

作物生理・細胞工学

ダイズ種子の吸水速度調節が冠水障害の発生に与える影響

中山則和¹⁾・島田信二¹⁾・高橋幹²⁾・金榮厚¹⁾・有原丈二³⁾

(¹⁾ 農業・生物系特定産業技術研究機構 作物研究所, ²⁾ 国際農林水産業研究センター, ³⁾ 農業・生物系特定産業技術研究機構 中央農業研究センター)

要旨: ダイズ種子は吸水時に障害を受けやすく, 種子を冠水処理すると, 種子への急激な水の浸入により種子組織が物理的に破壊される結果, 出芽およびその後の植物体の生育が大きな影響を受ける. しかし, 種子の吸水速度を調節するためポリエチレングリコール (PEG) を添加した高張液に種子を浸漬した場合, 48 時間浸漬し続けても冠水障害の発生は見られなかった. 種子含水率約 70% (乾物重%) まで PEG 溶液中で緩やかに吸水させた種子では, その後に蒸留水中で冠水処理を行っても冠水障害は認められず, 種子吸水の初期段階の吸水速度が冠水障害発生に重大な影響を及ぼすことが示された. 以上の結果から, 種子の初期の吸水速度を抑制して種子の物理的な破壊を防げれば, 冠水障害を大幅に軽減できること, 種子吸水時の冠水障害発生の主要因は種子の物理的な破壊であり, 酸素欠乏は大きな要因ではないことが示唆された. しかし, 正常に吸水を終えた種子であっても, 幼根が種皮を貫通して伸長を始めた発芽後の種子を冠水処理した場合にも, 乾燥種子を冠水処理した時と同様, 処理後の出芽および生育が阻害されることが観察された. 発芽後の冠水障害は, 種子吸水時の冠水障害とは発生要因が全く異なり, 酸素欠乏による生理的な障害の側面が大きいと考えられる. 今後ダイズ発芽時の湿害について考える場合は, 発芽中 (吸水中) と発芽後 (幼根抽出後) を明確に区別する必要があるだろう.

キーワード: 冠水障害, 吸水, 高張液, 種子, ダイズ, 発芽

ダイズ種子は吸水による障害 (water uptake injury) を受け易いことが知られており, 種子を水に浸漬すると, その後の種子の出芽および出芽後の植物体の生育は著しく阻害される (中山ら 2004). 日本の多くの地域ではダイズの播種期が梅雨という多雨期にあたり, さらにその大部分が排水不良の水田転換畑で栽培されていることから, 播種直後の降雨等により圃場が冠水状態になった場合には生育および収量が大きな影響を受けることが知られている (有原 2000). 転換畑におけるダイズの安定・多収栽培を実現するためには, 発芽時の湿害, 冠水障害をいかに回避するかが重要な課題であると言える.

Simon (1974) は, 吸水により種子が乾燥状態から湿潤状態へと変化する過程で, 細胞膜構造が Hexagonal 構造から Lamellar 構造へと変化することを説明している. 冠水条件下に置かれたダイズ種子には急激に水が浸入するが, この急激な水の浸入に対して細胞膜の構造変化が追い付かなくなると, 膜構造が物理的に破壊されてしまい, 苗立ち不良や生育阻害などの冠水障害が引き起こされると考えられている (Leopold 1980). ダイズ種子を低温条件下で吸水させた場合にも冠水障害と同様な障害が観察されるが, これも吸水にともなう膜構造の変化が低温によって妨げられることが原因であり, 低温吸水障害も本質的には冠水障害と同じ吸水による障害の一つと考えられる (Bramlage ら 1978).

種皮は種子の吸水速度を決定する重要な要素である (池田 1986, McDonald ら 1988) ことから, 吸水による障害を

透水性などの種皮の性質との関連で研究している例は多い (Powell and Matthews 1978, Powell ら 1986, Hou and Thseng 1991). 我々も前回の報告において, 冠水障害の発生と種子の吸水特性に高い相関が認められることを示している (中山ら 2004). 一方, 種子の吸水に高張液を用いて人為的に吸水速度を調節することにより, 低温吸水障害および冠水障害が軽減されることが報告されている (Tully ら 1981, Woodstock ら 1981). 種子の吸水速度を人為的に調節することにより冠水障害を防げるならば, それは発芽時の湿害を回避するための極めて重要な技術に繋がる可能性がある. しかし, 実際の栽培現場に応用するには, どの程度まで緩やかに吸水させることができれば冠水障害の発生を防げるか等の具体的なデータが不足している. そこで, 今回我々は, 高張液を用いた種子の吸水速度調節が冠水障害発生に与える影響を調査し, 冠水障害を発生させない吸水条件の検討を行った. また, 冠水障害を発生させる主要因は, 急激な吸水による種子の物理的な破壊であると考えられているが, 酸素欠乏による代謝阻害などの生理的な障害の可能性も完全には除外されていないことから, 冠水障害の発生に生理的な要因が関与している可能性についても併せて考察を行った.

