

9120 耐塩生植物の耐塩性機構について

加藤 茂(東京農業大学)

塩生植物の一種であるマングローブは、熱帯・亜熱帯の海水の出入りする感潮河川域に分布している植物群である。沖縄に分布しているマングローブの一種である *Rhizophora stylosa* (ヤエヤマヒルギ) の胎生種子を各種塩濃度の水耕栽培液を用いて人工気象条件下において栽培し、塩類濃度と生育について比較し各種イオンの取り込みとそのオヒルギの生育応答と塩 (NaCl) との関係について検討を試みた。

1. 試料および方法

ヤエヤマヒルギ胎生種子は、1/2000a ワグネルポットを用い砂耕法によりたえず通気をおこないながら人工環境調節下に栽培を行なった。栽培条件は、人工光グローブスキャビネット(小糸製作所製)を使用し昼間30℃、夜間25℃、12時間照明、相対湿度50-70%に調節した。4.5 か月栽培後の各植物体は、特に根を傷めないように注意しながら植物体を丁寧に蒸留水で洗浄し葉(健全生育葉)と根の2部分に分け精粋後、蒸留水とともにホモジナイズし分析試料を調整した。このホモジナイズ調整液について各種無機イオンおよび有機酸の分析を行なった。

2. 結果および考察

ヤエヤマヒルギ栽培試験の結果、F-20区(0.6%NaCl)とF-50区(1.5%NaCl)における生育が良好で節間数、節間伸長、葉の大きく緑も濃く他の栽培区に比較し優れていた。平均的な海水塩分濃度である3%NaClのF-100区における生育は、発根は認められたが根毛の形成と葉の伸長展開は劣っていた。植物体内に取り込まれ蓄積された各種イオンは、栽培液中のNaCl濃度上昇とともに Na^+ イオンおよび Cl^- イオンの吸収が増加し植物体内への蓄積濃度も増加した。栽培液中のイオン組成の変化は、特にF-20区、F-50区においては K^+ 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} の各イオンが減少していた。葉内のNa/K比は、栽培液中のNaCl濃度上昇とともにその値も大きくなりF-100区では17.48であった。ヤエヤマオヒルギの葉内および根内に分布した主な有機酸としてシュウ酸とリンゴ酸が認められこれら有機酸類は、過剰カチオンと塩を形成して浸透圧調節を行なっていることが推察された。マングローブ林再生のためヤエヤマヒルギの幼苗生産を効率的に行なうには、約0.6%~1.5%NaClの塩分環境下において初期栽培後に移植することによりヤエヤマヒルギ分布域のマングローブ林の再生が順調に行なうことが可能であることが推察される。

9120 耐塩生植物の耐塩性機構について

加藤 茂(東京農業大学)

1 まえがき

塩生植物の一種であるマングローブは、熱帯・亜熱帯の沿岸および海水の出入する感潮河川域に分布している。これらマングローブ植物の世界的な分布については、H. Barthにより詳しく報告されている¹⁾。日本においては、南西諸島西表島を中心に僅かに6種ではあるが約400haの面積に分布生育している。しかし、その生育分布面積は、世界的に減少傾向にありマングローブ林保護の施策が望まれている。多くのマングローブ植物の特徴は、高塩濃度（塩濃度約3%~4%）の環境下においても良い生育をすることである。特にマングローブ植物のなかでRhizophoraceae（ヒルギ科）に分類されている種は、樹上において発根し担根体（Rhizophore）と言われる散布体（種子）を十分に伸長成熟させ親樹下に落下しそのまま根付くものや流水に乗って他に移動する散布体もあるが、定着すれば速やかに発根を行なうことが可能な特殊な種子Viviparous（胎生種子）を形成してその分布域の拡張と世代交代を行なっている。東南アジアのマングローブ繁茂地域では、住民のエネルギー源としての薪炭用あるいは相次ぐ地域開発（魚、エビの養殖場、住宅地等）による伐採によってマングローブ林域の減少がかなり速いスピードで進んでおり、環境保全あるいはエネルギー資源獲得のためマングローブ林再生の施策が振興し始めている。塩生植物の植物生態学的また植物地理学的な調査は行われているが耐塩性の機構については十分には行われていない。

本報告は、ヤエヤマヒルギ（和名）の胎生種子を用い各種塩濃度環境を設定しそれらの条件における生育とマングローブ稚苗生産の可能性および各種イオンの吸収・生育と（塩）NaClの関係について検討を行なった。また、根細胞膜のモデルを用いて各種イオンの移行についても併せて検討を試みたものである。

