

糞尿流入地域および汽水域に生育するリードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L.) から採取した種子に由来する幼植物の耐塩性

前田 良之・平野 繁・武長 宏

Salt Tolerance in Seedlings Derived from Seeds of Reed Canarygrass (*Phalaris arundinacea* L.) Grown on Soil Perfused with Cattle Feces and Urine or in Seaside Areas

Yoshiyuki MAEDA, Shigeru HIRANO and Hiroshi TAKENAGA

Summary

The differences in salt tolerance among reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L., RCG) derived from seeds of RCG grown in pasture areas perfused with feces and urine (P-RCG), in seaside areas (S-RCG) and on control (C-RCG) were discussed in regard to the relative growth rate, cation content and water potential. After the seedlings were cultured in standard solution (Kimura's B solution) to 30 cm of plant length, NaCl was applied to the solution to adjust its concentration to 0, 50 and 100mM. Ten days after NaCl application, the plants were harvested to measure the weights, cation contents and water and osmotic potential. The relative value of dry weight increase in plant tops during NaCl treatment to that during standard solution culture was used as an indicator of salt tolerance.

1. When the growth rates of C-, P- and S-RCG in standard solution were expressed as 100, the rates were markedly decreased with increasing NaCl concentrations and ranged from 61 to 68 at 50mM, and 20 to 40 at 100mM. The values of P- and S-RCG tended to be higher than those of C-RCG both at 50 and 100mM NaCl.

2. Sodium contents of plant tops markedly increased by NaCl application. The content in P-RCG tended to be higher and that in S-RCG did lower than in C-RCG at 100mM NaCl. Sodium content of roots increased by NaCl application and its increase rate tended to be the

highest in C-RCG. Potassium, Mg and Ca contents both of plant tops and roots decreased by NaCl application and those decrease rates were the highest in C-RCG.

3. The decrease rates of water potential and osmotic potential caused by NaCl application tended to be the highest and lowest in C-RCG, respectively. At 100mM NaCl, water potential in P- and S-RCG were higher and osmotic potential did lower than the value in C-RCG.

4. No significant difference in salt tolerance was found among treated seedlings. This was due to the large standard error of growth rate, cation contents, water and osmotic potentials in P- and S-RCG, and suggested existence of large genetic variation.

キーワード：種子、生育環境、耐塩性、リードカナリーグラス

Key words: Growth environment, Reed canarygrass, Salt tolerance, Seed

緒言

糞尿を多量に施用している草地、堆肥場や尿貯留槽から汚水が流入している地域、または海水の侵入がある汽水域に生育しているリードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L., RCG) の耐塩性は、通常の草地に生育するもの比べて強いことを報告してきた³⁻⁷⁾。これらの結果は生育する幼植物を現地では採取した後にガラス室内にて水耕栽培を行い、NaCl を培養液中に添加して

東京農業大学 (156-8502 世田谷区桜丘 1-1-1)

Tokyo University of Agriculture, 1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo, 156-8502 Japan

本研究費の一部は平成10年度クリタ水・環境科学振興財団助成金による。

耐塩性比較試験を行って得たものである。一方、BONILLA, P. ら²⁾は低濃度の NaCl 前処理によるイネの耐塩性強化の可能性を検討し、前処理によって耐塩性が強化されたことを報告した。この結果は耐塩性を遺伝的形質としてとらえる他、後天的に獲得できる可能性をも示唆している。著者らが実施してきた RCG の耐塩性実験^{3~7)}において得られた耐塩性の発現が、各牧草が生育している環境に対する一時的な適応の結果なのか、または環境に適した遺伝子型が選抜された結果なのかは不明であり、検討する必要がある。そこで本試験はこれまで牧草を採取してきた糞尿流入地域および汽水域に現在生育している RCG から種子を採取し、バイオトロン内にて発芽、生育させた植物体を用いて、その耐塩性の強弱および機構を調査した。

