

# ハウレンソウの種子に対する複合塩処理と播種後複合塩溶液の灌漑が出芽と苗の生育に及ぼす影響

誌名	名城大学農学部学術報告
ISSN	09103376
著者名	高野, 泰吉 姚, 雷
発行元	名城大学農学部
巻/号	33号
掲載ページ	p. 55-61
発行年月	1997年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



# ハウレンソウの種子に対する複合塩処理と 播種後複合塩溶液の灌漑が出芽と苗の生育に及ぼす影響

姚 雷・高野 泰吉

## Effects of Seed Priming with Combined Salt Solution and Salt Irrigation on the Seed Emergence and Seedling Growth of Spinach

Lei Yao and Taikichi Takano

### Summary

The experiment was designed to make clear the effects of seed priming with combined salt ( $120\text{meq l}^{-1}$ ), combined salt irrigation ( $80\text{meq l}^{-1}$ ), and the mixture of combined salt ( $12\text{meq } 100\text{g}^{-1}$ ) and sand on the seed emergence and the growth of spinach (*Spinacia oleracea* L.).

As the main effect, seed priming by osmotic-and matric-conditioning promoted the seed emergence, seedling growth, and suction force of water.

Other salt treatments did not bring the salt injury to plant. The contents of sugars, proline, and cations were increased in the seeds primed by osmotic-and matric-conditioning.

Acclimation to salinity at the seedling stage of plant growth is considered to be established by a method of seed priming treated with combined salt solution.

**Key words :** seed priming, combined salt solution, salinity acclimation, seedling growth, spinach.

### 緒 言

種子の圃場での発芽を促進する一方法として、高浸透圧溶液で種子を処理することにより、幼根の伸長が抑えられる程度に水分吸収を制限させ、しかも発芽準備の代謝をある程度行わせてから播種することが1960年以降試みられている。その結果、低温や乾燥地の塩類濃度が高い条件において、圃場での発芽が早められることが明らかにされている<sup>2)</sup>。

これらの研究では、ポリエチレングリコール(PEG)が使用される場合が多いが、砂漠の農業を考慮すると、高塩類溶液を使うことが実用的と考えられる。中村<sup>3)</sup>によると、高浸透圧溶液でゆっくり吸水処理することを‘priming’(プライミング)処理と呼ぶことがHeydeckerにより提案された。この方法は浸透条件づけ、(浸透コンディショニング)とい

われる。

さらに、Khan<sup>3)</sup>によると、種子の吸水をゆるやかにさせるために水分を湿らせた固体の担体(パーミキュライトやセライトなど)から吸収させる方法が、アメリカで開発され、広く利用されている。この方法は、固体粒子のマトリック力による水分保持を利用するもので、マトリック条件づけ(マトリックコンディショニング)といわれる。

本実験では、乾燥地の高塩類栽培条件下<sup>1)</sup>における野菜生産の基礎的な手がかりを得るために、浸透条件づけとマトリック条件づけを併用した‘プライミング’処理(浸透-マトリックコンディショニング)を行い、発芽と苗生育の実験を企てた。すなわちイオン毒性が直接現われない複合塩類溶液<sup>9,10)</sup>を現地の灌漑水の化学成分を参考にして作成し、その溶液をハウレンソウ種子および幼植物に施用するこ

とによって、生育と有機、無機成分ならびにクロロフィル含量がどのように影響されるかを砂栽培によって調べた。その結果、種子に複合塩類を処理することにより、塩類栽培条件下で出芽率と成長が促進されることが明らかになったのでその機構を解明するため、処理直後の種子の体内状態を調べた。

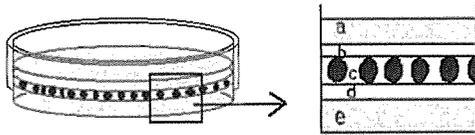


Fig. 1. Diagrammatic representation of a method of seed priming by osmotic and matrix conditioning.

Seeds in petri dishes (12 cm in diameter) were incubated in the dark under 10°C conditions.

Seeds (c) were sandwiched with two sheets of gauze (b and d) between two layers of vermiculite (a and e-layer) containing 10 ml/ in a-layer and 12 ml/ in e-layer of salt solution, respectively.