2. 試料および方法

2.1 供試マングローブ種子と栽培方法

供試マングローブ種子は、*Rhizophora stylosa*（和名：ヤエヤマヒルギ）を沖縄県西表島において採集し供試した。ヤエヤマヒルギ胎生種子は、1/2000a ワグネルポットを用い砂耕法によりたえず通気をおこないながら人工環境調節下に栽培を行なった。栽培条件は、人工光グロースキャビネット（小糸製作所製）を使用し昼間30℃、夜間25℃、12時間照明、相対湿度50-70%に調節した。基礎栽培液として大塚液肥（大塚化学社製）No.1と No.2 を指定濃度に調整した溶液をF-0 区と設定し、そのイオン組成について表-1 に示す。その他の栽培区として表-2 に示すように D.W., F-20 (0.6%NaCl), F-50 (1.5%NaCl), F-80 (2.4%NaCl), F-100 (3.0%NaCl) をそれぞれ設定した。4.5 か月の栽培期間中2週間ごとにそれぞれの胎生種子（各栽培区、10 個体）の節間数と節間伸長を計測した。また、最終週に取り換えた栽培液についてそのイオン組成分析を行なった。

2.2 分析試料の調整

4.5 か月栽培後の各植物体は、特に根を傷めないように注意しながら植物体を丁寧に蒸留水で洗浄した。葉（健全生育葉）と根の2部分について精秤後、蒸留水とともにホモジナイズした。このホモジナイズ調整液について各種無機イオンおよび有機酸の分析を行なった。

2.2.1 各種無機イオンの分析

各種無機イオンの分析には、ShimadzuイオンクロマトグラフHIC-6A型（島津製作所製）を用いた。1 価陽イオン(Na^+ , NH_4^+ , K^+) の分析には、5mM- HNO_3 （電気伝導度約2500 μScm^{-1} ）を移動相として使用した。分析用カラムとして、Shimpack IC-C1を用いた。2 価陽イオン(Mg^{++} , Ca^{++}) 分析には、移動相として 4mM-酒石酸と2mM-エチレンジアミン溶液（電気伝導度約800 μScm^{-1} ）を使用した。分析用カラムには、Shimpack IC-C1を用いた。陰イオン(F^- , Cl^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , NO_3^- , Br^- , SO_4^{2-})の分析には、移動相として1mM p-Hydroxybenzoic acid と1.1 mM Diethylethanolamine溶液（電気伝導度約130 μScm^{-1} ）を用いた。分析用カラムとして、Shimpack IC-A1を用いた。

これらの移動相の調整および試料調整には、Milli-Q Water Reagent System(日本ミリポア・リミテッド社製)で精製した水を更に脱気処理を行ない使用した。

2.2.2 有機酸の分析

有機酸の分析は、試料調整液の一定量を真空凍結乾燥処理を行ない、無水硫酸ナトリウム 1 g、濃硫酸 2 ml、n-ブチルアルコール 10 mlを加え 2時間加熱還流を行なった。反応液は室温まで冷却後 n-ヘキサンにより n-ブチルエステル誘導体を抽出し、この n-ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水乾燥後一定量に濃縮しガスクロマトグラフィー(GC)により定量分析を行なった。GC分析は、Shimadzu GC-7AG 型(島津製作所製)を使用した。標品としてはシュウ酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸のブチルエステル誘導体を用いた。分析条件は、以下のとおりである。

GC分析条件： ガラスカラム 3 mm I.D. x 1 m length；カラム充填剤, Reoplex 400, Chromosorb W (AW-DMCS, 60-80 mesh)；カラム温度、40-200℃ (40℃, 8 分間保持、6 °C/min. で昇温)；注入口温度, 240 °C、キャリアーガス, N₂, 40ml/min., 検出器, FID(水素炎イオン化検出器)。

3 結果

3.1 ヤエヤマヒルギの生育と塩濃度

植物生育の測定法として、節間数と節間伸長を定期的に計測した。節間数と節間伸長について、表-3に示す。栽培後のD.W.区での平均節間数は、1.3であり、また平均節間伸長も栽培4.5カ月の期間にも僅か13mmと殆ど伸長生長が見られなかった。F-20区とF-50区の生育が良く、特に節間数と節間伸長ともにF-50区が良好で平均節間数4.4、平均節間伸長95mmと最も良い結果であった。なお、F-20区の個体の中にもF-50区の平均節間伸長よりも良い生長を示した個体も見られた。また、この2栽培区の葉は、緑も濃く自然マングローブ林での健全葉と同様なものであった。F-80区、F-100区と高塩濃度になると節間数と節間伸長ともに減少した。葉面積も併せて減少した。一方、葉の厚さは、僅かではあるがその厚さを増した。D.W.区の根は、殆どが主根のみで養分吸収根である根毛は見られなかった。F-20区とF-50区の根の発達、特に養