材料と方法

1. 種子材料

全ての試験には品種タチナガハの種子を使用した. 2001 年に作物研究所観音台圃場において栽培し, 収穫・調製後,

使用直前まで5°Cで保存した。供試前に種子を選別し、裂皮等の種皮の傷が無い精粒のみを試験に用いた。供試前に種子の新鮮重あたりの含水率を $10.0 \pm 0.5\%$ に調節し、特に言及がない限り全ての試験でこの含水率の種子を使用した。含水率の調節は前報(中山ら2004)に準じた。

2. 種子の冠水処理および冠水障害の評価

全ての実験の冠水処理方法および冠水障害の評価方法は、以下に示した基本操作に従った。

冠水処理は、種子30粒を脱気した浸漬溶液120mlに浸漬することにより、25°Cで行った。冠水処理中は落とし蓋をして、種子が水面に浮き上がってこないようにした。冠水処理時間および浸漬溶液は、各実験により異なるため、それぞれの実験方法に詳細を記した。

冠水処理終了後、種子を破壊しないように取り出し、ベンレートT水和剤(デュポン社)の50倍希釈液に種子を1分間漬けて殺菌処理した後、十分に湿らせたパーミキュライトを充填した育苗箱(36×51×10.5cm)に播種深度2.5cmとなるように播種した。育苗箱は温室(自然光、昼間気温28°C、夜間気温22°Cに設定)に置き、適時灌水しながら種子を発芽させた。播種15日後、前報(中山ら2004)と同じ方法で出芽率および生育量を調査した。すなわち、培地表面から完全に抽出した植物体を出芽個体と見なして出芽率を調査するとともに、出芽個体の子葉を除いた地上部をとり、出芽1個体あたりの乾物重を求めて生育量とした。

対照区では種子の冠水処理を行わず、ベンレートTを粉依した乾燥種子を前出のパーミキュライト培地に直接播種した。冠水処理区の種子は播種時に十分に吸水して膨潤した状態であったのに対し、対照区の種子は播種時に乾燥状態であったことから、対照区の調査は冠水処理区より1日遅らせた播種16日後に行った。

全ての実験は3反復で行い、結果はその平均値で示した。統計処理にはSPSS Ver. 11.0J (SPSS株式会社)を使用した。

3. 種子の冠水処理時間と冠水障害の発生

種子を蒸留水に浸漬し、処理時間を0-48時間の間で変化させて冠水処理を行った。処理が終了した種子をパーミキュライト培地に播種し、播種15日後の出芽率および生育量を調査した。試験区によって冠水処理時間が異なるため、培地への播種日も異なったが、調査は全ての処理区で播種日から15日後に行った。

4. 吸水速度調節が冠水障害発生に与える影響

冠水条件下の種子の吸水速度を抑制するため、浸漬溶液としてポリエチレングリコール(PEG6000 和光純薬、以下PEG)300gを蒸留水1Lに溶解させた溶液を用いた。この溶液の浸透ポテンシャルは約-1.1MPaと計算された(Michel and Kaufmann 1971)。蒸留水浸漬48時間、PEG溶

液浸漬48時間、蒸留水浸漬24時間+PEG溶液浸漬24時間、PEG溶液浸漬24時間+蒸留水浸漬24時間、以上4種類の処理区を設け、それぞれの処理区の出芽率および出芽個体の生育量を調査した。対照区では、種子の冠水処理を行わなかった。