材料および方法

糞尿流入地域(糞尿区)として北海道帯広市郊外の酪農家草地および静岡県富士宮市の東京農業大学農場内草地、汽水域(汽水区)として北海道湧別川河口および静岡県浜岡町御前崎付近を選定した。各区とも1番草の結実時に土壌と種子を採取した。また、対照区として市販のリードカナリーグラス種子(品種ベンチャー、雪印種苗(株))を設定した。土壌は表層より約20cmの深さまで採取し、乾燥後2mmの篩を通して分析用試料とした。土壌中の交換性塩基は1M酢酸アンモニウムで抽出した。種子は試験に供するまでの約1カ月間、4℃の冷蔵庫内に保存した。25℃に設定したバイオトロン内にて種子を発芽させ、草丈約30cmになるまで基本培養液(木村B液)¹⁰⁾で水耕栽培した。その後、NaClを培養液中の濃度が0、50または100mMとなるように添加した。添加後10日目に水・浸透ポテンシャルを測定した後、植物体を採取し、乾物量およびカチオン含有率を測定した。植物体は新鮮物のまま、または通風乾燥して重量を測定後、粉碎して測定に供した。CaおよびMgは原子吸光法、

NaおよびKは炎光法で測定した。また、pHはガラス電極法、ECはECメーター、全窒素(T-N)はNCアナライザー、NO₃-NおよびNH₄-Nはイオンクロマトグラフ(ダイオネクス社製DX-100)にて測定した。植物体の水および浸透ポテンシャルは第3葉を用いてサイクロメーター(WESCOR社製)にて測定した。牧草の耐塩性の強弱は水耕液へのNaCl添加直前から添加後10日までの植物体地上部乾物増加量を求め、無添加時における増加量を100として算出した相対値(相対生育値)で比較した。

結果

糞尿区および汽水区における牧草種子採取地土壌の分析結果を第1表に示す。帯広および富士宮の糞尿区ではpH値はそれぞれ、6.0および6.3とほぼ良好な値を示した。一方、交換性K、Na、CaおよびMg含有量、ECおよびT-N値はいずれも高い値であった。汽水区のpH値は湧別で6.7、浜岡で7.2と高く、また交換性Na含有量も糞尿区よりも高かった。しかし、Mgを除く他の項目はいずれの極めて低い値であった。これらの値は前回調査し、報告した値⁷⁾とほぼ同じであった。

採取した種子をバイオトロン内で発芽させた後、草丈30cmまで生育した各区のRCGにNaClを水耕液中濃度が0、50および100mMとなるように添加し、耐塩性試験を行った結果を第1図に示す。NaCl添加により牧草生育量は50mM条件下で相対生育値61~68、100mM条件下で20~40を示し、培養液中の塩濃度が高まるにつれて急激に低下した。対照区に比べて糞尿区および汽水区の生育量は50および100mM条件下ともに高い傾向がみられ、糞尿区および汽水区の耐塩性は強いことが示された。しかし、両区ともに個体間変異、つまり標準誤差値が大きく、設定区間に有意な差は認められなかった。

NaCl添加時の植物体地上部および根部的カチオン含有量の変化を第2図に示す。地上部のNa含有量は

Table 1. Some chemical properties of soils.

| Soil | pH(H ₂ O) | EC (μ S/cm) | Ex. cations(me/100g dry soil) | | | | Total-N (mg/100g dry soil) |
|----------------|----------------------|---------------------|-------------------------------|------|-------|------|-------------------------------|
| | | | K | Na | Ca | Mg | |
| Pasture A) | | | | | | | |
| I. Obihiro | 6.0 | 570 | 2.31 | 0.53 | 13.27 | 1.51 | 650 |
| II. Fujinomiya | 6.3 | 620 | 2.65 | 0.65 | 16.00 | 2.11 | 720 |
| Seaside area | | | | | | | |
| I. Yubetu | 6.7 | 78 | 0.09 | 1.51 | 2.50 | 1.09 | 78 |
| II. Hamaoka | 7.2 | 76 | 0.08 | 1.21 | 2.83 | 2.40 | 92 |

A) Soil was perfused with cattle feces and urine.