分吸収根である根毛の形成が顕著であり次いでF-0 区、F-80区であった。メヒルギ、オヒルギの同条件の栽培では、F-20区 (0.6%NaCl) において多数の根毛が形成され良好な生育が認められたがこのヤエヤマヒルギではF-50区の条件 (1.5%NaCl) が最も多くの根毛を形成し良い生育結果を示した。

3.2 各種塩濃度栽培後の植物体内の無機イオン濃度

各種塩濃度下栽培でのヤエヤマヒルギがどのようなイオンを取り込み生育に利用しているかを検討するために葉内と根内の無機イオンの組成について分析を行った。栽培4.5 カ月後の葉内と根内の無機イオンの組成とその濃度についての分析結果は、図-1と2に示す。組織内に分布したカチオン類の中では、 Na^+ イオンが主カチオンであり次いで K^+ イオンであった。メヒルギ、オヒルギ栽培試験の結果からは認められなかった NH_4^+ イオン濃度が葉内と根内に栽培液中の塩濃度上昇とともにその濃度も上昇し分布していた。アニオン類の中では、 Cl^- イオンが主アニオンであり次いで SO_4^{2-} イオンであった。

葉内 Na^+ イオン濃度は、栽培液中のNaCl濃度上昇とともにその葉内濃度も上昇した。F-20区で26meq、F-100 区では52.34meqであった。 K^+ イオン濃度は、F-0 区で18meqと最も高い値を示した。良好な生育結果を示したF-20区及びF-50区では、それぞれ10 meq と5.64meq であった。葉内のNa/K比は、F-0 区で0.34、F-50区で6.48、F-100 では17.48 へと栽培液中のNaCl濃度上昇とともにそのNa/K比も上昇した。Mg及びCaの2価カチオンは、F-20区でそれぞれ3.91meq, 2.87meq の濃度であった。F-50区からF-100 区でのそれらの葉内濃度は徐々にではあるが上昇した。葉内に分布した主アニオンは、 Cl^- イオンであり栽培液中のNaCl濃度上昇と共にその値も上昇しF-100 区では44.01meqを示した。

根内の Na^+ イオン濃度は、F-0 区で最も低濃度である5.35meq を示した。栽培液中のNaCl濃度上昇と共にその根内濃度も上昇しF-100 区で78.30meqと上昇した。根内の K^+ イオン濃度は、F-0 区で8.97meq と高い濃度を示したがその他の栽培区では約4meqの分布濃度であった。Mg²⁺イオンとCa²⁺イオンは、D.W. 区がともに最高濃度を示しそれぞれ3.21meq と2.57meq であった。根内のNa/K比は、F-0 区が最も低い値0.60を示

した。栽培液中のNaCl濃度上昇と共にその値も上昇しF-100区では、18.00の値を示した。根内に分布した主アニオンであるCl⁻イオンは、F-20区からF-100区では約35 meq から63 meq の高い濃度分布であった。

3.3 各種塩濃度下栽培後の植物体の有機酸について

塩生植物の多くは植物体内に過剰吸収した無機カチオン類に対して細胞内の浸透圧と膨圧を一定に調節し細胞の正常な生理機能を維持するためにこれら過剰無機カチオン類と塩を形成し中和するために有機酸等の生合成を促進している。²⁾ 各種塩濃度環境下において4.5 か月間栽培後のヤエヤマヒルギの葉および根内の有機酸類について分析を行ない無機カチオンとの関係について検討した。

ヤエヤマヒルギ葉中および根中の有機酸分析の結果を図-3と4に示す。自然環境下で生育した数種マングローブについては既に報告しているが、^{3, 4)} ヤエヤマヒルギ各種塩濃度栽培結果においても分布した主な有機酸類としてはシュウ酸およびリンゴ酸であった。葉内の有機酸は、低塩濃度栽培区におけるこれら2種の有機酸は、高い濃度区に比較し分布は低濃度を示したが、栽培液中のNaCl濃度上昇と共にそれらの濃度は徐々に上昇した。リンゴ酸は、F-100区において7.46 meq、シュウ酸は8.76 meq と高い値を示した。