### 材料および方法

実験 1 : 1995年 5月 30日に、ハウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) 品種‘おかめ’の果皮を除去した種子を用い、第1図に示すように複合塩処理を行った。直径 12 cm のシャーレ中に 70°C で乾燥した粒径 2 mm 以下のパーミキュライト 12 g を敷いてから、第1表に示す 120 meq l<sup>-1</sup> の複合塩溶液 12 ml/ を均一に混ぜた。パーミキュライトの上にガーゼを1枚敷き、その上に種子を均一に並べた。さらに、種子の上にガーゼを1枚敷き、その上にパーミキュライトを入れ、複合塩溶液 10 ml/ を加えた。シャーレは、10°C に設定した恒温器内でインキュベイトし、3日ごとに上層のパーミキュライトに 5 ml/ の複合塩溶液を追加した。

1/5000 a のワグナーポットを用意し、名城大学内のガラス温室に設置した。それらの半数のポットを表面から 5 cm までの深さの砂と第1表に示す塩類 6 g を混合し、砂の乾燥重量あたりの塩含量が 0.5% となるようにした。このような処理区を塩施区とした。6月9日まで、処理した種子をワグナーポットに播いた。残りの半数の種子は播く直前に水で5時間浸漬してから播いた。播種後、出芽が揃う6月16日まで出芽率を調査した。出芽率の調査後間引きによって、1ポットあたり8株とした。

Table 1. Composition of combined salt solution.

Ion	Priming <sup>(1)</sup>		Irrig. <sup>(2)</sup>		Mixture <sup>(3)</sup>	
	%	meq l <sup>-1</sup>	meq l <sup>-1</sup>	meq 100 g <sup>-1</sup>	meq 100 g <sup>-1</sup>	meq 100 g <sup>-1</sup>
Na <sup>+</sup>	25	30	20			3.0
Ca <sup>2+</sup>	15	18	12			1.8
Mg <sup>2+</sup>	10	12	8			1.2
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	25	30	20			3.0
Cl <sup>-</sup>	15	18	12			1.8
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10	12	8			1.2
Total	100	120	80			12

Note : (1) gives seed priming. (2) gives irrigation of combined salt. (3) gives a mixture of salt and sand.

複合塩溶液の灌漑は6月16日に開始した。毎日1ポットあたり 250 ml/ を施用した。灌漑液は、第1表に示す複合塩と 1000 倍希釈した住友液肥 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : 16, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : 0.8, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> : 0.8, K<sup>+</sup> : 4.9, Mg<sup>2+</sup> : 4.4, Ca<sup>2+</sup> : 7.5, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> : 0.9, Fe : 2.95, MnO : 0.27, B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : 1.61 meq l<sup>-1</sup>) を混合したものを使用した。対照区は上述住友液肥を使用した。砂と複合塩の混合 (塩施 : mixture of salt and sand) の有無、パーミキュライトに含ませた複合塩溶液による播種前の種子処理 (種処 : seed priming) の有無、複合塩類溶液の灌漑 (塩灌 : irrigation by salt) の有無を組み合わせた3要因2水準の8処理区の要因実験を行った。7月8日に第4と5番目の葉の中央部より葉組織を採取しクロロフィル含量を測定した。7月18日に地上部を収穫し、試料を凍結乾燥した後、有機および無機成分を分析した。

クロロフィル含量の測定 : エタノール抽出液の 649 と 665 nm の波長での吸光度を測定し、計算式<sup>7)</sup>によってクロロフィル含量を求めた。

蛋白質の分析 : 凍結乾燥粉末試料 100 mg に 5% トリクロロ酢酸 (TCA) を加えて蛋白質を変性させたのち、遠心分離 (10,000×g, 10分) し、蛋白質区分 (沈殿) を得た。ついで 5% TCA を加えて沈殿を分散させ、再び遠心分離し、沈殿を得た。上澄液 (酸可溶性物質区分) は合わせて遊離アミノ酸の測定に用いた。沈殿は 2% NaOH 10 ml/ で溶解し、遠心分離後沈殿を再び 1N NaOH で溶解し、蛋白質をローリー・フォーリン法<sup>6)</sup> で測定した。

遊離アミノ酸の分析 : 上述の酸可溶性物質区分にエーテルを加え、TCA を除去した。残った水層液を用い、pH を 5.5 に調節したのち、ニンヒドリン反応により、遊離アミノ酸を定量した。プロリン以外のアミノ酸は 570 nm で、プロリンは 440 nm の波長で

