮定した。そこで、発芽前および発芽後に塩処理開始の時期をずらして塩ストレスを与え、発芽後の幼植物の生育にどのような変化が認められるのかを調査した。

2. 材料と方法

1) 供試植物

供試植物としては FAO の分類によると塩に対する耐性がやや強いズッキーニ (*Cucurbita pepo* 品種 ダイナー) を用いた。

2) 栽培条件

種子を発芽させるために 10 のプラスチックトレイ (10 cm × 15 cm) を準備した。対照区および発芽後の塩処理区用として、8 つのトレイには 20 mL の蒸留水、発芽前の 50 mmol L⁻¹ 塩処理区用として、1 つのトレイに 20 mL の 50 mmol L⁻¹ NaCl、発芽前の 100 mmol L⁻¹ 塩処理区用として、最後のトレイに 20 mL の 100 mmol L⁻¹ NaCl を入れた。プラスチックトレイには脱脂綿を敷き、その上に種子を播種した。1 トレイあたり 20 から 25 粒の種子を用いた。トレイにはプラスチック製の蓋をし、25°C 暗所の培養室内に置いた。

トレイは毎日重量を測定し、処理濃度が変化しないよう、蒸留水を補充した。

播種から2日後までに、種子は発芽した。播種後3日目に、発芽した種子を60 mLの培養液を入れた200 mL容のプラスチックポット(6.5 cm × 6.5 cm × 6.5 cm)に移した。発芽した種子を支えるためにポットにはスポンジ(6 cm × 6 cm × 2 cm)を敷いた。培養液には0、50 または 100 mmol L⁻¹ NaClとなるよう、NaClを添加した。

播種後6日目に0、50 または 100 mmol L⁻¹ のNaClを含む40 mLの培養液を追加し、全量を100 mLとした。ポットは毎日重量を測定し、処理濃度が変化しないよう、蒸留水を補充した。

各処理3反復で、1ポットあたり5個体とした。実験は25°Cの培養室で蛍光灯の照明により明期14時間、暗期10時間の条件下で行った。幼根が培養液に到達するまでポットにはプラスチック製の蓋をした。

3) 塩処理

NaCl濃度は0 mmol L⁻¹(T₀、対照区)、50 mmol L⁻¹(T₅₀)または100 mmol L⁻¹(T₁₀₀)の3種類とした。T₀区を除き、NaCl処理を1日おきにずらして開始した。処理区の表示については**3-1**に準ずる。

播種後19日で幼植物を収穫した。しかし、茎に萎れが生じたものはそれより早く収穫した。収穫後、草丈、葉数、根長、茎の太さおよび新鮮重を測定した。根はスポンジから引き抜くときに切断することが多かったため、根長は参考値である。試料は70°Cで48時間乾燥させ、乾物重を測定した。水分含有率の計算は**3-1**と同様に行った。

4) 統計処理

統計処理の方法は、**3-1**と同様に行った。

3. 結果

1) NaCl が生育に及ぼす影響

ズッキーニの種子の播種後 2 日における発芽率は、蒸留水に播種した 8 つのトレイ (T_0 区および $T_{50/100-2}$ 区以降用) が 76.0% から 96.0%、平均で 84.5%、 T_{50-0} 区が 85.0%、 T_{100-0} 区が 95.0% であった。NaCl 処理は発芽時において影響を与えなかった。

胚軸は播種後 3 日から 4 日にかけて出現した。 T_0 区の草丈(胚軸を含む)は播種後 5 日から 6 日にはおよそ 2 cm から 3 cm、播種後 7 日から 10 日にかけてはおよそ 7 cm から 10 cm であった。葉の萎れや葉の縁の巻き込みは、 T_{100-6} 区から T_{100-10} 区にかけて、また茎の軟化は T_{100-8} 区で、播種後 12 日に生じた。茎に萎れが生じた幼植物は、 T_{100-6} 区が 1 個体(4 反復中 1 ポット)、 T_{100-8} 区が 4 個体(4 反復中 2 ポット)、 T_{100-10} 区が 4 個体(4 反復中 3 ポット)であった。茎に軟化が生じた幼植物は T_{100-8} 区が 2 個体(4 反復中 2 ポット)であった。 T_{100-8} 区の茎は、播種後 14 日には糸状に収縮した。 T_{100-6} 区から T_{100-10} 区までの茎も、播種後 17 日には糸状に収縮した。

T_{50} 処理区においては、葉の縁の巻き込みや葉の黄化は、播種後 16 日に初めて認められた。

茎に萎れが生じたため自立できなくなり、播種後 19 日より前に収穫した幼植物は、 T_{100-4} 区と T_{100-6} 区が各 1 個体(4 反復中各 1 ポット)、 T_{100-8} 区が 13 個体(4 反復中 3 ポット)、 T_{100-10} 区が 14 個体(4 反復中 3 ポット)であった。1 ポットあたりの個体数は、移植当初は 5 個体ずつであったが、カビの発生などの影響により、収穫時には 2 個体から 5 個体となった。

NaCl 処理は幼植物の生育に影響を与え、特に草丈の伸長を著しく阻害した(表 3-4-1)。草丈は発芽前に処理を開始した区では、 T_{50-0} 区が T_0 区の 88.1%、 T_{100-0} 区が T_0 区の 52.8% であった。 T_{50-0} 区の草丈は、発芽後に処理を開始した T_{50} 処理区の各区に比べて長かった。

T₁₀₀ 処理区では発芽後早い時期に処理を開始した、T₁₀₀₋₂ 区と T₁₀₀₋₄ 区の草丈が T₁₀₀₋₀ 区より長かったが、処理間で有意差は認められなかった。

葉数は発芽前に処理を開始した区では、T₅₀₋₀ 区が T₀ 区の 66.7%、T₁₀₀₋₀ 区が T₀ 区の 81.8%であった。発芽後に処理を開始した区では、T₅₀ 処理区については有意差が認められなかったが、T₁₀₀ 処理区では T₀ 区の 13.7% (T₁₀₀₋₈) から 79.9% (T₁₀₀₋₂) となり、NaCl 処理開始の時期が遅い処理区で著しく減少した。T₁₀₀₋₈ 区および T₁₀₀₋₁₀ 区とその他の T₁₀₀ 処理区との間には有意差が認められた。

根長は、発芽前に処理を開始した区では T₅₀₋₀ 区が T₀ 区の 121.6%、T₁₀₀₋₀ 区が T₀ 区の 84.0%であった。根長については処理区内の標準誤差が大きかったため、全ての処理区において処理間に有意差は認められなかった。

茎の太さは、発芽前に処理を開始した区では T₅₀₋₀ 区が T₀ 区の 108.0%、T₁₀₀₋₀ 区が T₀ 区の 115.0%であり、NaCl 処理により、茎の太さが増加した。発芽後に処理を開始した区でも同様の傾向が認められたが、T₁₀₀ 処理区のうちいくつかは茎が萎れたため、茎の太さを測定することができなかった。