根中の有機酸類は、葉内の有機酸類と同様にシュウ酸とリンゴ酸が他の有機酸類に比較して高い濃度での分布が認められた。シュウ酸、リンゴ酸ともに栽培液中のNaCl濃度上昇とともにその濃度は上昇した。F-100区では、シュウ酸7.22 meq、リンゴ酸7.46 meq の濃度であった。

4 考察

4.1 塩濃度とヤエヤマヒルギの生育

ヤエヤマヒルギ、4.5 か月間の人工環境栽培の下における栽培の結果、このヤエヤマヒルギの初期生育はF-20 (0.6%NaCl) 区F-50 (1.5%NaCl) 区の条件で最も生育が良好で緑も濃く葉の面積も大きなものであった。自然マングローブ林域においては上流からの淡水が常に流入しマングローブ植物が分布している地域の塩分濃度分布は、淡水か

ら汽水塩分濃度（海水塩分である約3%NaClまでの濃度範囲）まで希釈された濃度範囲である。本研究においては各区の塩分濃度を一定とし、潮の干満差による濃度変化の条件を設定はしなかったとはいえ本実験でF-20区からF-50区における群の生育が良好であったことは自然条件の下でヤエヤマヒルギが生育分布している河川の下流から中流域にかけて分布している地域の条件に近似していることが推察される。栽培後の栽培液のイオン組成から推察すると植物の生育に必要なN, P, K の各イオンに相当する K^+ イオン、 NH_4^+ イオン、 PO_4^{3-} イオン、 NO_3^- イオンの濃度は生育の良好であったF-20区とF-50区が減少し、栽培液中のNaCl濃度上昇とともにそれらのイオンの減少は漸減していたことからヤエヤマヒルギが生育のために吸収利用したことが推察される。 Na^+ イオン、 Cl^- イオンともに他のイオンに比較すると栽培液からの高濃度の減少が認められたことは、生育に必要な必須要素である K^+ イオン等を根から吸収する際には優先的に生育に必要な K^+ イオンを吸収するものと推察されるが Na^+ イオンがより容易に根の細胞膜を通過し植物体内へ移行しているものと思われる。ヤエヤマヒルギの自然マングローブ林での分布域は、潮の干満の直接影響するマングローブ林の先端域から河川中流域まで分布している状況は沖縄県西表島仲間川、浦内川で認められその分布域は広いことから本研究で設定したF-20区(0.6%NaCl)とF-50(1.5%NaCl)区で良い生育を示したものと思われる。さらに、栽培液のレベルを実際の潮の干満リズムと同様に調節した条件で栽培を行なうとさらに地下環境中（土壌域の）の溶酸素濃度が高まり更に自然環境に近い条件となることから生育についての良好な生育量と最適塩分濃度の関係が明確に判明するものと思われる。

4.2 塩濃度とヤエヤマヒルギ植物体内のイオン組成

高塩濃度（特にNaCl）の環境下において生育する塩生植物の生理機構について研究が進められている。自然マングローブ林においてヤエヤマヒルギは、マングローブ林の先端域から河川中流域に分布していることが東南アジアや南太平洋地域のマングローブ林で見られる。ヤエヤマヒルギの根細胞膜を通過し植物体内に吸収され葉内に移送された主なカチオンは、 Na^+ イオンであった。ヤエヤマヒルギは、その生育環境から根から植物体内に入ってしまった各種イオンは容易に茎内をへて葉内へ輸送され蓄

積されるものと思われる。高塩濃度環境（平均海水塩濃度）の栽培においても K^+ イオンの吸収が行なわれていたが、このカリウムの植物に対する重要な生理作用のなかには、デンプンの生合成、気孔の開閉、酸化的リン酸化、タンパク代謝、細胞内pHおよび浸透圧調節に関係し植物の生育のうえで必須であるがナトリウムについての植物体内での生理作用について検討されているが明らかにはされていない。マングローブ植物は、 C_3 植物に分類されておりこれら C_3 植物の生育には C_4 植物に比較して生育のために2倍以上の水を必要としていることから栽培環境中の各種イオンが低濃度で存在していても蒸散が活発であることから根からの水の吸収が盛んに行なわれ溶けている各種イオンは葉内に送られ水は植物体外へ逸散し失われるが各種イオンはそのまま植物体に留まり蓄積され植物の生育に利用されるものと思われる。