比色定量した。

糖とデンプンの分析：凍結乾燥後の粉末試料 100 mg を 80% 熱アルコールで抽出後、遠心分離を行い、上澄液を全糖の測定に、残渣をデンプンの測定に用いた。全糖は、上澄液を湯せん上で 1 時間 100°C で糊化してから、0.2 M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) を 2 ml、酵素アミログルコシターゼ (2% 水溶液) 1 ml を加え、55°C で 1 時間糖化させた。除タンパク後、定容し、糖液とした。全糖、デンプンともにアンスロン法<sup>4)</sup>を用いグルコースを標準物質として測定した。デンプンの含有量は、得られた値に 0.9 を乗じて求めた。

無機成分の分析：凍結乾燥後の粉末試料を硝酸と過塩素酸で湿式灰化した後、P をモリブデン青法、Na、K を蛍光光度法、Ca と Mg を原子吸光法によって測定した。全 N の測定はガンニング氏変法によった。

実験 2：1996 年 1 月 20 日に、実験 1 と同品種のホウレンソウの種子を用いて、3 組に分けて調査した。すなわち 1 組は無処理区(対照区)、2 組は水で 8 時間浸漬した区、3 組は実験 1 と同様な方法で 5 日間塩類溶液をパーミキュライトにしみこませブライミングを行った区であった。1 つの処理区は 3 反復とし、1 反復あたりの種子量は 6 g とした。各処理区で種子を処理した直後に重さを測定し、凍結乾燥をした後乾物重を測定し、処理した種子の含水量を求めた。有機と無機成分の分析はすべて実験 1 と同様な方法で行った。

## 実験結果

実験 1：播種後 1 週間の出芽率を第 2 図に示す。

Table 2. Effects of seed priming, salt irrigation, and mixed salt on the growth of spinach.

Symbol of treatment	Fresh wt. g	Dry wt. g	Dry matter %	Height cm	Leaf			Shape index Length/width
					Number	Length, cm	Width, cm	
Cont.	4.70	0.56	11.9	13.0	12.3	6.7	4.0	1.66
Mix.	5.44	0.69	12.7	12.9	14.0	6.8	4.3	1.59
Prim.	6.50	0.82	12.6	14.0	17.3	6.8	4.5	1.51
Mix. + prim.	4.98	0.63	12.6	12.7	16.3	6.3	4.3	1.47
Irrig.	5.78	0.69	12.0	11.9	12.7	6.8	4.7	1.43
Irrig. + mix.	6.01	0.72	12.0	12.5	13.0	7.2	4.6	1.58
Irrig. + prim.	7.30	0.84	11.5	12.1	15.8	6.5	4.3	1.50
Irrig. + mix. + prim.	6.82	0.83	12.2	12.3	16.3	6.5	4.6	1.43

Note: Cont: control, mix.: a mixture of salts and sand, prim.: seed priming by the salt solution in vermiculite, irrig: combined salt irrigation.

種処と種処+塩処理区の出芽率は 3 日目に 51%、4 日目に 77% になり、対照区と塩処理区の出芽率は 3 日目に 5% と 4 日目に 22% になった。種子処理したほうが早く出芽した。最終出芽率は、種処+塩処理区で 87%、種処区で 85%、塩処理区で 68%、対照区で 90% であった。対照区では高い出芽率であったが、出芽勢が弱かった。塩処理区では出芽勢も弱く、最終的に最も低い出芽率であった。

1 株あたりの成長量を第 2 表に示す。新鮮重、乾物重については、すべての処理区で対照区より高い値を示した。この中で種処+塩処理区で最も重く、つ

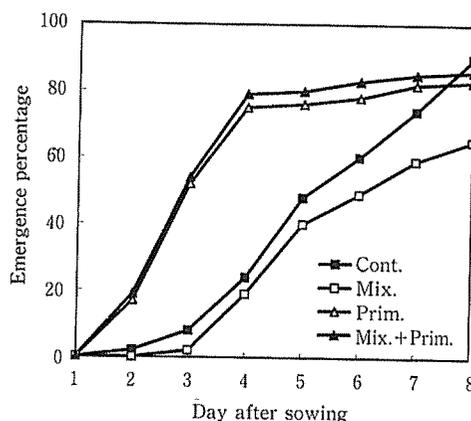


Fig. 2. Effect of preplant seed priming and a mixture of salt and sand on the seedling emergence.