表3-4-1 収穫時の生育調査

処理区	草丈 (cm)	葉数	根長 (cm)	茎の太さ (cm)
T ₀ (対照区,0 mmol L ⁻¹ NaCl)	12.57 ± 0.63 a	3.13 ± 0.63 a	4.26 ± 0.19 ns	1.00 b
T ₅₀₋₀ (50 mmol L ⁻¹ NaCl、発芽前に処理開始)	11.08 ± 0.51 ab	2.09 ± 0.51 b	5.18 ± 0.42 ns	1.08 ab
T ₅₀₋₂ (播種後2日に処理開始)	8.75 ± 0.32 bcd	2.45 ± 0.32 ab	3.31 ± 0.35 ns	1.23 ab
T ₅₀₋₄ (播種後4日に処理開始)	8.96 ± 0.36 bcd	3.00 ± 0.36 a	4.48 ± 0.83 ns	1.13 ab
T ₅₀₋₆ (播種後6日に処理開始)	9.83 ± 0.42 bc	2.95 ± 0.42 a	8.68 ± 1.41 ns	1.26 a
T ₅₀₋₈ (播種後8日に処理開始)	8.77 ± 0.37 bcd	3.34 ± 0.37 a	5.99 ± 0.57 ns	1.23 ab
T ₅₀₋₁₀ (播種後10日に処理開始)	9.18 ± 0.51 bcd	2.62 ± 0.51 ab	4.47 ± 1.07 ns	1.08 ab
T ₁₀₀₋₀ (100 mmol L ⁻¹ NaCl、発芽前に処理開始)	6.64 ± 0.52 de	2.56 ± 0.52 ab	3.58 ± 2.21 ns	1.15 ab
T ₁₀₀₋₂ (播種後2日に処理開始)	7.34 ± 0.73 cde	2.50 ± 0.73 ab	4.40 ± 0.99 ns	0.98 ab
T ₁₀₀₋₄ (播種後4日に処理開始)	7.83 ± 0.34 cde	2.28 ± 0.34 ab	4.52 ± 0.96 ns	wilted
T ₁₀₀₋₆ (播種後6日に処理開始)	6.83 ± 0.82 de	2.42 ± 0.82 ab	5.97 ± 0.42 ns	1.20 ab
T ₁₀₀₋₈ (播種後8日に処理開始)	5.62 ± 0.22 e	0.43 ± 0.22 c	4.00 ± 0.55 ns	wilted
T ₁₀₀₋₁₀ (播種後10日に処理開始)	5.93 ± 0.55 e	0.72 ± 0.55 c	4.29 ± 0.77 ns	wilted

数値は3反復の平均値±標準誤差。1ポットの個体数は2から5個体。異なるアルファベットはTukeyの方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを、nsは処理間に有意差が認められなかったことを示している。

2) NaCl が新鮮重に及ぼす影響

各器官別の収穫時の新鮮重を図 3-4-1 に示した。発芽前に処理を開始した T_{50-0} 区の新鮮重は全ての器官で増加した。葉では T_0 区の 1.04 倍、茎では T_0 区の 1.10 倍、根では T_0 区の 1.69 倍であった。しかし、全ての器官において T_0 区と T_{50-0} 区との間には有意差が認められなかった。一方、 T_{100-0} 区の新鮮重は、葉では T_0 区の 0.93 倍、

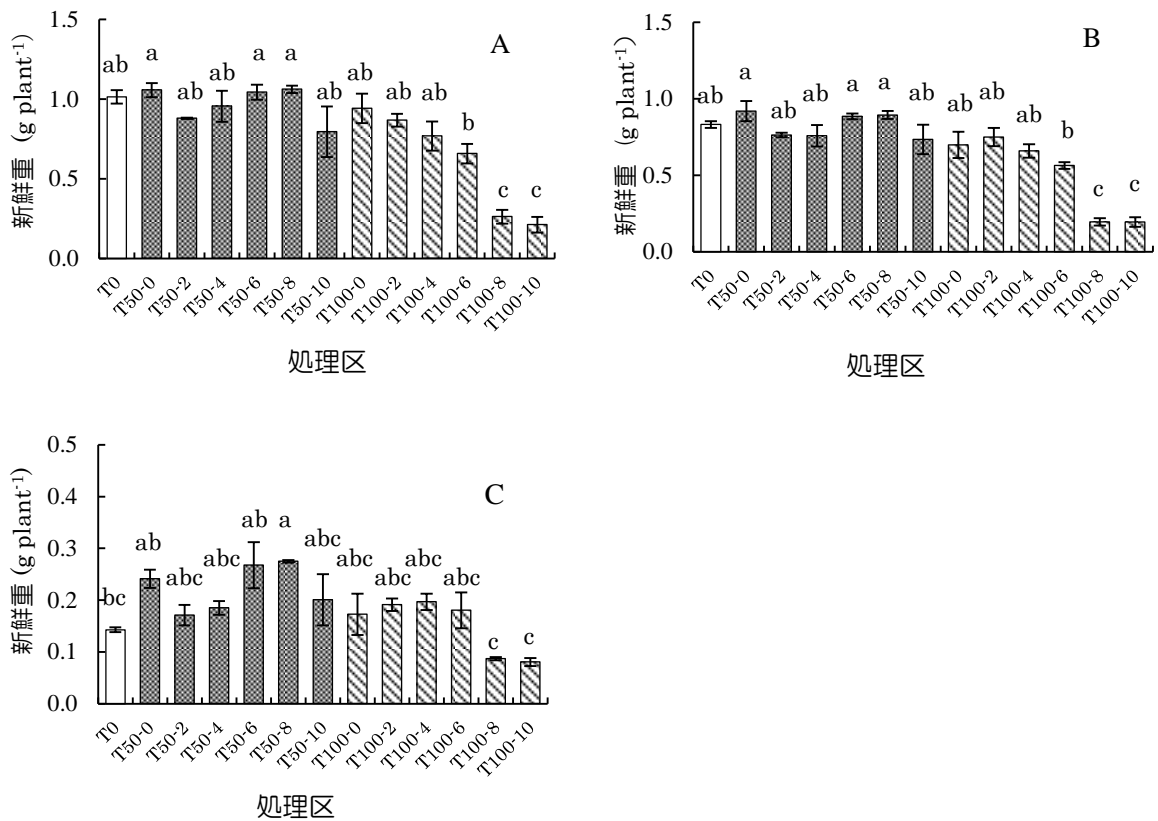


図 3-4-1 ズッキーニの葉(A)、茎(B)、根(C)の新鮮重

T_0 は対照区、 T_{50-0} は発芽前に 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、 T_{100-0} は発芽前に 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、 T_{50-2} 、 T_{100-2} は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-4} 、 T_{100-4} は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-6} 、 T_{100-6} は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-8} 、 T_{100-8} は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、 T_{50-10} 、 T_{100-10} は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 3 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 2 から 5 個体である。数値は 3 反復の平均値 ± 標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

茎では T_0 区の 0.84 倍に減少したが、全ての器官において T_0 区と T_{100-0} 区との間には有意差は認められなかった。

発芽後早く処理を開始した T_{50-2} 区と T_{50-4} 区では全ての器官の新鮮重が T_{50-0} 区より小さかった。 T_{50-10} 区を除いて、葉と茎の新鮮重は処理開始の時期が遅くなるにつれて増加する傾向にあった(図 3-4-1 A, B)。根の新鮮重は、 T_{50-4} 区と T_{50-6} 区との間で著しく増加した(図 3-4-1 C)。 T_0 区に対して、 T_{50-4} 区は 1.29 倍、 T_{50-6} 区は 1.87 倍であった。