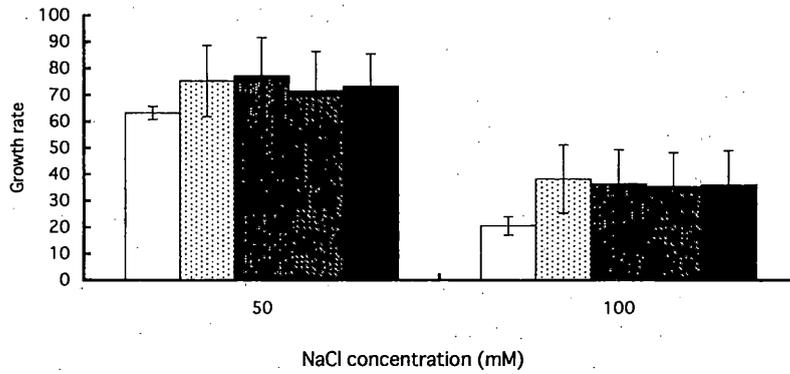


Fig. 1. Growth rate of plants grown in solution culture at different NaCl concentrations. Growth rate shows the relative dry weights of plants grown in 50 and 100mM NaCl solution to in 0mM. Vertical bars indicate standard error.

□ : Plant grown on control, ▨ : Plant grown in pasture I, ▩ : Plant grown in pasture II
 ▧ : Plant grown in seaside area I, ■ : Plant grown in seaside area II

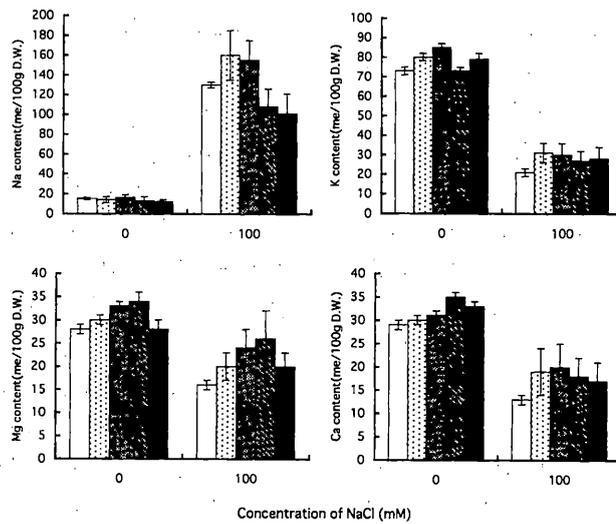


Fig. 2-1. Relationships between cation contents of plant tops and concentration of NaCl in solution culture. Vertical bars indicate standard error. Symbols are the same as those in Fig. 1.

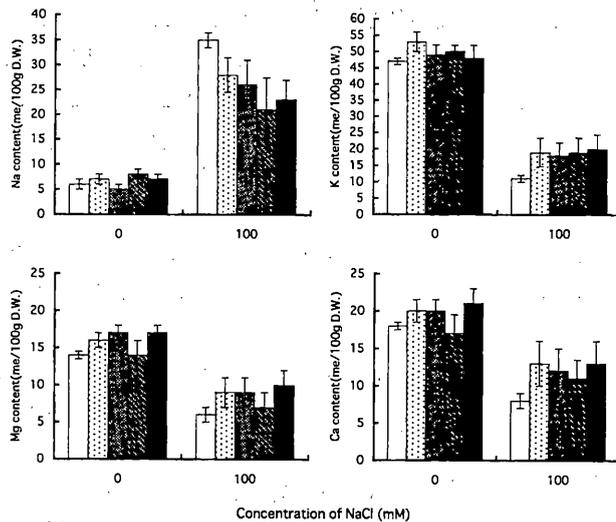


Fig. 2-2. Relationships between cation contents of roots and concentration of NaCl in solution culture. Vertical bars indicate standard error. Symbols are the same as those in Fig. 1.