冠水処理に用いたPEG溶液および蒸留水中の溶存酸素濃度は、酸素電極(柴田科学ODT-101)を用いて測定した。

5. PEG溶液中の冠水処理期間が冠水障害発生に与える影響

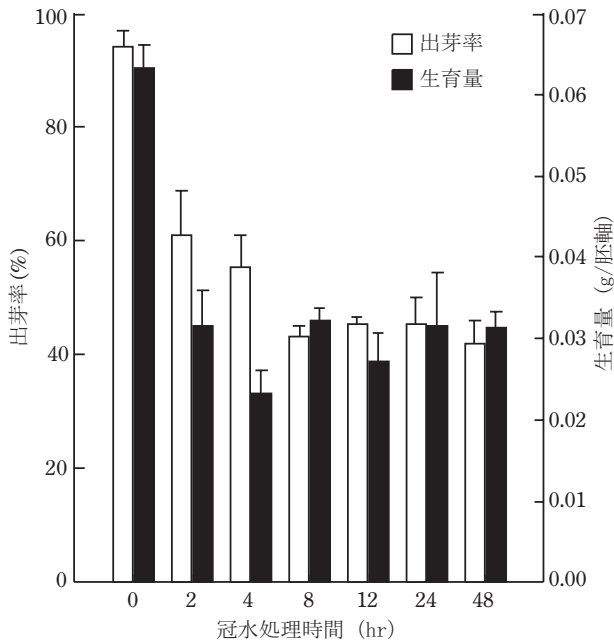
種子を前出のPEG溶液に浸漬し、処理時間を0-24時間の間で変化させた。それぞれの期間PEG溶液に浸漬した後、種子を蒸留水中に移してさらに冠水処理し、全ての処理区のPEG溶液と蒸留水の冠水処理時間の合計が48時間となるように処理を行った。対照区の種子は、冠水処理を行わなかった。

6. 冠水処理が発芽後のサイズに与える影響

蒸留水で湿らせたペーパータオル上に種子を置き、25°Cで2日間発芽させた。本実験では、吸水中に種子が破壊されるのを防ぐため、吸水による障害を受けにくい含水率14.5%(新鮮重%)の種子(中山ら2004)を使用した。Bewley(1997)の定義に従い、幼根が種皮を貫通した時点を発芽終了と見なした。発芽後、幼根(胚軸も含まれる)の長さが1-2cmまで伸長した20個体を選別し、25°Cの蒸留水100ml中に0-5日間冠水処理した。冠水処理した発芽種子は、「2. 種子の冠水処理および冠水障害の評価」に記した方法と同様にパーミキュライト培地に播種し、播種10日後に出芽率と生育量を調査した。発芽種子の冠水処理期間は処理区により0-5日間と異なるため、培地への播種日も異なったが、出芽率および生育量の調査は、全ての処理区で播種日から10日後に行った。

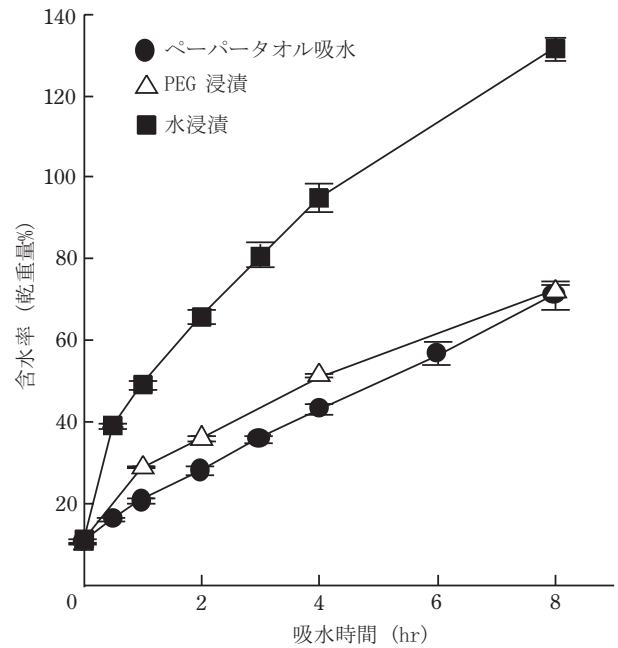
結果および考察

前報(中山ら2004)において、サイズ発芽時の冠水障害の主な要因が急激な吸水による種子の物理的な破壊であること、そして、その種子の破壊は冠水処理を開始してから短時間の内に起こることが示唆された。そこで、冠水障害が発生するのに、どの程度の期間の冠水処理が必要であるかを検討した(第1図)。冠水処理の影響は処理開始2時間後には既に顕著であり、処理時間をそれ以上長くしても冠水障害の発生程度は、2時間処理時と大きな差は見られなかった。今回は2時間以下の冠水処理を行わなかったが、急激な吸水による障害は、種子の浸漬を開始した直後のわずかな時間内に引き起こされると考えられる。エンドウの種子でも、種皮を除去した場合にはあるが、わずか2分程度の冠水処理により障害が発生することが報告されている(Powell and Matthews 1978)。Hou and Thseng(1992)は、サイズ種子の冠水抵抗性の検定法として4日間の冠水処理を