発芽後に処理を開始した T_{100} 処理区では、全ての器官で処理開始の時期が遅くなるにつれて新鮮重が減少する傾向にあった(図 3-4-1 A, B, C)。特に T_{100-8} 区および T_{100-10} 区の新鮮重は、葉では T_0 区の 0.26 倍および 0.21 倍、茎ではともに T_0 区の 0.23 倍、根では T_0 区の 0.61 倍および 0.56 倍と著しく小さかった。しかし、根については処理区間で有意差は認められなかった。

3) NaCl が水分含有率に及ぼす影響

収穫時の各器官の水分含有率を図 3-4-2 に示した。葉と茎では T_0 区と T_{50-0} 区との水分含有率の間には有意差は認められず、葉では T_0 区の 0.99 倍、茎では T_0 区の 1.01 倍であった(図 3-4-2A, B)。根においても T_0 区と T_{50-0} 区との水分含有率の差は小さく、 T_0 区の 1.02 倍であった(図 3-4-2C)。

葉と茎において、 T_{100-8} 区と T_{100-10} 区の水含有率は、 T_0 区より著しく低かった(図 3-4-2A, B)。根でも、 T_{100-8} 区と T_{100-10} 区の水含有率は T_0 区より低かったが、その差は全ての器官の中で最も小さかった。また、 T_0 区との間に有意差が認められたのは T_{100-10} 区のみであった。

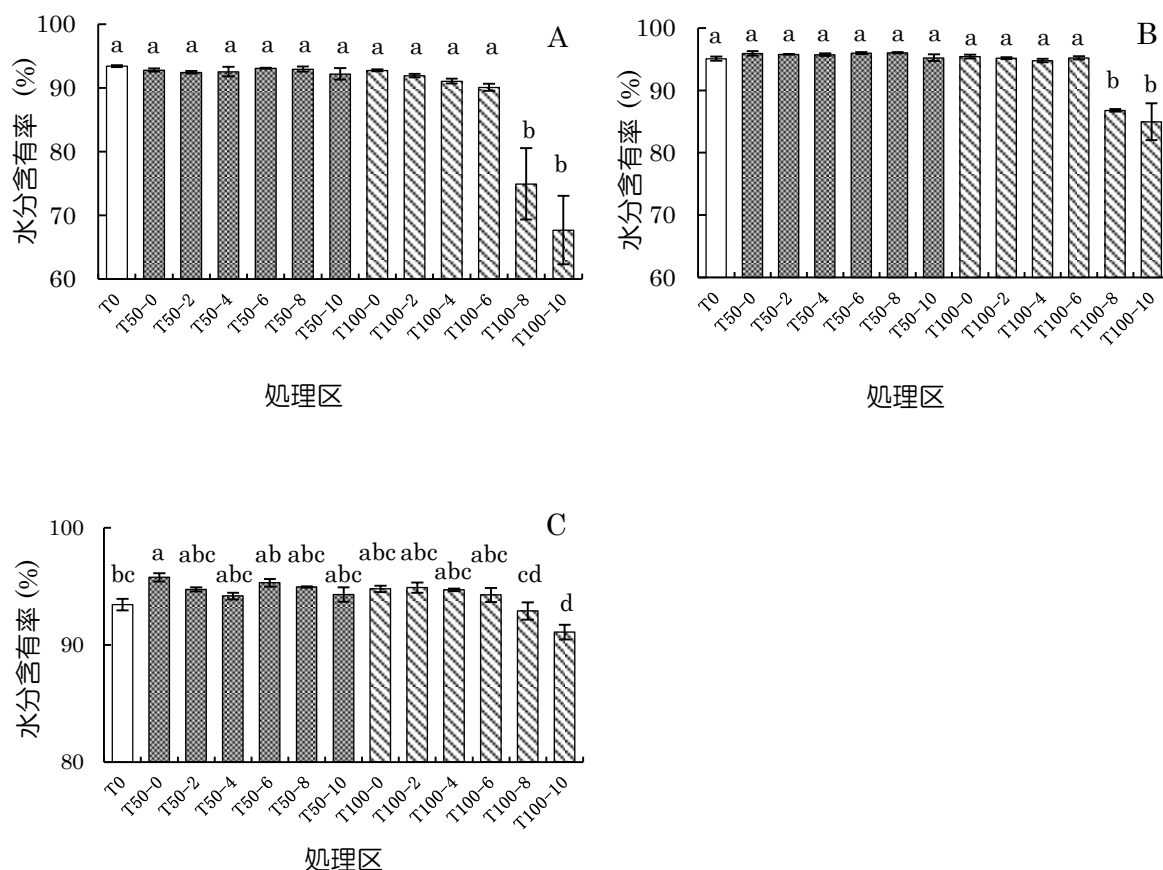


図 3-4-2 ズッキーニの葉(A)、茎(B)、根(C)の水分含有率

T₀は対照区、T₅₀₋₀は発芽前に 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、T₁₀₀₋₀は発芽前に 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₂、T₁₀₀₋₂は播種後 2 日に NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₄、T₁₀₀₋₄は播種後 4 日に NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₆、T₁₀₀₋₆は播種後 6 日に NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₈、T₁₀₀₋₈は播種後 8 日に NaCl 処理を行った区、T₅₀₋₁₀、T₁₀₀₋₁₀は播種後 10 日に NaCl 処理を行った区である。各処理は 3 反復で収穫時の 1 ポットあたりの個体数は 2 から 5 個体である。数値は 3 反復の平均値±標準誤差で示している。異なるアルファベットは Tukey の方法による多重比較 ($p < 0.05$) によって処理間に有意差が認められたことを示している。

4. 考察

Villoraら(2000)によると、塩に対する耐性がやや強いズッキーニ *Moschata* の果実収量は 80 mmol L⁻¹ NaCl 処理によって対照区や 20 および 40 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行った場合より増加したと報告されている。したがって本研究で採用した 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理はズッキーニの幼植物に対して悪い影響を及ぼさないであろうと考えた。

NaCl 処理は、葉数や根長よりも茎の伸長を最も強く阻害した(表 3-4-1)。しかし、表

に示した数値は収穫時に測定したものであり、NaCl 処理を開始する前に伸長した部分を含んでいる。胚軸が出現したのは播種後 3 日目から 4 日目にかけてであったため、NaCl 処理を開始した時における $T_{50/100-2}$ 区および $T_{50/100-4}$ 区の草丈は 0 cm から 1 cm 程度であったと考えられる。したがって、これらの処理区の茎は、NaCl 処理開始後に伸長したことになる。本研究では、NaCl 処理を開始した時に草丈を測定していないが、 T_0 区の草丈は、発芽後 5 日および 6 日においては 2 cm から 3 cm 程度であり、発芽後 7 日目から 10 日目においては 7 cm から 10 cm 程度であった。 T_{100-8} 区および T_{100-10} 区の草丈は収穫時において、それぞれ 5.62 cm および 9.18 cm であったことから、これらの処理区の茎は、NaCl 処理開始後にほとんど伸長しなかったことになる。 T_{100-4} 区、 T_{100-8} 区、 T_{100-10} 区では茎が萎れ、自立できなくなったが、これは、幼植物が高濃度の NaCl に耐えきれなかったことを示している。そして、発芽後にズッキーニの塩に対する耐性が弱くなったことを示唆している。