NaCl 添加により急激に増加した。その増加率は糞尿区帯広に由来する植物体が示した1,043%が最も高く、次いで糞尿区富士宮869%、対照区767%、汽水区浜岡742%および汽水区湧別731%の順であった。また NaCl 100mM 条件下において、対照区に比べて糞尿区の Na 含有量は高く、逆に汽水区の Na 含有量は低い傾向が示された。一方、各区の K、Mg および Ca 含有量はいずれも NaCl 添加により低下し、これらイオンの低下率は対照区で最も高い値を示した。また NaCl 100mM 条件下の K、Mg および Ca 含有量も糞尿区および汽水区に比べて対照区で低い傾向を示した。従って、NaCl 添加時の地上部 Na 含有量は対照区に比べて糞尿区で高く、汽水区で低いこと、また K、Mg および Ca 含有量は対照区で低いことが示された。しかし、NaCl 100mM 条件下の糞尿区および汽水区の値の標準誤差は大きく、対照区に比べて有意な差とはならなかった。

根部の Na 含有量は NaCl 添加により増加した。その増加率は対照区で最も高く、次いで糞尿区、汽水区の順であった。NaCl 100mM 条件下の Na 含有量も対照区で最も高く、次いで糞尿区、汽水区の順であった。一方、K、Mg および Ca 含有量はいずれも NaCl 添加によって低下し、低下率は対照区で最も高い値を示した。NaCl 100mM 条件下の含有量も糞尿区および汽水区に比べて対照区で低い傾向を示した。従って NaCl 添加時の根部 Na 含有量は糞尿区および汽水区に比べて対照区で高く、逆に K、Mg および Ca 含有量は対照区で低いことが示された。しかし地上部同様、NaCl 100mM 条件下の糞尿区および汽水区の値の変動は大きく、対照区に比べて

有意な差が認められたのは NaCl 100mM 条件下の汽水区湧別の Na 含量が低かったこと (P<0.05) のみであった。

NaCl 添加時の植物体葉部の水および浸透ポテンシャルの変化を第 2 表に示す。対照区では NaCl 100mM 条件下の水ポテンシャル値は -3.28MPa を示し、NaCl 無添加時に対する低下率は 190% であった。一方、糞尿区の場合、100mM NaCl 条件下での帯広および富士宮でそれぞれ水ポテンシャル値は -2.31 および -2.25 Mpa、0 mM 条件下に比べてそれぞれ、120 および 105% 低下した。汽水区の場合、100mM 条件下での水ポテンシャル値は湧別および浜岡それぞれ、-2.24 および -2.11 Mpa、0 mM 条件下に比べて 113 および 88% 低下した。従って 0 mM に対する 100mM 条件下での水ポテンシャル値の低下率は対照区で最も高い値を示し、糞尿区および汽水区では水ポテンシャルの低下を抑制していることが明らかとなった。

浸透ポテンシャルは対照区では 0 mM および 100mM NaCl 条件下でそれぞれ、-1.70 および -2.10 と 100mM 条件下で約 24% 低い値となった。糞尿区の帯広および富士宮では -1.72 および -1.70 から -2.60 および -2.81、低下率はそれぞれ、51 および 65% であった。汽水区の場合、湧別および浜岡では -1.69 および -1.72 から -2.55 および -2.89 へと低下し、低下率はそれぞれ 51 および 68% であった。従って、浸透ポテンシャル値の低下率は水ポテンシャルとは逆に対照区で低い値となった。以上のことから、糞尿区および汽水区に由来する植物体は NaCl 添加時に浸透ポテンシャルを低く維持し、水ポテ

Table 2. Changes in water and osmotic potentials of reed canarygrass after ten days of NaCl application.

| | Concentration of NaCl(mM) | | | |
|---------------------|---------------------------|------------|------------|------------|
| | 0 | | 100 | |
| | Potential(MPa) | | | |
| | Water | Osmotic | Water | Osmotic |
| C-RCG ^{A)} | -1.13±0.02 ^{D)} | -1.70±0.02 | -3.28±0.05 | -2.10±0.03 |
| P-RCG ^{B)} | | | | |
| I. Obihiro | -1.05±0.03 | -1.72±0.09 | -2.31±1.01 | -2.60±0.90 |
| II. Fujinomiya | -1.10±0.02 | -1.70±0.10 | -2.25±1.20 | -2.81±1.20 |
| S-RCG ^{C)} | | | | |
| I. Yubetu | -1.05±0.07 | -1.69±0.04 | -2.24±1.11 | -2.55±1.09 |
| II. Hamaoka | -1.12±0.05 | -1.72±0.05 | -2.11±1.08 | -2.89±1.01 |

A) Reed canarygrass on control.