各種イオンの根内の濃度が高いことは、根の細胞膜を各種イオンが容易に通過し根内に蓄積されているのか又は一度吸収し植物体内へ入った各種イオンを葉内に移送後、再びエネルギーを用いて各種イオンを根内へ移送させ蓄積しているか否かについては今後の検討が必要である。植物体内に吸収されたカチオンに対する対イオンとしては無機アニオンである Cl^- イオンが最も有力である。この吸収された Cl^- イオンの植物体における生理作用としては、光合成過程において酸素発生に関与、また微量元素であるMnとともに光化学系の水の開裂に関係していることが報告されている。^{5, 6)} 植物体内へ吸収された無機アニオン (NO_3^- イオン、 PO_4^{3-} イオン、 SO_4^{2-} イオン) 類は、植物体の構成成分として変換利用されることから細胞内のpHおよび浸透圧、細胞の膨圧を調節するには、吸収された無機アニオンだけでは吸収した全カチオンに対して等しいモル数にならない。多くの塩生植物は、高塩濃度環境下で生育すると有機酸類の合成を促進して過剰カチオンと塩を形成し有害性（生理支障の少ない）の低い形に変化（化学的不活性化）させることにより障害をできうるかぎり取り除き生育を可能にしている。ヤエヤマヒルギ栽培の結果、葉内および根内の有機酸とくにシュウ酸とリンゴ酸の濃度は栽培液中の塩濃度が増加するとともにこれら2種の有機酸の濃度は上昇し過剰カチオンと塩を形成していることが推察される。塩生植物は高塩濃度環境下で生育すると有機酸類のほかに植物種にもよるが浸透圧調節物質としてアミノ酸の一種や糖類等が関与していることから本研究で分析した以外の浸透圧調節に関わ

る物質について現在検討を加えている。

要約

マングローブ植物は、熱帯・亜熱帯の海岸線や河口・河川流域の定期的に海水或は汽水の流入する地域に分布し生育している植物群である。マングローブ林の構成樹種の一つであるヤエヤマヒルギは、マングローブ林が直接海水の影響を受ける林先端域から河川中流域までの広い範囲に分布が見られるマングローブの一つである。ヤエヤマヒルギ栽培試験の結果、F-20 (0.6%NaCl) 区とF-50 (1.5%NaCl) 区における生育が良好であった。平均的な海水塩分濃度である3%NaClのF-100 区での生育状況は、主根の形成は良好であるが根毛の形成は劣っていた。この区の葉の伸長展開は劣り、葉面積も小さくその葉厚も増していた。ヤエヤマヒルギ栽培液中のNaCl濃度上昇とともにNa⁺ イオンおよびCl⁻ イオンの植物体への吸収が増加し植物体内蓄積濃度も増加した。ヤエヤマヒルギの葉内および根内に分布した主な有機酸としてシュウ酸とリンゴ酸であった。これら有機酸類は、過剰カチオンと塩を形成して浸透圧調節を行なっていることが推察された。ヤエヤマヒルギの幼苗生産を行なうには、約0.6%~1.5%NaCl の塩分環境下において初期栽培を行ない、実際の分布域へ移植することによりヤエヤマヒルギ分布域のマングローブ林の再生が順調に行なうことが可能であることが推察される。

Table 1 Ion components and concentrations in standard culture solution

Ion	Concentration (ppm)
Na	0
NH ₄	33
K	210
Mg	50
Ca	170
Cl	10
PO ₄	45
NO ₃	640
SO ₄	210

Table 2 NaCl concnentraion in culture solution

Condition	Fertilizer*	NaCl%	NaCl ratio
D.W.**	-	0	0
F-0	+	0	0
F-20	+	0.6	× 1.0
F-50	+	1.5	× 2.5
F-80	+	2.4	× 4.0
F-100	+	3.0	× 5.0

* : Ohtsuka liquid fertilizer No.1 + No.2 (1 : 1).

** : De-ionized water.

Table 3 Internode number and internode length of Rhizophora stylosa seedlings (Yaeyamahirugi) by various culture condition

Month	Condition					
	D.W.	F-0	F-20	F-50	F-80	F-100
0.5	0	0	0	0	0	0
2.5	11 (11mm)*	18 (64mm)	21 (67mm)	21 (55mm)	19 (53mm)	13 (21mm)
4.5	13 (13mm)	33 (83mm)	39 (86mm)	44 (95mm)	35 (64mm)	19 (45mm)

(Internode number:ten seedlings). *:Average of 10 Internode length.