NaCl 処理によって草丈の伸長が抑制されたのに対し、葉数は T_{100-8} 区と T_{100-10} 区を除き、各処理間で有意差が認められなかった(表 3-4-1)。これは、 $T_{50/100-0}$ 区、 $T_{50/100-2}$ 区の処理開始時において草丈が 0cm、 $T_{50/100-10}$ 区の処理開始時において草丈が 7 cm から 10cm であったと考え、草丈については処理開始時に 5cm 以上の差があったのに対し、葉については全ての処理区において子葉が展開する前に NaCl 処理を開始したため、処理開始時期の違いによる変化が出にくかったためではないか、と考えられる。

発芽後に処理を開始した T_{50} 処理区と T_0 区との間には、草丈において有意差が認められた(表 3-4-1)が、茎の新鮮重については両者の間に有意差が認められなかった(図 3-4-1B)。これは T_{50} 処理区の茎が T_0 区より太かったためである(表 3-4-1)と考えられる。Zhu ら(2008)によると、塩に対する耐性がやや弱いキュウリでは、 50 mmol L^{-1} NaCl 処理によって草丈と茎の直径がともに減少した。一方、塩に対する耐性がやや強い umbu では、樹高より茎の太さの方が塩ストレスによる影響を受け難かった(da Silva ら

2008)。したがって、茎が太くなることは、塩に対する耐性に関係していると考えられる。

T₁₀₀ 処理区においては、NaCl 処理開始の時期が早く、生育が進む前に塩処理を開始した処理区の幼植物の茎は、短くて太い傾向にあった。そして、それらの幼植物は、生育が進んだ後で塩処理を開始したために、長くて細い茎を持つこととなった NaCl 処理開始の時期が遅い処理区の幼植物に比べて、萎れを生じた割合が低かった。

根では T₁₀₀₋₈ 区と T₁₀₀₋₁₀ 区を除く全ての NaCl 処理区で新鮮重が T₀ 区より増加した(図 3-4-1C)。塩に対する耐性がやや強いコムギでは 50 mmol L⁻¹ NaCl 処理により根の生長が阻害された(Zhang ら 2014)。これに対して、塩に対する耐性がやや弱いナスでは 16 dS m⁻¹ NaCl までの塩処理により根の生長が促進された(Basalah 2010)。塩に対する耐性がやや弱いブドウの接ぎ木の台木は、50 mmol L⁻¹ NaCl 処理によって、根の長さが対照区より長くなった(Upreti and Murti 2010)。また、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理では、塩に対する耐性が強い品種の台木は根の長さがさらに長くなったが、塩に対する耐性が弱い品種の台木は根の長さが対照区より短くなった。このように NaCl によって引き起こされる根の伸長阻害の程度は塩に対する耐性とは一致していないが、ブドウでは塩類環境下における生長と生産性を維持するために、接ぎ木の台木には塩に対する耐性の強いものを使用することが広く行われている。したがって根の生長が良いことは、植物の耐塩性にとって重要であると考えられる。

根の水分含有率は全ての NaCl 処理区で 90%を超えていた(図 3-4-2C)。また、T₁₀₀₋₈ 区と T₁₀₀₋₁₀ 区においても、根の新鮮重は、葉や茎の場合に比べて減少の程度が最も小さかった(図 3-4-1C)。これは根が NaCl によって生育阻害を受けにくい器官であることを示している。

葉と茎では T₁₀₀₋₈ 区と T₁₀₀₋₁₀ 区を除いて水分含有率は大きく変化しなかった(図 3-4-2 A, B)。山内と長井(1985)によると、多くの作物では葉の水分含有率は 40 mmol L⁻¹ NaCl 処理によって増加し、ズッキーニと近縁であるカボチャでは 60 mmol L⁻¹ NaCl 処理によって葉の水分含有率がさらに増加した。しかし本研究では、ズッキーニの幼植物

において、 T_{50} 区および T_{100} 区の葉の水分含有率が T_0 区を大きく超えることはなかった (図 3-4-2A)。山内と長井は葉数の平均が 1.6 枚から 11.5 枚まで(カボチャについては 3.2 枚)の間に塩処理を開始しており、本研究で用いたズッキーニの場合より生育段階が進んでからの処理であった。水分含有率の違いは、処理開始時の生育段階の差によるものであるかもしれない。

茎の水分含有率は T_{50} 処理区、 T_{100-0} 区、 T_{100-2} 区、 T_{100-6} 区において T_0 区より高く、根の水分含有率は上記の処理区に加えて T_{100-4} 区でも T_0 区より高かった。このようにズッキーニの幼植物は NaCl の存在下でも高い水分含有率を維持していた。

根の新鮮重と水分含有率は、葉や茎の場合と比べて処理区による差が最も小さかった (図 3-4-1C、3-4-2C)。劉ら (2008) は、イネを用いて根の直径別の根長と根の表面積を測定し、塩に対する耐性が強い品種は NaCl 処理によって直径 0.169 mm 以下の 2 次根や 3 次根、および直径 0.5 mm 程度の根冠の減少程度が少なかったことを報告している。根長および根の表面積の低下が少ないことは吸水力を高く維持し、水分吸収を行う根の表面積に対する蒸散を行う葉の面積比を小さくすることで茎葉部への水分供給に有利である。したがって根系の充実している品種は耐性が強かった、と劉らは述べている。イネでは茎葉部の Na 含有率の低いものほど塩に対する耐性が強い。ズッキーニでは、塩処理の濃度が高くなるにつれて、葉の Na 濃度が高くなる品種 (Moschata) と、根の Na 濃度が高くなる品種 (Isotta) があり、定かではないが、本研究においても、根の大きいことは塩に対する耐性に寄与していると考えられる。全ての T_{50} 処理区において、根の新鮮重は T_0 区を上回っており、 T_{100} 区においても、根の新鮮重は T_{100-8} 区と T_{100-10} 区を除いて T_0 区を上回っていた (図 3-4-1C)。

このようにズッキーニは、 T_{50} 処理区と T_{100} 処理区では異なった応答を示したことから、両者を別々に考察することにする。 T_{50} 処理区では、NaCl 処理の開始時期の違いによって生育が抑制されることはなかった (表 3-4-1、図 3-4-1)。これはズッキーニにとって 50 mmol L^{-1} NaCl がストレスとなる濃度ではなかったことを意味している。一方、 T_{100} 処理

区では NaCl 処理開始の時期が遅くなるにつれて、生育抑制の程度が強くなった(表 3-4-1、図 3-4-1)。しかし、発芽前に処理を開始した T_{100-0} 区では、全ての器官の新鮮重について T_0 区との間に有意差が認められなかった。これはズッキーニが発芽前から塩に対する耐性を獲得していたことを意味している。第2章において、耐塩性の強い種の種子は発芽前にまず浸透調節等を行うのではないかと仮定した。 T_{50-0} 区および T_{100-0} 区の根の水分含有率は T_0 区より高かった。これは 100 mmol L^{-1} NaCl までの濃度の範囲においてズッキーニが速やかに浸透調節等を行っていたことを示している。ズッキーニの幼植物の生育は、 100 mmol L^{-1} NaCl 処理によって抑制されたことから、 150 mmol L^{-1} および 200 mmol L^{-1} NaCl 処理はズッキーニにとって強い塩ストレスであると考えられる。したがって、これらの濃度では浸透調節等のためにより時間を要し、発芽の開始が遅れたと考えることができる。

