

B-17 水耕栽培による臭素酸のイネの成長への影響評価手法の検討

○颯田 尚哉^{1*}・立石 貴浩²・橋本 后平¹・武藤 由子¹

¹岩手大学農学部共生環境課程（〒020-8550岩手県盛岡市上田3-18-8）

²岩手大学農学部応用生物化学課程（〒020-8550岩手県盛岡市上田3-18-8）

* E-mail: satta@iwate-u.ac.jp

1. はじめに

日本の用水の3分の2は農業用水であり、その殆どが水稲栽培の灌漑水として利用されている。灌漑水の水源は河川上流部に設置されることから、特異的な条件を除くと灌漑水の水質が問題視されることは少なかった。ところが青森・岩手県境不法投棄現場では水源地上流において、1,4-ジオキサンという新たな難分解性有機物の水質汚染が生じている。そこでは促進酸化処理が適用され、水中のほとんど無害な濃度の臭化物(Br⁻)から臭素酸(BrO₃⁻)が副生成して、下流の環境水中へ放出されている¹⁾。

灌漑水に含まれる有害物質は多種多様であり、分析化学の手法によりすべての項目を評価するのは困難である。灌漑水を用いた栽培実験は、有害性を評価するための有効な方法でもある。臭素酸はイネの地上部に対して成長阻害を引き起こすことが、土耕栽培²⁾や寒天培地栽培³⁾で知られている。しかしながら地下部の生育への詳細な影響は検討されていない。土耕栽培では年に一度しか実験できないことや寒天培地では根に対する曝露が間接的である。また水耕栽培での検討例もない。そこで本研究では、イネの水耕栽培実験を繰り返し行い、臭素酸の成長への影響を地上部と地下部について検討するとともに、実験手法としての有効性を確認した。

2. イネの水耕栽培実験方法

(1) 実験条件

水耕栽培に用いる水耕液の臭素酸の濃度は、基本の水耕液（ハイポネックス1万倍希釈）に0 mg-Br/L（臭素酸無添加）、5 mg-Br/L、10 mg-Br/L、15 mg-Br/L、20 mg-Br/LとなるようにNaBrO₃を添加した。イネの栽培は、培養試験管を用いて、溶液量は50 mLとした。栽培は、8月から10月に室内の窓際の自然光と無空調の室内において3

回行い、品種はヒノヒカリ(RUN1)、アキタコマチ(RUN2,3)を使用した。

(2) 実験手順

1日目に40個の籾をシャーレに播種する。発芽後4日目に25個体を選抜して自作したフロートに置き、50 mLの精製水を入れた培養試験管で25本、11日目まで栽培する。そのうち15個体（5条件×3連）を選抜し、水耕液に入れ替えて栽培実験を開始する。このとき各個体の地上部の長さや地下部の長さの最大値を計測する。15日目と20日目に水耕液を入れ替えて栽培を継続し、24日目に地上部と地下部を分けて収穫した。このときも地上部と地下部の最大の長さを測定した。収穫した地上部は乾燥重量（70℃、3日間乾燥）と含水比を測定し、地下部は-60℃で冷凍保存後、DNA酸化損傷の評価を試みた⁴⁾。

3. 実験結果と考察

(1) 形態的变化の検討

図1にRUN1の栽培実験の各水耕栽培溶液の個体の1例

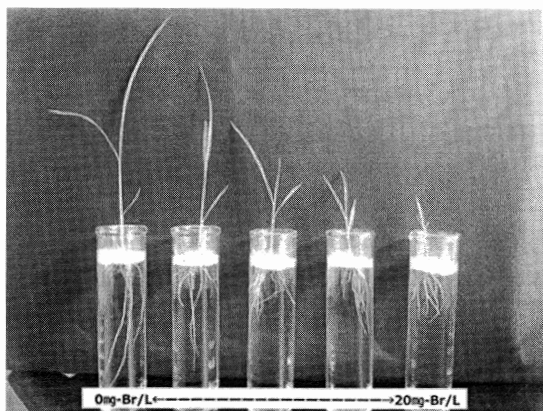


図-1 収穫直前のイネの様子(RUN1)