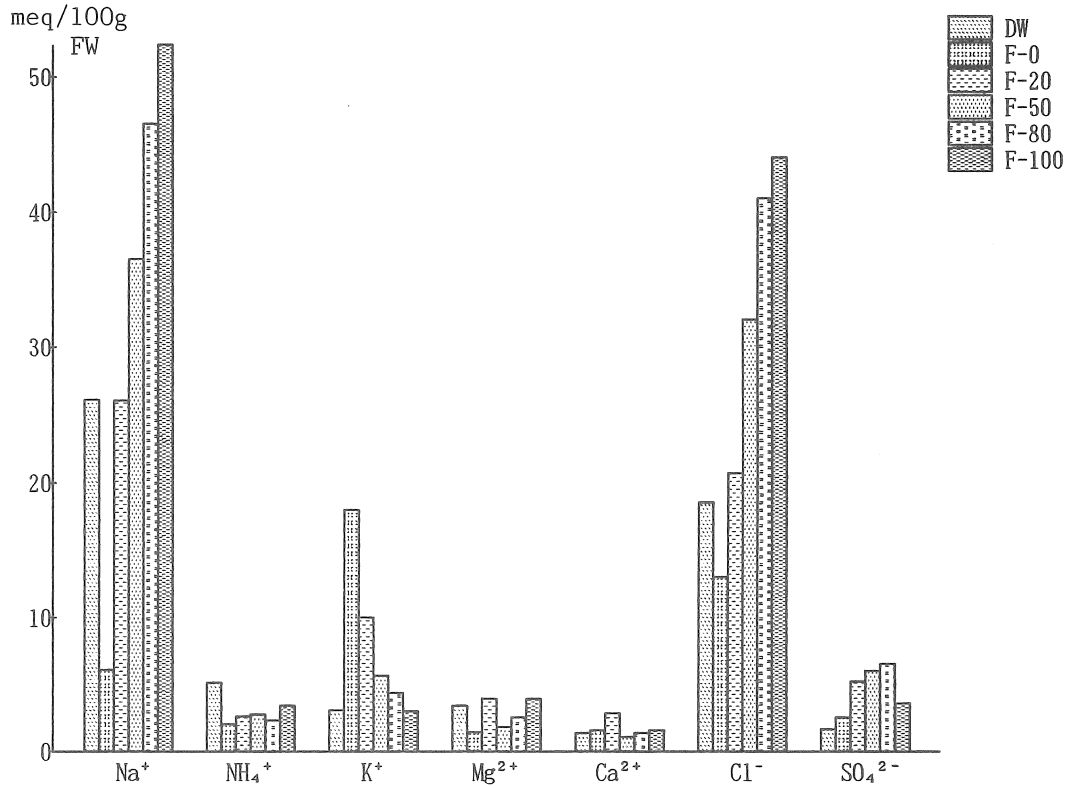


Fig. 1 Ion concentration in Rhizophora stylosa leaf.