しかし、ズッキーニの塩に対する耐性は、時間の経過とともに弱くなった。幼植物がある程度生長した後で塩処理を開始した場合、 T_{100-8} 区と T_{100-10} 区で認められたように生育は著しく抑制された。Passam ら(1994)によると、キュウリでは前処理の効果は発芽時および生育の初期には顕著であるが、その効果はより生育が進んだ苗の生育まで持続しなかった。したがって生育が進むにつれて、塩ストレスに応答する因子に何らかの変化が生じている可能性が考えられる。Yuan ら(2011)は、シロイヌナズナの変異体を用いて、発芽期および幼植物の発達時において、塩に対する応答に関与する ABA および発芽の促進に関与する GA のシグナル伝達には異なる遺伝子が関与していたと報告している。ズッキーニの生育段階が進むと、塩ストレスに対する応答が変化し、これらのホルモンの調節が異なっていたことも考えられる。

一般に、塩の存在しない環境は、塩に対する耐性が強い種においても発芽時においては最適条件である、と言われている。しかし、塩に対する耐性がやや強いズッキーニにとっては当てはまらないようである。本研究で調査した生育段階以降におけるズッキーニの塩に対する耐性の変化については今後さらに検討を行う必要がある。

ズッキーニのように塩に対する耐性がやや強い植物は、外部からの塩に対して発芽前に強い耐性を獲得している、と結論できる。

5. 要 約

塩に対する耐性がやや強いズッキーニを用いて、50 mmol L⁻¹ および 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理を行い、塩処理を開始する時期の違いが幼植物の生育に及ぼす影響を調査した。

50 mmol L⁻¹ NaCl 処理は、ズッキーニの茎の伸長を抑制したが、葉数、根長については T₀ 区を上回った区もあり、生育抑制の程度は低かった。また、茎の太さについてはむしろ T₀ 区より太くなっていた。この濃度では、葉および茎の新鮮重は T₀ 区と有意差がなく、根では全ての処理区で T₀ 区より増加した。水分含有率についても同様であった。したがって発芽前および発芽直後に塩処理を開始した処理区の幼植物も、塩ストレス下で生育を継続していたことが明らかになった。幼植物の塩に対する耐性は、根の発達と水分含有率の高さによるものであると考えられた。50 mmol L⁻¹ NaCl 処理区では、ズッキーニは発芽時から塩に対する耐性を獲得していた、と考えられる。

一方、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理は、ズッキーニの茎の伸長を著しく抑制した。しかし、塩処理区内では有意差は認められず、塩処理開始時期の早い区の幼植物が、塩ストレス下でも茎を伸長していたことが明らかになった。根長についてはすべての処理区で有意差が認められなかった。これらの結果から、ズッキーニは、発芽時から塩に対する耐性を獲得していた、と考えられる。しかし、発芽後 7 日以降に塩処理を開始した T₁₀₀₋₈ 区および T₁₀₀₋₁₀ 区においては全ての器官の新鮮重が著しく減少しており、生育が進んでから高濃度の塩処理を行った場合には、塩に対する耐性が弱くなることが明らかになった。

3-5 要約

インゲン、キャベツおよびズッキーニの幼植物を 0、50 または 100 mmol L⁻¹ NaCl の塩ストレス下で水耕栽培した。塩に対する耐性がいつ変化するのかを明らかにするため、塩処理を開始する時期を発芽前(播種時)と播種後 2 日、4 日、6 日、8 日または 10 日に設定した。

100 mmol L⁻¹ NaCl 処理はすべての種において茎の伸長を著しく抑制した。塩に対する耐性が弱いインゲンでは茎より根の伸長が阻害されたが、他の種では茎の伸長が最も抑制された。インゲンの収穫時の草丈および根長は、処理開始の時期が遅くなるにつれて長くなったが、これはインゲンの幼植物が塩処理下において生育できなかったことを示している。茎および根の新鮮重についても同様であった。最初に葉で萎れが生じたため、葉の水分含有率が著しく低くなった。したがって、インゲンでは、発芽前に塩に対する耐性を獲得しているとは考えられなかった。塩に対する耐性がやや弱いキャベツでも草丈は処理開始の時期が遅くなるにつれて長くなった。しかし、根長については処理区間で有意差は認められなかった。さらに葉は T₀ 区より大きくなった。葉の新鮮重は処理開始時期が遅くなるにつれて減少し、茎では逆となった。各器官の水分含有率も高い値を示した。したがって、キャベツは発芽前から塩に対する耐性を獲得している可能性が考えられた。塩に対する耐性がやや強いズッキーニは、茎の伸長については抑制されたものの、塩処理区内で有意差は認められず、塩処理開始時期の早い区でも、幼植物が生育を継続することができた。したがって、ズッキーニは発芽前から塩に対する耐性を獲得していることが明らかになった。しかし、発芽後 7 日以降に処理を開始した区では、全ての器官の新鮮重が著しく減少し、塩に対する耐性が弱くなった。

50 mmol L⁻¹ NaCl 処理はインゲン、ズッキーニともに茎の伸長を抑制したが、その程度は軽く、多くの塩処理区の間で有意差が認められなかった。したがって、この濃度では塩処理開始時期の早い区においても、幼植物が生育を継続することができた。ズッ

キーニでは NaCl 処理によって茎の太さが T₀ 区より太くなる傾向を示した。インゲン、ズッキーニともに葉、茎の新鮮重は T₀ 区に対して有意差が認められず、根の新鮮重は T₀ 区より高い値を示した。インゲンでは T₀ 区の根の発達が著しく悪かったことも影響している。しかし、インゲンでは全ての塩処理区において萎れや枯れが発生し、耐性を獲得していたとは考えられなかった。一方、ズッキーニでは発芽時から塩に対する耐性を獲得していたと考えられた。

これらの結果から、ズッキーニは発芽時から塩に対する耐性を獲得していたと考えられる。しかし、100 mmol L⁻¹ NaCl 処理区では幼植物がある程度生長した発芽後 7 日以降に塩処理を開始すると、塩に対する耐性が弱くなった。

第4章 総括

塩に対する耐性の異なる植物を用いて、発芽時と幼植物の発達時における NaCl 処理に対する応答の経時変化を調査した。

第2章では、まず発芽時の応答について4種の植物を用いて調査を行った。塩に対する耐性が弱いインゲンおよび塩に対する耐性がやや弱いキャベツは、キャベツの 200 mmol L⁻¹NaCl 処理区を除いて、塩処理下でも速やかに発芽した。これに対して塩に対する耐性がやや強いズッキーニと塩に対する耐性が強いアスパラガスは、対照区に対して発芽の開始に遅れが認められ、その程度は塩濃度が増加するにつれて大きくなった。しかしこれらの種子は、発芽を開始すると速やかに発芽率が上昇する傾向にあった。これは、塩に対する耐性がやや弱いキャベツの 200 mmol L⁻¹NaCl 処理区における発芽率が播種後7日まで低いままであったことと異なっていた。

塩に対する耐性が強い植物種において発芽に遅れが生じた原因について、ズッキーニとアスパラガスの種子が播種後の吸水を遅らせているためではないかと考え、種子の吸水について経時変化を調査した。その結果、対照区の種子が発芽を開始するまでの期間において、4種の種子の吸水速度に大きな差は認められなかった。また、各処理区相互にも大きな差は認められなかった。