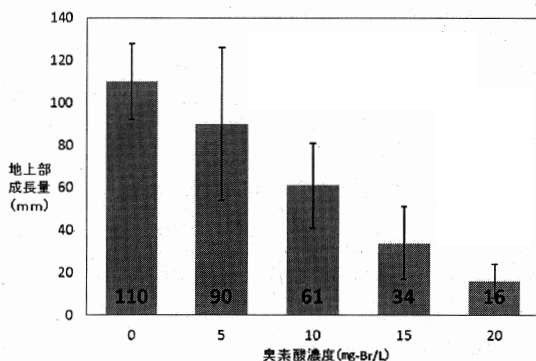


図2 イネの地上部生長量 (RUN1)

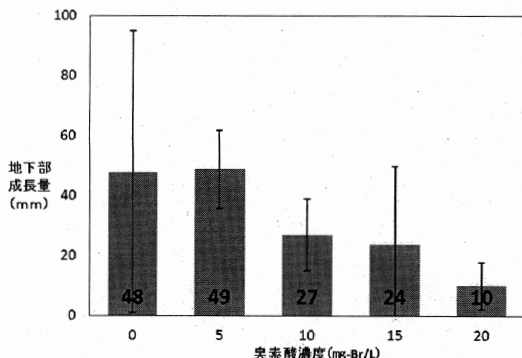


図3 イネの地下部生長量 (RUN1)

を示す。コントロールである無添加条件に対して臭素酸濃度の上昇につれて、地上部、地下部の成長がともに悪くなることが目視により確認できる。RUN2, 3の栽培実験についても同様の傾向が観察されており、同じRUNの中や各RUNごとの目視による再現性は良かった。

成長量とは、臭素酸に曝露された水耕栽培期間に成長した草丈または根の長さであり、24日目の最大長さと11日目の最大長さの差として評価した。図2、図3にRUN1の地上部と地下部の成長量の測定結果の平均値を示す。エラーバーは標準偏差である。地上部生長量(図2)は臭素酸濃度が増加するにつれて、成長量の平均値が単調に減少している。地下部(図3)は、コントロールにおいて標準偏差が非常に大きかった。発芽直後は根の成長のほうが早いこと、生長量を最大値で評価していることが一因として考えられる。平均値ではコントロールと5 mg-Br/Lにおいて差はほとんどなかったが、臭素酸濃度が増加するにつれて、成長量の平均値が減少する傾向を示している。今回図示しないがRUN2, 3の栽培実験についても同様の傾向が得られており、臭素酸はイネの地上部や地下部に成長阻害を引き起こすことがわかる。