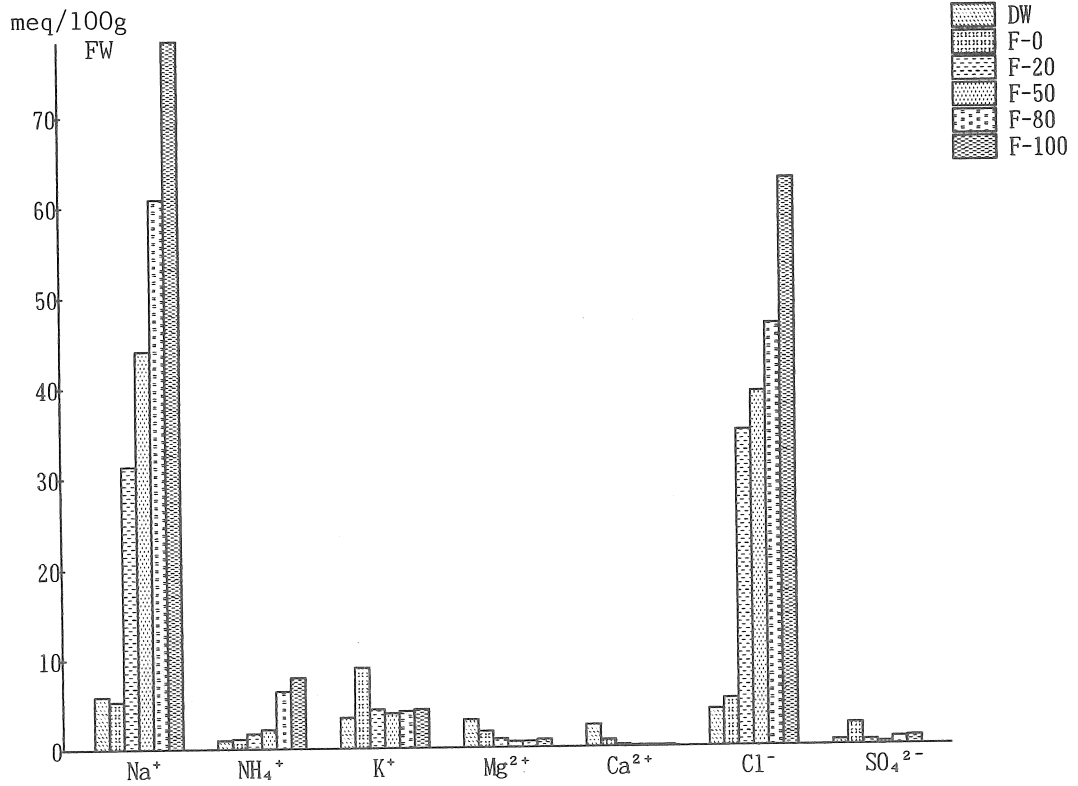


Fig. 2 Ion concentration in Rhizophora stylosa root.

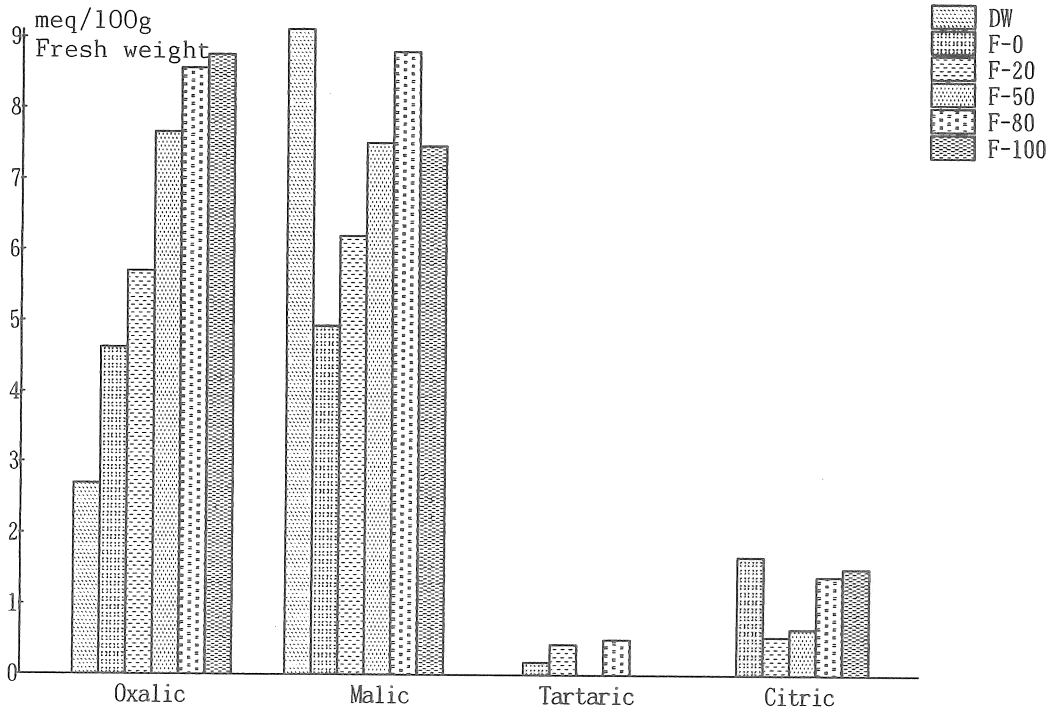


Fig. 3 Organic acid concentration in *Rhizophora stylosa* leaves.