したがって、塩に対する耐性が強い植物種では、吸水後、発芽を開始するまでに塩ストレスに対する応答を行っており、これが対照区に対して発芽が遅れる原因ではないか、という仮説を立てた。

第3章では、発芽後の幼植物の応答を調査した。第2章で立てた仮説に従えば、塩に対する耐性が弱いインゲン、および塩に対する耐性がやや弱いキャベツは、発芽時には塩に対して浸透調節等を行っていない。したがって、発芽前に塩処理を行った区と発芽後に塩処理を行った区を比較して、塩に対する応答の違いが生じれば、その時点で耐性に変化が生じたと考えられる。また、応答に違いが生じなければ、これらの種

では発芽時においても幼植物の発達期においても耐性を獲得していないことになる。

一方、塩に対する耐性がやや強いズッキーニは、発芽時において既に塩に対して浸透調節等を行っている。したがって、発芽前に塩処理を行った区と発芽後に塩処理を行った区とを比較して、塩に対する応答に違いが生じなければ、発芽時において獲得した耐性が幼植物の発達期においても維持されている、と考えられる。また、応答に違いが生じれば、その時点で耐性に変化が生じたことを示すことになる。

3-1および3-2では、インゲンについて、2種類の塩濃度 50 mmol L^{-1} NaCl 処理と 100 mmol L^{-1} NaCl 処理を設定し、それぞれの濃度に対する応答を調査した。インゲンの幼植物は、どちらの塩処理区においても葉の縁の巻き込み、萎れや茎の萎れなどの障害を生じた。しかし、 50 mmol L^{-1} NaCl 処理区では著しい生育の抑制は認められなかった。 100 mmol L^{-1} NaCl 処理区では、処理の開始時期が遅くなるにつれて収穫時の草丈、根長が増大する傾向にあったが、これは塩処理を早期に開始した処理区で生育が抑制されたことを意味しており、インゲンでは発芽時に耐性を獲得していないことが明らかになった。

インゲンの葉では、 100 mmol L^{-1} NaCl 処理区において早期に処理を開始した区の乾物重が増加したが、これは生育の遅れによって子葉が残っていたことによるものである、と考えた。

3-3ではキャベツについて、 100 mmol L^{-1} NaCl 処理に対する応答を調査した。キャベツの幼植物は茎の伸長について抑制が認められ、発芽前および発芽直後に塩処理を開始した処理区では著しく低くなった。しかし、根長については有意差が認められず、葉の大きさも大きくなった。また、葉および茎に萎れも認められなかった。したがって、発芽時に耐性を獲得している可能性が考えられた。

3-4ではズッキーニについて、 50 mmol L^{-1} NaCl 処理および 100 mmol L^{-1} NaCl 処理に対する応答を調査した。塩に対する耐性がやや強いズッキーニの幼植物でも 100 mmol L^{-1} NaCl 処理区では草丈の抑制が認められた。しかし、インゲン、キャベツの場合

と異なり、塩処理の開始が遅くなるにつれて生育の抑制が増大した。また、根長については有意差が認められなかった。葉および茎では萎れが認められたが、これも塩処理の開始が遅かった区で顕著であった。これはズッキーニが発芽時において耐性を獲得していたことを示している。そして、塩に対する耐性は生育が進むと弱くなった。

本研究では、耐性の獲得についての具体的な機構についてまで検討することはできなかったが、塩に対する耐性がやや強いズッキーニが発芽時から耐性を獲得していること、および幼植物の生育が進むと耐性が弱くなることが明らかになった。

謝 辞

本研究は、鳥取大学農学部教授藤山英保博士に懇切なご指導をいただきました。ここに心より深い感謝の意を表します。

また、本研究を遂行するにあたり、有益なご助言とご高閲を賜った鳥取大学農学部准教授山田智博士および島根大学生物資源科学部教授増永二之博士には謹んで厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行に当たり、多大なご協力をいただきました鳥取大学農学部生物環境化学研究室の皆様には感謝の意を表します。

参考文献

- (1) Adeel, Z., U. Safriel, D. Niemeijer and R. White (Core Writing Team):
Millennium Ecosystem Assessment, 2005. Ecosystems and Human Well-being: Desertification Synthesis. World Resources Institute, Washington, DC. (2005) p.1
- (2) Basalah, M. O: Action of salinity on seed germination and seedling growth of *Solanum melongena* L., *J. Agric. Res. Kafer El-Sheikh Univ.*, 36 (1), 64-73 (2010)
- (3) Bewley, J. D.: Seed germination and dormancy, *Plant Cell*, 9, 1055-1066 (1997)
- (4) Cakmak, I.: Plant nutrition research: priorities to meet human needs for food in sustainable ways, *Plant Soil*, 247, 3-24 (2002)
- (5) da Silva, E. C., R. J. M. C., Nogueira, F.P. de Araújo, N. F, de Melo, A. D. and D. A. Neto: Physiological responses to salt stress in young umbu plants, *Environ. Exp. Bot.*, 63, 147-157 (2008)
- (6) Dumbroff, E. B. and A. W. Cooper: Effects of salt stress applied in balanced nutrient solutions at several stages during growth of tomato, *Bot. Gaz.*, 135 (3), 219-224 (1974)
- (7) FAO: Agricultural drainage water management in arid and semi-arid areas, *FAO Irrigation and Drainage Paper* 61, annex 1, Crop salt tolerance data, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome (2002)
- (8) FAO Global Perspective Studies Unit: *World agriculture: towards 2030/2050 Prospects for food, nutrition, agriculture and major commodity groups interim report* , Food and Agriculture Organization of the United

Nations, Rome (2006)

- (9) Harper, J. L. and R. A. Benton: The behavior of seeds in soil: II. The germination of seeds on the surface of a water supplying substrate, *J. Ecol.*, 54 (1), 151-166 (1966)
- (10) Heenan, D. P., L. G. Lewin and D.W. McCaffery: Salinity tolerance in rice varieties at different growth stages, *Austr. J. Exp. Agric.*, 28 (3), 343-349 (1988)
- (11) Jamil, M., K. B. Lee, K. Y. Jung, D. B. Lee, M. S. Han and E.S. Rha: Salt stress inhibits germination and early seedling growth in cabbage (*Brassica oleracea* L.), *Pak. J. Biol. Sci.*, 10 (1), 910-914 (2007)
- (12) Kaddah, M. T., and S. I. Ghowail: Salinity effects on the growth of corn at different stages of development, *Agron. J.*, 56(2), 214-217(1964)
- (13) Maas. E. V. and J.A. Poss: Salt sensitivity of wheat at various growth stages, *irrig sci*, 10 (1) 29-40 (1989)
- (14) Mano, Y. and K. Takeda: Diallel analysis of salt tolerance at germination and the Seedling Stage in Barley (*Hordeum vulgare* L.), *Breeding Science* 47 (3), 203-209 (1997)
- (15) Miranda, D., C. Ulrichs and G. Fischer: Imbibition and percentage of germination of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) seeds under NaCl stress, *Agron. Colombiana*, 28 (1), 29-35 (2010)
- (16) Nukaya, A., M. Masui and A. Ishida: Salt tolerance of muskmelons as affected by diluted sea water applied at different growth stages in nutrient solution culture, *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.*, 53 (2), 168-175 (1984)
- (17) Ogawa, M., A. Hanada, Y. Yamauchi, A. Kuwahara, Y. Kamiya and S. Yamaguchi: Gibberellin biosynthesis and response during Arabidopsis seed