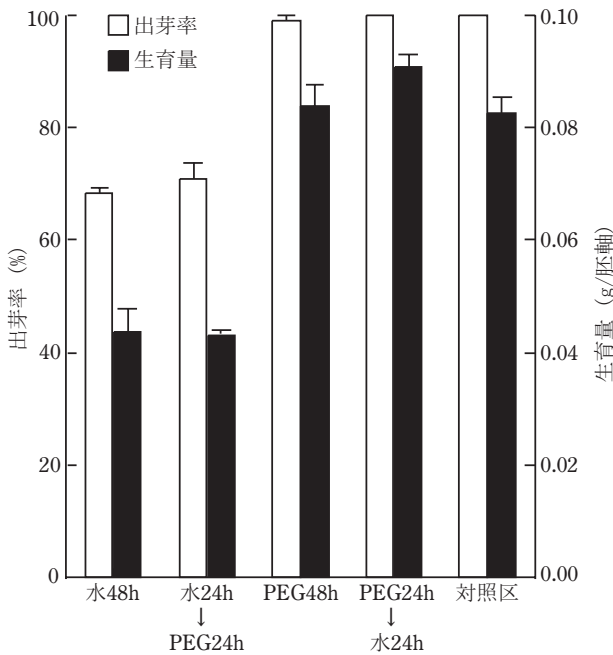
第1図 冠水処理時間と冠水障害の発現程度。

種子(含水率10.0±0.5%) 30粒を、図中に示された期間冠水処理した後、パーミキュライト培地に播種した。播種15日後の出芽率と子葉を除く地上部乾物重を調査した。図中の縦棒は標準誤差。n=3。



第3図 吸水方法の違いが種子含水率増加に与える影響。

種子(含水率10.0±0.5%) 30粒を、湿らせたペーパータオル上、蒸留水中およびPEG溶液中で吸水させ、種子含水率の増加を調査した。含水率は種子乾物重量あたりのパーセンテージ。図中の縦棒は標準誤差。n=3。



第2図 冠水条件下の吸水速度調節が冠水障害の発生に与える影響。

種子(含水率10.0±0.5%) 30粒を蒸留水またはPEG溶液に24時間浸漬後、蒸留水またはPEG溶液に移してさらに24時間、計48時間冠水処理した。処理後、種子を培地に播種し、15日後の出芽率と子葉を除く地上部乾物重を調査した。対照区は種子を冠水処理をせず、直接培地に播種し、16日後に調査を行った。図中の縦棒は標準誤差。n=3。

提案しているが、今回の結果は、少なくとも含水率10%前後のダイズ種子では、従来から考えられていたよりも短い時間の冠水処理により障害が引き起こされることを示している。乾燥種子は、その細胞内に溶媒となる水がほとんど

存在せず、代謝的に不活性な組織である。発芽時に種子が吸水を開始すると、細胞膜や細胞内小器官が水を含んで膨潤し、再構成され、続いて発芽のための一連の生化学反応が進行する(Bewley 1997)。しかし、水に浸漬して1時間程度の種子では、種皮と子葉の表層のみが吸水した状態であり、活発な代謝活動が行われているとは考えにくい。以上のことから、冠水障害の発生要因としては、生理的な要因よりも種子の物理的な破壊の方が大きいと考えられる。