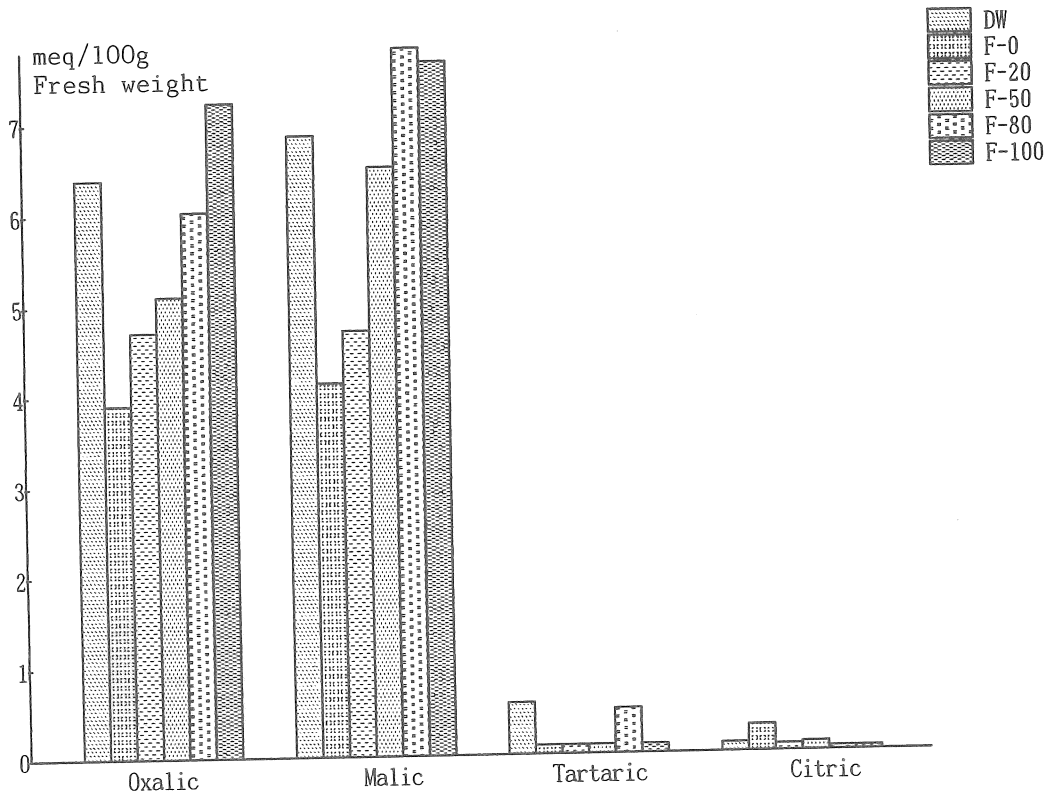


Fig. 4 Organic acid concentration in *Rhizophora stylosa* root.

文献

1. H.Barth, "Contribution to the Ecology of Halophytes " ed. D.N.Sen and K. S.Rajpurohit,p35, Dr.W.Junk Publishers, London (1982)
2. U.Luttge and A.C.Smith "Salinity Tolerance in Plants " ed. R.C.Staples and G.H.Toenniessen, p125,John Wiley and Sons, New York (1984)
- 3.加藤 茂、矢口 行雄、杉 二郎、日本海水学会誌 Vol.40,No.1, p9 (1986)
- 4.加藤 茂、米盛 重友、桧垣 宮都、中村 武久、杉 二郎、日本海水学会誌 Vol.41,No.4, p205(1986)
5. S.Izawa R.L.Heath and G.Hind,Biochem. Biophys. Acta Vol.180,p388,(1969)
6. C.Critchely,ibid.,Vol.811,p33,(1985)

STUDY ON SALT TOLERANCE MECHANISM OF HALOPHYTES

NODAI Research Institute

Tokyo University of Agriculture

Shigeru Kato

Mangrove plants are distributed along coastal areas and estuarine areas of the sub-tropical and tropical world which include Okinawa, Japan. These called halophytes which possess peculiar physiological mechanisms for salt control. Characteristic distribution of mangrove plants is observed as conditioned by tidal regime and salinity. Rhizophora stylosa (Japanese name: Yaeymahirugi) is one of the mangrove species and distributed at strictly affected seawater to mangrove forest. In this study, Rhizophora stylosa was compared under different NaCl conditions of water culture. Inorganic ions and organic acids in leaves and roots parts in each cultured plant samples was analyzed, respectively. This Rhizophora stylosa grew very well at F-20 and F-50 conditions like natural growth in the mangrove forest. Leaf size was large and leaf color also was healthy green. On the other hand, at high salinity condition (F-100, 3%NaCl) leaf size of Rhizophora stylosa small and thick. After culture, ion components of culture solution was analysed. Amount of K^+ , PO_4^{3-} and NO_3^- ions in culture solution were decreased or disappeared by absorption for plant growth. These three elements are also important for mangrove growth. Amount of Na^+ and Cl^- ions in the leaves and roots gradually increased with NaCl concentration increased in culture solution. Na^+ ion concentration in leaf and root of F-100 was 52.34 meq and 78.30 meq, respectively. Further more, leaves gradually increase succulence and finally these leaves will fall down for excess NaCl abandonment from plant body. Highly absorbed cations were detoxicated by organic acids in the plant. Principal organic acids found in the leaves and roots were malic acid and oxalic acid.