- germination, *Plant Cell*, 15, 1591-1604 (2003)
- (18) Passam, H. C. and D. Kakouriotis: The effects of osmoconditioning on the germination, emergence and early plant growth of cucumber under saline conditions, *Sci. Hort.*, 57 (3), 233-240 (1994)
- (19) Sekmen, A. H., I. Turkan, Z.O. Tanyolac, C. Ozfidan and A. Dinc:
Different antioxidant defense responses to salt stress during germination and vegetative stages of endemic halophyte *Gypsophila ob lanceolata* Bark, *Environ. Exp. Bot.*, 77, 63-76 (2012)
- (20) Sorkhi Lalelou, F., J. Shafagh-Kolvanagh and M. Fateh: Effect of salinity on germination indexes of medicinal plant naked pumpkin (*Cucurbita pepo*), *Intl J. Agri. Crop. Sci.*, 5 (13), 1424-1426 (2013)
- (21) Tani, C. and H. Sasakawa: Salt tolerance of *Casuarina equisetifolia* and *Frankia* Ceq1 strain isolated from the root nodules of *C. equisetifolia*, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 49 (2), 215-222 (2003)
- (22) UN: *World Population Prospects: The 2012 Revision Volume I: Comprehensive Tables*, United Nations, New York (2013)
- (23) Ungar, I. A.: Effect of salinity on seed germination, growth, and ion accumulation of *Atriplex patula* (Chenopodiaceae), *Am. J. Bot.*, 83 (5), 604-607 (1996)
- (24) Uno, Y., M. Kanechi, N. Inagaki, M. Sugimoto and S. Maekawa: The evaluation of salt tolerance during germination and vegetative growth of asparagus, table beet and sea aster, *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.*, 65 (3), 579-585 (1996)
- (25) Upreti, K. K. and G. S. R. Murti: Response of grape rootstocks to salinity: changes in root growth, polyamines and abscisic acid, *Biol. Plantarum* 54

- (4), 730-734 (2010)
- (26) Villora, G., D.A. Moreno, G. Pulgar and L. Romero: Yield improvement in zucchini under salt stress: determining micronutrient balance, *Sci. Hort.*, 86 (3), 175-183 (2000)
- (27) Xu, X., R. Fan, R. Zheng, C. Li and D. Yu: Proteomic analysis of seed germination under salt stress in soybeans, *J Zhejiang Univ. Sci. B*, 12 (7), 507-517 (2011)
- (28) Yasuda, M., A. Ishikawa, Y. Jikumaru, M. Seki, T. Umezawa, T. Asami, A. Maruyama-Nakashita, T. Kudo, K. Shinozaki, S. Yoshida and H. Nakashita: Antagonistic interaction between systemic acquired resistance and the abscisic acid-mediated abiotic stress response in Arabidopsis, *Plant Cell*, 20, 1678-1692 (2008)
- (29) Yuan K., A. M. Rashotte, J. W. Wysocka-Diller: ABA and GA signaling pathways interact and regulate seed germination and seedling development under salt stress, *Acta Physiol. Plant.* 33 (2), 261-271 (2011)
- (30) Zhang, J., X. Duan, F. Ding, H. Ma, T. Zhang and Y. Yang: Salinity induced the changes of root growth and antioxidative responses in two wheat cultivars, *Protoplasma*, 251 (4), 771-780 (2014)
- (31) Zhu, J., Z. Bie and Y. Li: Physiological and growth responses of two different salt-sensitive cucumber cultivars to NaCl stress, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 54 (3), 400-407 (2008)
- (32) 位田藤久太郎: 蔬菜の根の生理に関する研究(第1報) 蔬菜の根の酸素要求に就いて, *園學雜*, 21(4), 202-207 (1953)
- (33) 大沢孝也: 蔬菜の耐塩性に関する研究 とくに無機栄養に関して, 大阪府立大

- 学紀要, 16, 13-57 (1965)
- (34) 篠田雅人: 気候変動と乾燥地科学, 地学雑誌, 116 (6), 811-823 (2007)
- (35) 篠田雅人: 乾燥地科学シリーズ第2巻 乾燥地の自然, 古今書院, 東京
(2009) pp.7-8
- (36) 田附明夫, 塩 光輝: 数種浸透質の添加と無酸素または通気停止処理によるキュウリ幼植物体の水ストレスの画像診断, 園芸学研究, 6 (3), 367-373 (2007)
- (37) 農文協: 野菜園芸大百科 第2版 9 アスパラガス, 農文協, 東京 (2004)
pp.7-9
- (38) 農文協: 野菜園芸大百科 第2版 8 エンドウ インゲン ソラマメ エダマメ
その他マメ, 農文協, 東京 (2004) p.165
- (39) 農文協: 野菜園芸大百科 第2版 16 キャベツ ハナヤサイ ブロッコリー, 農
文協, 東京 (2004) pp.18-19
- (40) 藤原隆広 中山真義 菊地 直 吉岡 宏 佐藤文生: NaCl施用によるキャベツセル
ル成型苗の徒長抑制・順化効果, 園学雑, 71 (6), 796-804 (2002)
- (41) マーク・マスリン: 異常気象 地球温暖化と暴風雨のメカニズム, 緑書房, 東
京 (2006)
- (42) 山内益夫 田中 智 藤山英保: インゲン (*Phaseolus vulgaris* L.) における耐塩
性およびカチオンの吸収・移行に及ぼす塩化ナトリウムの影響の品種間差, 園學雑,
65 (4), 737-745 (1997)
- (43) 山内 益夫 長井 武雄: 作物のナトリウム吸収あるいは分布特性と耐塩性の
関係, 鳥取大学農学部研究報告, 38, 29-34 (1985)
- (44) 山本太平: 乾燥地科学シリーズ第3巻 乾燥地の土地劣化とその対策, 古今
書院, 東京 (2008)
- (45) 劉 建 辺嘉賓 塩津文隆 S.C. Ghosh 豊田正範 楠谷彰人: 水耕栽培で塩スト
レスを与えた水稻品種の耐塩性と根圏形態, 日作紀, 77 (3), 326-332 (2008)

要 約

中生植物の耐塩性については広く研究されており、塩ストレス下における生産量を基準にして、耐性が強い、やや強い、やや弱い、耐性が弱い、の 4 つに分類されている。しかし、塩に対する耐性は植物の生育段階によって変化する。この論文では、生育段階のうち発芽時に注目した。それは発芽が植物のその後の成長や収量に影響を及ぼすためである。

そこで塩に対する耐性の異なる 4 種の植物、インゲン(耐性が弱い)、キャベツ(やや弱い)、ズッキーニ(やや強い)、アスパラガス(耐性が強い)を用いて、0(対照区)、50、100、150、200mmol L⁻¹ NaCl 処理下での発芽率を比較した。

インゲンとキャベツは対照区、NaCl 処理区ともに速やかに発芽した。ただし、キャベツでは最も塩濃度が高い処理区で発芽が遅れが認められた。ズッキーニとアスパラガスは NaCl 処理区で対照区に比べて発芽が遅れた。