Cont.: control, Mix.: a mixture of salts and sand, Prim.: seed priming with the salt solution in vermiculite, Mix. + Prim.: treatment of both Mix. and Prim.

Table 3. Effects of seed priming, salt irrigation, and mixed salt on the content of carbohydrates, proteins and amino acids in spinach.

Symbol of treatment	Total sugar	Starch	Protein	Amino acid*	Proline
	(mg 100 mg <sup>-1</sup> dry wt)			(μmol 100 mg <sup>-1</sup> )	
Cont.	2.10	1.64	6.17	8.02	5.70
Mix.	2.28	1.71	6.59	7.50	4.92
Prim.	1.73	2.05	7.25	7.80	5.44
Mix. +prim.	1.79	1.87	6.15	8.11	5.27
Irrig.	2.32	1.74	6.82	6.60	4.74
Irrig. +mix.	2.47	1.71	7.05	6.45	4.13
Irrig. +prim.	1.77	1.82	7.66	7.00	4.83
Irrig. +mix. +prim.	1.71	1.92	6.75	6.87	4.57

\* Total amino acids except for proline.

Table 4. Effects of seed priming, salt irrigation, and mixed salt on the content of mineral nutrients in spinach.

Symbol of treatment	N	P	Mg	Ca	K	Na
	(meg 100 g <sup>-1</sup> dry wt)					
Cont.	275.7	8.23	33.8	104.0	136.3	10.8
Mix.	287.1	8.29	34.6	96.3	132.1	18.6
Prim.	312.8	7.61	33.3	97.3	128.1	8.2
Mix. +prim.	271.4	7.65	32.2	90.6	126.1	20.5
Irrig.	266.4	8.13	37.5	72.5	133.7	40.0
Irrig. +mix.	264.3	8.00	39.3	70.5	133.2	43.5
Irrig. +prim.	300.1	8.62	40.3	79.3	125.7	43.8
Irrig. +mix. +prim.	285.9	7.94	36.8	74.1	123.9	49.3

ぎに種処+塩灌+塩施区, 種処区の順に軽くなった。葉数については, 種子処理したすべての処理区で種子処理しなかった処理区より多い値が得られた。葉長, 葉幅については, 処理区間で顕著な差は認められなかった。葉形指数(葉長/葉幅)については, 塩灌処理区で低い値が得られた。

有機成分の分析結果を第3表に示す。種子のブライミング処理をしたすべての処理区のデンプン含量は, 種子処理をしなかった処理区のそれより高い値を示した。逆に全糖については, 種子処理をしなかった処理区の含量は処理した処理区より高い値を示した。タンパク質含量は, 塩水灌漑したほとんどすべての処理区において灌漑しなかった処理区より高く, また塩水灌漑しなかった処理区の中の種子処理区でタンパク質含量が高かった。プロリン以外の遊離アミノ酸の含量は, 塩水灌漑した処理区では, 塩水灌漑をしなかった処理区よりやや低かった。プロリンの含量もアミノ酸の含量と同様な傾向を示した。

無機成分含量を第4表に示す。全Nについては, 種処区と種処+塩灌区で含量が最も高かったが, 塩灌区と塩灌+塩施区でのN含量は低かった。Pについては, 種処区で含量が低かったが, 種処+塩灌区での値は最も高かった。Mgの含量については, 塩水灌漑した処理区では, 塩水灌漑しなかった処理区よりやや高い値を示した。Caの含量については, Mgのそれと逆の傾向を示した。Kの含量では, 処理区間でほとんど差はなかった。Naについては, 塩水灌漑したすべての処理区のNa含量が, 塩水灌漑しなかった処理区より2倍から5倍の高さになった。

クロロフィルの含量については(第5表), 面積当たりであらわすと, 種処区と種処+塩灌区でやや高い値を示したが, 他の処理区での値はほとんど差はなかった。重さ当たりの含量は, 塩水灌漑した処理区で, 塩水灌漑しなかった処理区よりやや低かった。この中で種処区での値は最も高かった。表に示していないが, chl<sub>a</sub>/chl<sub>b</sub>比も処理間にほとんど差はなかった。

Table 5. Effects of seed priming, salt irrigation, and mixed salt on the content of chlorophylls in spinach leaf.