B) Reed canarygrass grown in pasture I (Obihiro) or II (Fujinomiya).

C) Reed canarygrass grown in seaside area I (Yubetu) or II (Hamaoka).

D) Values were expressed as mean ± standard error.

ンシャルの低下を抑制していることが示唆された。しかし、水ポテンシャル値および浸透ポテンシャル値ともに、糞尿区および汽水区の標準誤差値は大きく、区間の差は有意ではなかった。

考 察

本試験で設定した糞尿区は生育する牧草を調査してから10年間経ち、また堆肥舎および尿貯留槽から流出した糞尿が少なくとも15年間は流出してきた場所である。また汽水区は牧草の調査を開始して5年間を経ている。糞尿および汽水区ともに刈り取りは一切行っていない。これらの区に生育するRCGの耐塩性はこれまで行った実験結果から、対照区に比べて糞尿および汽水区で強く^{3-5, 7)}、NaClストレス下での耐塩性機構として、植物体中のK含量の低下抑制能力^{5, 7)}、水ポテンシャル値の低下抑制能力⁸⁾がいずれも高いことを報告した。しかしこれらの区に生育するRCGから採取した種子をバイオトロン内の同一条件下で発芽、生育させた本試験の結果、耐塩性は対照区に比べて汽水区および糞尿区で強い傾向を示したものの、有意な差ではなかった。また、耐塩性機構として取り上げたカチオンの低下抑制および水ポテンシャル値の低下抑制も対照区に比べて汽水区および糞尿区で低下抑制の傾向はみられたものの、有意な差とはならなかった。これらの原因はいずれも対照区以外の区では塩ストレス下の耐塩性程度やカチオン含有率、水ポテンシャル値の標準誤差が大きかったことにあった。従って、糞尿区および汽水区に生存する個体から得られた種子には耐塩性の強い個体と弱い個体が混在していたことを示唆した結果となった。MARANON, T. ら⁹⁾はGuadalquivir delta 地域において塩および非塩類集積地11箇所で採取したMelilotus 種子のNaCl 処理下での発芽反応を調査し、異なる3品種間の耐塩性の差を認め、生育地の違いと発芽反応との関連性を示唆した。また、ALLEN, S. G. ら¹⁾はアルファルファの種子を用いて種子発芽時のNaCl 耐性に関して5世代にわたる集団選抜を行った結果、-1.30Mpaの浸透ポテンシャル時の発芽率が3から86%まで高まったことを報告した。発芽時と生育時の耐塩性は必ずしも一致しない可能性はあるが¹⁰⁾、これらの報告は発芽時における耐塩性が遺伝的であること、および種子に遺伝的変異が存在したことを示唆していた。本試験において、糞尿区および汽水区で採取した種子に遺伝的変異が大きかった原因として、各区に隣接した、おそらく塩ストレスの無いと考えられる環境に生育する耐塩性の弱い個体と塩ストレス発生環境である糞尿区と汽水区に生育する耐塩性の強い個体との交雑の結果、各区に生育する個体から採取した種子に大

きな遺伝的変異が発生したものと考えられる。しかし、種子の遺伝的変異は大きくても、少なくとも耐塩性の強い個体が糞尿区および汽水区に存在することは明らかになった。今後、種子を採取した個体群に隣接した環境を調査し、糞尿区および汽水区の周辺環境を含めた地域の個体から種子を採取して詳細な調査をすること、およびイネで認められた後天的な耐塩性の獲得の可能性²⁾がRCGでも認められるかについての検討が必要である。