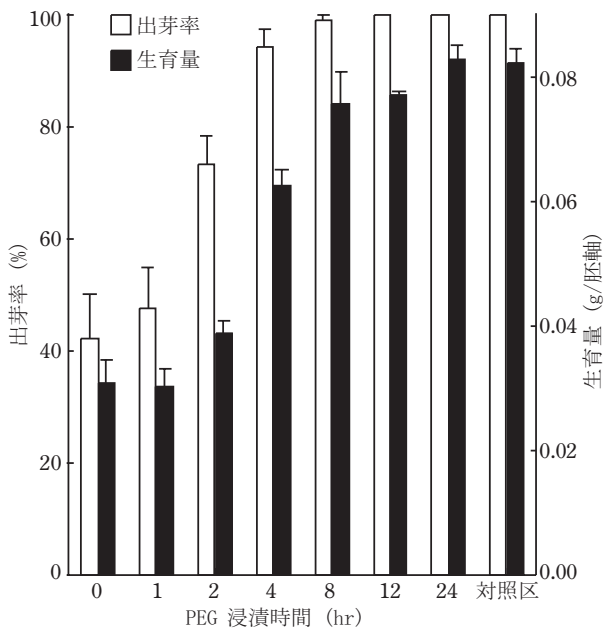
種子の冠水抵抗性と種子の吸水特性には高い相関があり、冠水抵抗性が高い品種の種子では、種皮が水の浸入を効果的に調節して種子の破壊を防いでいると考えられる(中山ら 2004)。そこで、冠水処理時の種子の吸水速度の抑制が冠水障害の発生に及ぼす影響を調査した(第2図)。蒸留水に48時間浸漬した処理区では、冠水処理を行わない対照区に比べ、出芽率も出芽後の生育も阻害され明瞭な冠水障害が認められた。一方、PEG溶液に48時間浸漬した処理区では障害は全く見られず、出芽率、生育量ともに対照区と有意差は見られなかった(Tukey法, 1%水準)。また、最初に24時間蒸留水に浸漬した後に24時間PEG溶液に浸漬した場合、蒸留水に48時間浸漬した処理区と同程度の障害が観察されたが、最初にPEG溶液に24時間浸漬した場合は、その後に蒸留水に浸漬しても障害は見られず、48時間PEG溶液浸漬区と同様、出芽率、生育量に対照区と有意差は認められなかった(Tukey法, 1%水準)。PEG溶液に浸漬した時の種子の吸水速度は、蒸留水に浸漬した場合よりも明らかに遅く、湿らせたペーパータオル上で吸水させるのと同程度であった(第3図)。したがって、

種子の吸水速度が抑制されたことにより、種子は急激な吸水による破壊を受けず、冠水障害の発生が抑えられたものと考えられる。以上の結果、および第1図で示された結果から、種子が吸水を開始した初期の吸水速度が冠水障害の発生に重大な影響を及ぼすことが示された。一方、冠水処理に用いた蒸留水の溶存酸素濃度は 1.6 mg L^{-1} であったのに対し、PEG 溶液の溶存酸素濃度は蒸留水よりも低い 0.87 mg L^{-1} であったことから、冠水条件下であっても種子の物理的な破壊が起こらなければ、少なくとも吸水初期48時間程度の酸素欠乏は冠水障害の発生には大きな影響を与えないことが示唆された。

種子の吸水初期の吸水速度の重要性が示されたことから、次に、種子が吸水を開始してからどの程度まで吸水速度を適正に保てば冠水障害の発生を回避できるかを検討した(第4図)。蒸留水に浸漬する前にPEG溶液に1時間浸漬する程度では冠水障害の発生は防げなかったが、PEG浸漬時間が長くなるにつれて冠水障害の発生は軽減され、PEG溶液中で8時間まで吸水させた処理区では冠水障害は全く見られなかった。PEG溶液に8時間浸漬した時点の種子含水率は、種子乾物重ベースで72% (新鮮重ベースでは40%) であり(第3図)、この水準まで緩やかに吸水させることができれば、その後に種子が冠水条件に遭遇しても種子の破壊は起こらないことが示された。吸水したダイズ種子が幼根の伸長を開始する時点での含水率は、新鮮重ベースで約50%と報告されており(Hunter and Erickson 1952)、幼根の伸長が開始される程度の含水率に達するま