Symbol of treatment	Chla	Chlb	Chl (a+b)	Chla	Chlb	Chl (a+b)
	$(\mu\text{g}/\text{cm}^2)$			$(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ fresh wt})$		
Cont.	21.43	11.39	32.82	0.93	0.50	1.43
Mix.	21.65	12.31	33.96	0.84	0.48	1.32
Prim.	24.12	14.06	38.18	0.95	0.55	1.51
Mix. +prim.	22.39	12.85	35.24	0.82	0.47	1.29
Irrig.	22.52	12.22	34.74	0.74	0.40	1.15
Irrig. +mix.	19.60	10.37	29.97	0.66	0.35	1.01
Irrig. +prim.	24.48	13.27	37.75	0.79	0.43	1.22
Irrig. +mix. +prim.	20.44	11.58	32.01	0.72	0.41	1.13

Table 6. Effect of preplant seed priming on the water content in spinach seeds.

Treat. *	Before treat.	After treat. (g)		Water content	
	g	Wet wt.	Dry wt	$\text{g (6 g seeds)}^{-1} \text{g (dw. g seeds)}^{-1}$	
Water	6	9.13	5.45	3.68	0.675
Prim.	6	9.47	5.63	3.84	0.682

\* Water : seed soaking in water, Prim. : seed priming by salt solution (1).

Table 7. Effect of preplant seed priming on the content of carbohydrates, proteins, and amino acids in spinach seeds.

Treat.*	Total sugar	Starch	Protein	Amino acid	Proline
	$(\text{mg } 100 \text{ mg}^{-1} \text{ dry wt})$			$(\mu\text{mol } 100 \text{ mg}^{-1} \text{ dry wt})$	
Cont.	0.29	9.07	3.6	5.45	1.53
Water	0.28	8.40	3.2	3.39	1.27
Prim.	0.68	7.63	2.0	4.97	2.21

\* Cont. : control, Water : seed soaking in water, Prim. : seed priming by salt solution (1).

Table 8. Effect of preplant seed priming on the content of mineral nutrients in spinach seeds.

Treat.*	N	P	Mg	Ca	K	Na
	$(\text{meq } 100 \text{ g}^{-1} \text{ dry wt})$					
Cont.	15.2	10.3	1.50	13.1	14.2	1.35
Water	15.2	9.3	1.98	11.4	9.9	1.21
Prim.	15.2	12.5	2.38	12.6	12.8	2.07

\* Cont. : control, Water : seed soaking in water, Prim. : seed priming by salt solution (1).

実験 2 : 5 日間第 1 図に示す方法でブライミングした種子と 8 時間水で浸漬した種子の含水量を第 6 表に示す。含水量は処理間にほとんど差がなかったが、種子の生重および乾物重がブライミング処理区で重い傾向がある。この差は、塩類や可溶性物質が水浸漬処理で溶出したと考えられる。

有機成分の変化を第 7 表に示す。ブライミングした種子において、全糖の含量は対照区と水浸漬区より高い値を示したが、デンプンとタンパク質の含量は低い値を示した。プロリン以外のアミノ酸の含量については、ブライミングした種子の値は水浸漬した種子の値より高く、対照区より低かった。プロリ

ンでは、ブライミングした種子の値は最も高く、水浸漬した種子の値は低かった。

無機成分の含量を第8表に示す。Nについては、処理区間の差はなかった。P, Mg, Naの含量については、ブライミングした種子で、最も高い値を示した。水浸漬した種子ではP, K, Naの含量が低い値を示した。K, Caでは塩処理によって対照区の種子よりやや低い値を示したが、水浸漬の種子はさらに低かった。