引用文献

- 1) ALLEN, S. G., A. K. DOBRENZ, M. H. SCHONHORST and J. E. STONER (1985) Heritability of NaCl tolerance in germinating alfalfa seeds. *Agron. J.* 77, 99-101.
- 2) BONILLA P., T. HIRAI, H. NAITO and M. TSUCHIYA (1995) Physiological response to salinity in rice plant VI. Induced salt-tolerance by low NaCl pretreatment. *Jpn. J. Crop Sci.* 64, 266-272.
- 3) 前田良之・武長 宏 (1993) 牛尿侵入土壌に生育する牧草のNaCl耐性の変化. 北草研報 27, 113-116.
- 4) MAEDA, Y. and H. TAKENAGA (1993) Salt tolerance of reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L.) grown on soil perfused with urine. *J. Japan. Grassl. Sci.* 39, 116-119.
- 5) 前田良之・竹本 圭・麻生末雄・武長 宏 (1995) 牛尿流入土壌に生育するリードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L.) の耐塩性と草体中のカチオンおよび遊離アミノ酸含量との関係. 日草誌 41, 60-66.
- 6) MAEDA, Y., Y. OTANI, K. OGIWARA and H. TAKENAGA (1996) Influence of metabolic inhibitor on the uptake of cation by reed canarygrass (*Phalaris arundinacea* L.) grown on soil perfused with urine. *Grassland Science* 42, 79-81.
- 7) 前田良之・大田忠親・武長 宏 (1996) 汽水域に生育するリードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L.) の耐塩性. 北草研報 30, 44-49.
- 8) 前田良之・平野 繁・武長 宏 (1996) 塩添加処理がリードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L.) 葉部の水ポテンシャルに及ぼす影響. 北草研報 30, 93-95.
- 9) MARANON, T., L. V. GARCIA and A. TRONCOSO (1989) Salinity and germination of annual Melilotus from the Guadalquivir delta (SW Spain). *Plant and Soil* 119, 223-228.

- 10) 嶋田典司 (1987) 農学大事典 (野口弥吉、川口信一郎 共監修). 養賢堂. 東京. p.817.
- 11) WEST, D. W. and J. A. TAYLOR (1985) Germination and growth of cultivars of *Trifolium subterraneum* L. in the presence of sodium chloride salinity. *Plant and Soil* 62, 221-230.

摘 要

糞尿流入地域 (糞尿区) および汽水域 (汽水区) に生育しているリードカナリーグラス (*Phalaris arundinacea* L., RCG) の一番草結実時に種子を採取し、バイオトロン内にて発芽、生育させた植物体を用いて、その耐塩性の強弱および機構を調査した。対照区として市販のリードカナリーグラス種子 (品種ベンチャー、雪印種苗株) を設定した。草丈約30cmになるまで水耕栽培後、NaCl を培養液中の濃度が50または100mM となるように添加した。添加後10日目に植物体を採取し、水・浸透ポテンシャル、乾物量およびカチオン含有率を測定した。

1. NaCl 無添加時における地上部の乾物生育量を各区それぞれ100と設定した場合、塩添加により牧草生育量は NaCl 50mM 条件下で相対生育値61~68、100mM

条件下で20~40を示し、塩濃度が高まるにつれて急激に低下した。対照区に比べて糞尿区および汽水区の生育量は50および100mM 条件下ともに高い傾向がみられた。

2. 地上部Na含有量は NaCl 添加により急激に増加した。対照区に比べて糞尿区の Na 含有量は高く、汽水区の Na 含有量は低い傾向が示された。K、Mg および Ca 含有量は NaCl 添加により低下し、これらの低下率は対照区で最も高かった。根部 Na 含有量は NaCl 添加により著しく増加し、増加率および含有量ともに対照区で最も高かった。K、Mg および Ca 含有量は NaCl 添加によりいずれも低下し、低下率は対照区で最も高かった。

3. NaCl 添加による植物体葉部の水ポテンシャル値の低下率は対照区で最も高く、浸透ポテンシャル値の低下率は逆に対照区で低い傾向を示した。NaCl 100mM 条件下において対照区に比べて糞尿区および汽水区の水ポテンシャル値は高く、浸透ポテンシャル値は低い傾向を示した。

4. 塩ストレス下における糞尿区、汽水区および対照区の植物体の耐塩性、カチオン含量および水ポテンシャル値の区間差はいずれも有意ではなかった。この原因として糞尿区および汽水区の個体間変異が大きいことが示唆された。