(2) 臭素酸濃度の影響

前述のように臭素酸はイネの成長に悪影響を及ぼすことが、形態の観察や生長量の変化から示唆された。各RUNの栽培期間や比較要因である臭素酸濃度は統一し

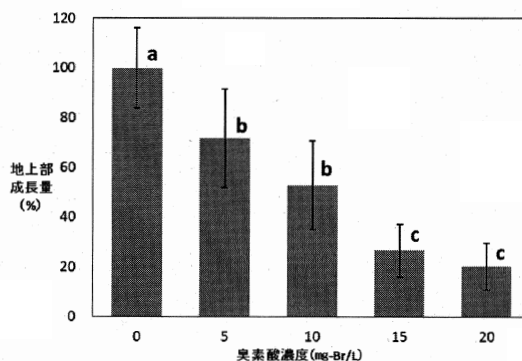


図4 イネの地上部生長量の多重比較結果 $P < 0.01$

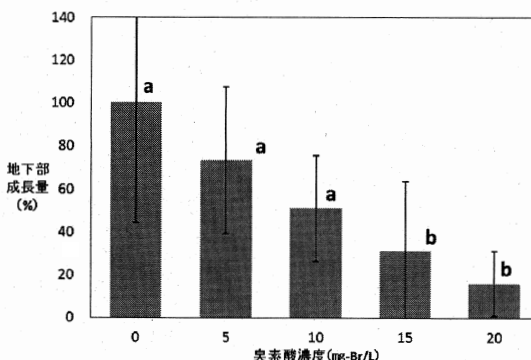


図5 イネの地下部生長量の多重比較結果 $P < 0.01$

ているが、植物の成長に大きな影響を及ぼす気温や日照時間は制御できおらず、各RUNの実験結果に及ぼす要因のひとつとなっている。地上部のコントロールの平均生長量は、RUN1, 2, 3においてそれぞれ110, 63, 56 mmである。RUN1とRUN3では2倍程度も異なり、環境要因が稲の生長にも大きく影響していることは明らかである。化学物質の生体影響を比較検討するためには、統計解析手法のなかの分散分析や多重比較が通常利用されるが、本研究の生データを単純に統計解析しても、臭素酸の要因のみを比較することは困難である。

本研究では、各RUNのコントロールの平均値で測定値を除いて基準化することで、環境要因の影響を考慮しないこととした。基準化したデータは、臭素酸のみの影響を受けるとする一元配置データとなり、5水準 (1水準あたり $n=9$) として、分散分析と多重比較を行った。また品種間の相違は無視した。

(a) イネ地上部生長量：分散分析の結果、有意水準1%で臭素酸によって地上部の生長量は、変動することがわかった。図4にイネの地上部のBonferroni型の多重比較の結果を示す。コントロールと臭素酸処理区は、有意水準1%で有意差があり、臭素酸は5 mg-Br/L以上でイネの地上部に悪影響を及ぼすと考えられる。5, 10 mg-Br/L処理区と15, 20 mg-Br/L処理区にも有意差があり、濃度の上昇により地上部の成長阻害作用は強まると考えられる。

(b) イネ地下部生長量：分散分析の結果、有意水準1%

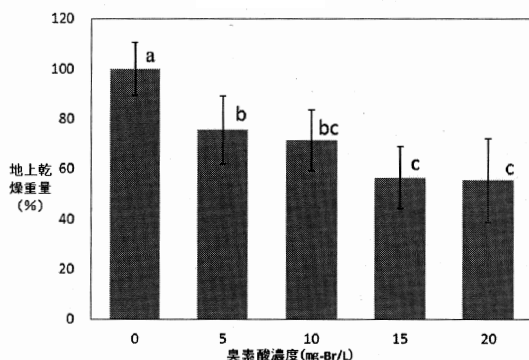


図-6 イネの地上部乾燥重量の多重比較結果 $P<0.05$

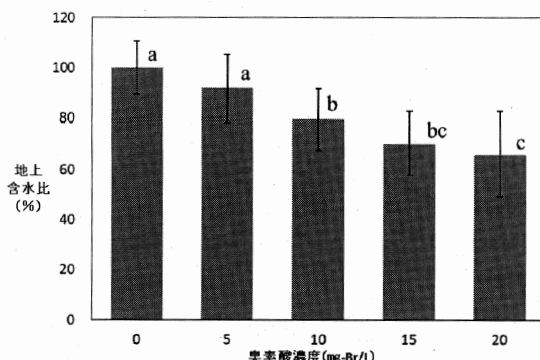


図-7 イネの地上部含水比の多重比較結果 $P<0.05$

で臭素酸によって地上部の生長量は、変動することがわかった。図5にイネの地下部生長量のBonferroni型の多重比較の結果を示す。基準化後の平均値において、臭素酸濃度の上昇により単調に地下部の成長は抑制されており、地下部への臭素酸の影響は図3よりも明瞭である。コントロールと有意水準1%で有意差を示した処理区は、15 mg-Br/L以上であり、コントロールの標準偏差が大きいため5, 10 mg-Br/L処理区との有意差を検出できなかった。5 mg-Br/L処理区と20 mg-Br/L処理区にも有意水準5%で有意差がみられた。地上部(図4)ほど明確でないが、臭素酸濃度の上昇により地下部の成長阻害作用は強まる傾向が考えられる。