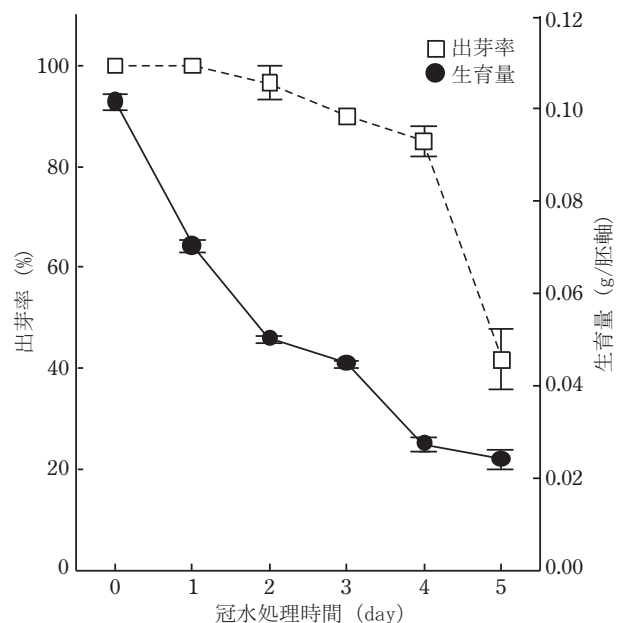
では吸水速度は適正に保たれる必要がある。しかし、一旦この水準まで吸水してしまえば、少なくともその後40時間程度の酸素欠乏は大きな問題とはならないと考えられる。前報(中山ら2004)において我々は、種子の含水率を高めることで栽培的にダイズ発芽時の冠水障害の発生を軽減できる可能性を示したが、種子の吸水速度を調節することでも冠水障害を回避できる可能性が今回示された。

実際の栽培現場における発芽時の湿害の発生要因としては、過湿土壌中の種子の急激な吸水、種子内容物の漏出とそれに伴う微生物の繁殖、土壌酸素の欠乏による代謝系の阻害などが考えられる。今回の結果は、少なくとも種子が吸水を開始した初期、すなわち発芽初期の湿害においては、酸素欠乏による影響は大きくなく、急激な吸水による種子の破壊が大きな要因であることを示唆している。しかし、吸水を完了し幼根が伸長を開始した植物体の呼吸量は飛躍的に増大する(Bewley 1997)ことから、吸水時に種子の物理的な破壊を回避できたとしても、出芽するまでの間に土壌の過湿に遭遇したダイズは、今度は酸素欠乏による生理的な障害が引き起こす湿害の影響を受ける可能性がある。そこで、幼根が伸長を開始した発芽種子を冠水処理した時の影響を調査し、結果を第5図に示した。冠水処理期間が2日以上になると播種後の出芽率に低下が認められ始め、処理期間が5日間を越えると冠水処理の影響はより顕著となり、出芽率は無処理区の40%まで低下した。出芽後の生育はさらに深刻な影響を受け、1日間冠水処理しただけで生育量は低下し、5日間処理では無処理区の約25%



第4図 PEG溶液中の冠水処理時間と冠水障害の発生。

種子(含水率 $10.0 \pm 0.5\%$)30粒を、図中に示された期間PEG溶液に浸漬した後、蒸留水に移し、PEG溶液と蒸留水の処理時間の合計が48時間となるように冠水処理した。処理後、種子を培地に播種し、15日後の出芽率と子葉を除く地上部の乾物重を調査した。対照区は冠水処理せず、種子を直接培地に播種し、16日後に調査を行った。図中の縦棒は標準誤差。n=3。



第5図 冠水処理が発芽種子に与える影響。

種子(含水率 14.5%)を湿らせたペーパータオル上に2日間において発芽させ、胚軸を含む幼根が1-2 cmに伸長した発芽種子20個体を、図中に示された期間冠水処理した。処理後、パーミキュライト培地に播種し、播種10日後の出芽率と子葉を除く地上部乾物重を調査した。図中の縦棒は標準誤差。n=3。

まで低下した。Wuebker ら (2001) も指摘しているように、これまでのダイズ種子の冠水耐性についての研究は、発芽(吸水)を開始する前の乾燥種子を直接水に浸漬してその影響を調査したものが大部分であり、吸水が完了し幼根が種皮から抽出した後、すなわち発芽後の冠水耐性に注目して研究している例はほとんどない。実際の栽培現場では過湿土壤に播種するような事例は希であり、むしろ播種後しばらくしてからの降雨等により土壤が過湿状態に陥る事例の方が多いと考えられる。発芽終了後(幼根の伸長開始後)の湿害は、発芽時(種子吸水中)の湿害とは発生要因が全く異なり、酸素欠乏による生理的な障害の側面が大きいと考えられることから、今後の研究は両者を明確に区別して行われる必要があるだろう。発芽終了後の酸素欠乏がダイズに与える影響について、現在、筆者らは研究を進めている。