## 考 察

実験1：種子処理したすべての処理区では（種処+塩施区を除き）生育は対照区のそれより促進された。筆者らはチンゲンサイの種子は塩処理すること<sup>8)</sup>によって、光合成速度が増加し、生育が促進された結果を得ている。ハウレンソウ種子も塩処理によって、生育が促進されたことはチンゲンサイと同様な傾向である。種子のブライミング処理をした苗では、糖がやや低い含量となり、デンプンは分解が少ないことがわかる。NやKなど高い含量の成分に著しい相異がないのでブライミング処理した後の苗の生育は正常であったと考えられる。塩灌漑でNaの含量が高まったものの、アミノ態Nや蛋白態Nの含量にはほとんど影響していなかった。別報<sup>10)</sup>におけるチンゲンサイの実験から、培地のpHは8以上になっているはずであるが、ハウレンソウにおいて、無機、有機成分に著しい影響がなく、生育は正常であったとみなされよう。したがって、種子のブライミング処理が加水過程をゆっくりさせ、その後播種すると、出芽を速くしたことに実用的価値があると考えられる。

そこで、実験2において、播種前の種子の状態を調べることにした。その結果、糖はデンプンから変化して増加し、プロリンの含量が増加して、高い浸透圧がえられた。すなわち低い浸透ポテンシャルの状態に導くことがわかった。他方無機成分の溶出が抑制されていることが水浸漬の種子と比較すれば明らかである(第8表)。以上のことから、ブライミング処理により種子の吸水力が高められたものと考えられる。結果として実験1で示されるように出芽速度を高めることができた。種子処理に関しては、通常は溶液を含んだろ紙上に種子を置床する方法であるが、今回は、高い浸透圧を作るため120 meq l<sup>-1</sup>の高濃度塩類溶液を使用することを考慮し、また種子にゆっくり吸水させるため、パーミキュライトのマ

トリック保水力を利用したことが、播種後の種子の吸水力を高めたものと考えられる。ブライミング処理にはふつうPEGの利用が推奨されてきた。それは塩類の障害をさけるためである。中村<sup>5)</sup>は、ナス種子の発芽にPEGより塩類溶液(硝酸カリ1.5%+リン酸カリ1.5%)を用いた方が発芽速度が速くなった例を示している。本研究では、乾燥地土壌中にすでに存在している塩類を考慮し、複合塩類溶液による種子のブライミングを行った。実際の乾燥地における発芽障害回避のためにわれわれの方法が役に立つことと考えられる。

今まで行ったチンゲンサイの塩類処理の実験では、80 meq l<sup>-1</sup>の塩類溶液処理した場合にやや生育が抑制されること<sup>10)</sup>が示されている。ハウレンソウはチンゲンサイより耐塩性が強いと思われるため、本実験で用いる灌漑用塩類溶液は80 meq l<sup>-1</sup>の濃度にした。また、前報<sup>9)</sup>ではキャベツを用いて基本培養液と複合塩類溶液を合わせて90 meq l<sup>-1</sup>の濃度で育てている。その場合、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>イオンが多くない限り、生育の抑制は少なかった。したがって、塩類濃度100 meq l<sup>-1</sup>付近に障害発生の境界濃度があるものと考えられた。そこで本実験では、基本培養液40 meq l<sup>-1</sup>と上述の灌漑溶液80 meq l<sup>-1</sup>を処理した。

実験結果からみると、Caの吸収がわずかに抑制されたが、ほかの養分の吸収には、ほとんど影響がなかった。Naは多量に増加したが、塩害はみられなかった。アカザ科のハマアカザ属とホウキギ属の植物はNa<sup>+</sup>を欠除することによって生育量が低下するという<sup>11)</sup>ことから、Na<sup>+</sup>はハウレンソウの生育にとって、必要なイオンと考えられる(高野未発表)。培地の高い浸透圧に抵抗するため吸収されたNaやKなどの1価のイオンの含量が高められて、さらに全糖とプロリンの含量が増加した。しかし、デンプンとタンパク質の生成は抑制されなかった。別報<sup>10)</sup>で明らかにしたように、チンゲンサイを用いて、基本培養液40 meq l<sup>-1</sup>と40 meq l<sup>-1</sup>の塩類濃度処理を併用することによって光合成速度が増大することから考えて、ハウレンソウの苗に対して80 meq l<sup>-1</sup>の塩類濃度灌漑処理は、光合成能力に支障がなかったと推測される。また、塩類溶液の灌漑と種子のブライミング処理は交互作用があって、種処+塩灌漑処理区の生育量は種子処理区のそれより高い値を示した。このことから、生体重の増加、デンプンとタンパク質の生成によい影響を与えたと考えられる。

実験1の砂と複合塩の混合処理(塩施)は、乾燥