(c) イネ地上部乾燥重量：分散分析の結果、有意水準1%で臭素酸によって地上部の乾燥重量は変動することがわかった。図6にイネの地上部乾燥重量のBonferroni型の多重比較の結果を示す。コントロールと臭素酸処理区は、有意水準5%で有意差があり、臭素酸は5 mg-Br/L以上でイネの地上部に悪影響を及ぼすと考えられる。5 mg-Br/L処理区と15, 20 mg-Br/L処理区にも有意差があり、濃度の上昇により地上部の成長阻害作用は強まる傾向が考えられるが、10 mg-Br/L処理区と15, 20 mg-Br/L処理区には有意差はなかった。統計的な比較結果の表示は、地上部生長量(図4)とよく似ているが、地上部乾燥重量の図6のほうが有意水準は低くなった。

(d) イネ地上部含水比：図7に臭素酸濃度に対するイネ

の地上部含水比の変化を示す。縦軸は%であるが、一般的に使われる乾燥重量当たりの水分量の割合(含水率)そのものでなく、各個体の含水率を各RUNのコントロールの含水率平均値で基準化した値である。基準化後の平均値は、臭素酸濃度の上昇により単調に減少しており、地上部の含水率は低下することがわかる。本研究の実験は水耕栽培であり、地下部には常に十分な水分が存在する。にもかかわらず地上部の含水率が低下するのは、地下部の給水機構が臭素酸により悪影響を受け、水分ストレスによって成長が抑制された可能性が考えられる。

分散分析の結果、有意水準1%で臭素酸によって地上部の含水比は変動することがわかった。図7にイネの地上部含水比のBonferroni型の多重比較の結果を示す。コントロールと5 mg-Br/L処理区は有意差がなかったが、10 mg-Br/L以上の処理区とは有意水準1%で有意差を示した。臭素酸は10 mg-Br/L以上でイネの地上部の含水比に悪影響を及ぼすと考えられる。5 mg-Br/L処理区と10, 15, 20 mg-Br/L処理区にも5%で有意差があり、濃度の上昇により地上部の成長阻害作用は強まる傾向があるが、10 mg-Br/L処理区と15 mg-Br/L処理区は有意差を示さなかった。地上部含水比の濃度依存性は、地上部生長量(図4)とよく似ているが、図4のほうが明確である。

4. まとめ

臭素酸のイネへの成長への影響を水耕栽培で検討した。地上部だけでなく地下部でも成長阻害作用は観察され、臭素酸の濃度の増加につれて、成長阻害作用は大きくなった。また、本研究で構成した水耕栽培実験方法の再現性は良好であり、実験手法の信頼性は高いと考えられた。

謝辞：本研究の一部は、科学研究費補助金(課題番号23658187)により行なわれた。

参考文献

- 1) 堀田尚哉, 立石貴浩, 高木浩一, 江川内達也, 佐々木千咲, 橋本后平：促進酸化処理による臭素酸の排出実態と生成特性に関する基礎的検討, 第20回地下水・土壌汚染とその防止策に関する研究集会講演集, Vol.20, pp. 663-668, 2014
- 2) 米澤彩子, 堀田尚哉, 高木浩一：臭素酸イオンがイネの生育に与える影響, 第48回環境工学研究フォーラム講演集, B-46, pp.238-240, 2011
- 3) 堀田尚哉 他；イネの酸化的DNA損傷を指標とした灌漑水の水質異常評価の試み, 平成24年度農業農村工学会大会講演集講演集, pp. 558-559, 2012
- 4) 堀田尚哉 他；灌漑水の臭素酸がイネの成長に及ぼす影響, 平成26年度農業農村工学会大会講演集講演集, pp. 264-265, 2014