このためズッキーニとアスパラガスの種子はまず最初に浸透ポテンシャル等を調節し、その後吸水を行うのではないかと仮定した。しかしどの種も発芽までに対照区と NaCl 処理区との間には水分含有率に差は認められなかった。したがって NaCl による塩ストレスは、種子による吸水を阻害しなかった。

発芽時における耐塩性を判定する場合には、最終的な発芽率に加えて、発芽率の経時変化をも測定すべきであることが明らかになった。

インゲン、キャベツ、ズッキーニを用いて 0(対照区)、50 または 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理下で栽培を行い、生育のどの段階で塩に対する耐性を獲得するのかを調査した。

NaCl 処理は発芽前、播種後 2 日、4 日、6 日、8 日および 10 日に開始した。インゲンの幼植物は、どちらの塩処理区においても葉の縁の巻き込み、萎れや茎の萎れなどの障害を生じた。しかし、50 mmol L⁻¹ NaCl 処理区では著しい生育の抑制は認められなかった。100 mmol L⁻¹ NaCl 処理区では、処理の開始時期が遅くなるにつれて収穫時の草丈、根長が増大する傾向にあったが、これは塩処理を早期に開始した処理区で生育が抑制されたことを意味しており、インゲンでは発芽時に耐性を獲得していないことが明らか

かになった。

100 mmol L⁻¹ NaCl 処理は、キャベツの幼植物の茎の伸長を抑制し、発芽前および播種後2日に塩処理を開始した処理区では草丈が著しく低くなった。しかし、根長については有意差が認められず、葉も大きくなった。また、葉および茎に萎れも認められなかった。したがって、発芽時に耐性を獲得している可能性が考えられた。

NaCl 処理はズッキーニの幼植物の茎の伸長を著しく抑制した。葉数は 100 mmol L⁻¹ 処理区のうち播種後、8 日および 10 日に処理を開始した区においてのみ減少した。NaCl 処理は茎の太さを増加させる傾向を示した。葉と茎の新鮮重は 50 mmol L⁻¹ 処理区では変化しなかったが、100 mmol L⁻¹ 処理区では播種後 8 日および 10 日に処理を開始した区においては著しく減少した。根の新鮮重は、100 mmol L⁻¹ 処理区で播種後 8 日および 10 日に処理を開始した区を除いて、NaCl 処理により増加した。水分含有率は全ての器官において、100 mmol L⁻¹ 処理区で播種後 8 日および 10 日に処理を開始した区を除いて、対照区とほぼ同じ値を示した。NaCl 処理は 100 mmol L⁻¹ 処理区で播種後 8 日および 10 日に処理を開始した区を除いて、根の生長を促進する傾向を示した。これらの結果から、ズッキーニは発芽前から塩に対する高い耐性を持っていることが明らかになった。しかし、その耐性は時間の経過とともに弱くなった。したがって、ズッキーニのような耐塩性の強い種では、外界の塩に対する高い耐性を発芽前に獲得すると考えられる。

塩に対してやや耐性であるズッキーニの幼植物でも 100 mmol L⁻¹ NaCl 処理区では草丈の抑制が認められた。しかし、インゲン、キャベツの場合と異なり、塩処理の開始が遅くなるにつれて生育の抑制が増大した。また、根長については有意差が認められなかった。葉および茎では萎れが認められたが、これも塩処理の開始が遅かった区で顕著であった。これはズッキーニが発芽時において耐性を獲得していたことを示している。そして、耐性は生育が進むにつれて弱くなった。

英文要約

The salt tolerance of glycophytes has been widely studied. They can be classified as tolerant, moderately tolerant, moderately sensitive, or sensitive on the basis of their production under salt stress. However, salt tolerance varies during growth stage. Here, I focused on germination, as it affects subsequent growth and yield. I compared the germination percentages of four species with different tolerances to salt stress, bean (sensitive), cabbage (moderately sensitive), zucchini (moderately tolerant), and asparagus (tolerant), in 0, 50, 100, 150, or 200 mmol L⁻¹ NaCl. Bean and cabbage germinated quickly in the control and NaCl treatments, although cabbage showed delayed germination at the highest salinity. Germination of zucchini and asparagus in the NaCl treatments lagged behind that of the control. Therefore, I hypothesize that zucchini and asparagus seeds initially regulate their osmotic potential and then accelerate absorption of water before germination. There was no difference in seed water content of any species between the control and NaCl treatments until germination. Thus, salt stress imposed by NaCl does not inhibit water absorption by seeds. The results indicate that changes in the germination percentage over time should be measured in addition to the final germination percentage when salt tolerance during germination is assessed.

Bean (sensitive), cabbage (moderately sensitive) and zucchini (moderately tolerant) was grown in 0, 50, or 100 mmol L⁻¹ NaCl to investigate at which growth stage they acquire salinity tolerance. The NaCl treatments were started before germination and 2, 4, 6, 8, or 10 days after sowing.

Both NaCl treatments caused the curling of the last edges, wilting of leaf and stem in bean seedlings. The 50 mmol L⁻¹ NaCl treatment did not bring about a marked growth suppression to bean. In 100 mmol L⁻¹ NaCl treatments, stem and root length tended to be longer as the start of the treatments was later. This means that the growth

was inhibited in NaCl treatments whose start was earlier. It indicated that bean did not acquire tolerance at the germination stage.

In cabbage seedlings, the elongation of stem was inhibited by NaCl treatments, and stem in the treatments whose start were before germination or 2 days after sowing was significantly small in length. However, there was not a significant difference in root length and leaf size was larger than control. Wilting was not observed in leaf and stem. It might be possible that cabbage acquired tolerance before germination.

NaCl treatments significantly inhibited stem elongation of the zucchini seedlings. Leaf number decreased only in the 100 mmol L⁻¹ NaCl treatment at 8 and 10 days after sowing. NaCl treatments tended to increase stem thickness. The fresh weights of leaf and stem were not changed by 50 mmol L⁻¹ NaCl, but they were decreased significantly by 100 mmol L⁻¹ NaCl treatments at 8 and 10 days. NaCl treatments increased root fresh weight except 100 mmol L⁻¹ NaCl treatment at 8 and 10 days. The water contents in all organs were almost the same as that of control except in 100 mmol L⁻¹ NaCl treatment at 8 and 10 days. NaCl treatments tended to stimulate root growth except 100 mmol L⁻¹ NaCl treatments at 8 and 10 days. These results indicate that zucchini acquired a high salt tolerance before germination. However, salt tolerance decreased with time. These results suggested that salt tolerant species such as zucchini may acquire a high salt tolerance to external salinity before germination.

学位論文の基礎となる学会誌公表論文のリスト

1. Germination and water absorption responses of seeds four vegetables under salt stress: Noriko MATSUMOTO and Hideyasu FUJIYAMA 日本砂丘学会誌 第61巻 第3号 2014年10月17日 受理 (2015年2月 発表予定)

この論文は、学位論文第2章 発芽期の応答の基礎となっている。

2. Salt tolerance of zucchini at different growth stages: Noriko MATSUMOTO and Hideyasu FUJIYAMA 日本砂丘学会誌 第62巻 第1号 2014年11月12日 受理 (2015年6月 発表予定)

この論文は、学位論文第3章 3-4 50 mmol L⁻¹および100 mmol L⁻¹ NaCl処理下においてズッキーニの幼植物はどのような応答を行うか、の基礎となっている。