引用文献

- 有原文二 2000. ダイズ 安定多収の革新技術. 農文協, 東京. 69-80.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9 : 1055-1066.
- Bramlage, W.J., A.C. Leopold and D.J. Parrish 1978. Chilling stress to soybeans during imbibition. *Plant Physiol.* 61 : 525-529.
- Hou, F.F. and F.S. Thseng 1991. Studies on the flooding tolerance of soybean seed: varietal differences. *Euphytica* 57 : 169-173.
- Hou, F.F. and F.S. Thseng 1992. Studies on the screening technique for pre-germination flooding tolerance in soybean. *Jpn. J. Crop Sci.* 61 : 447-453.
- Hunter, J.R. and A.E. Erickson 1952. Relation of seed germination to soil moisture tension. *Agron. J.* 44 : 107-109.
- 池田武 1986. ダイズの裂皮粒の発芽と出芽について. *日作紀* 55 : 399-403.
- Leopold, A.C. 1980. Temperature effects on soybean imbibition and leakage. *Plant Physiol.* 65 : 1096-1098.
- McDonald, M.B., Jr., C.W. Vertucci and E.E. Roos 1988. Seed coat regulation of soybean seed imbibition. *Crop Sci.* 28 : 987-992.
- Michel, B.E. and M.R. Kaufmann 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51 : 914-916.
- 中山則和・橋本俊司・島田信二・高橋幹・金榮厚・大矢徹治・有原文二 2004. 冠水ストレスが発芽時のダイズに及ぼす影響と種子含水率調節による冠水障害の軽減効果. *日作紀* 73 : 323-329.
- Powell, A.A. and S. Matthews 1978. The damaging effect of water on dry pea embryos during imbibition. *J. Exp. Bot.* 29 : 1215-1229.
- Powell, A.A., M.DE A. Oliveira and S. Matthews 1986. The role of imbibition damage in determining the vigour of white and coloured seed lots of dwarf French beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Exp. Bot.* 37 : 716-722.
- Simon, E.W. 1974. Phospholipids and plant membrane permeability. *New Phytol.* 73 : 377-420.
- Tully, R.E., M.E. Musgrave and A.C. Leopold 1981. The seed coat as a control of imbibitional chilling injury. *Crop Sci.* 21 : 312-317.
- Woodstock, L.W. and R.B. Taylorson 1981. Soaking injury and its reversal with polyethylene glycol in relation to respiratory metabolism in high and low vigor soybean seeds. *Physiol. Plant.* 53 : 263-268.
- Wuebker, E.F., R.E. Mullen and K. Koehler 2001. Flooding and temperature effects on soybean germination. *Crop Sci.* 41 : 1857-1861.

Effects of Water-Absorbing Rate of Seed on Flooding Injury in Soybean : Norikazu NAKAYAMA¹⁾, Shinji SHIMADA¹⁾, Motoki TAKAHASHI²⁾, Yeong-Hoo KIM¹⁾ and Joji ARIHARA³⁾(¹⁾*Natl. Inst. Crop Sci., Tsukuba 305-8518, Japan;* ²⁾*Japan Internatl. Res. Cent. Agric. Sci.;* ³⁾*Natl. Agric. Res. Cent.*)

Abstract : Soybean seeds are known to be sensitive to flooding stress. It has been proposed that a rapid inrush of water into soybean seeds causes physical disruption of seeds leading to a marked reduction in seedling emergence and subsequent seedling growth. However, when the water-absorbing rate of seeds was osmotically reduced by submerging the seeds into PEG solution, no damage occurred. Submersion of the seeds in PEG solution at least for 48 hr did not cause any damage. Imbibition of seeds in PEG solution up to 70% seed moisture level (dry weight basis) completely protected seed from the flooding injury in subsequent soaking in water. These results indicate that the flooding injury can be avoided by reducing the rate of water absorption during the early stage of seed hydration, and that the injury is mainly caused by physical damage of seeds and not by oxygen deficiency. However, when germinated seeds with visible radicles emerged were soaked in water, seedling emergence and subsequent growth were markedly reduced as when dry seeds were soaked in water. This injury of germinated seeds may be physiological damage due to oxygen deficiency. Thus, in the studies on flooding injury of soybean, the effect of flooding during germination (imbibition) and after radicle protrusion should be examined separately.

Key words : Flooding injury, Germination, Imbibition, Osmotic potential, Seed, Soybean