

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450192

研究課題名(和文)耐塩性指標の完成に向けた塩ストレスに対する植物の酸素安定同位体比の応答の解明

研究課題名(英文)The response of the stable oxygen isotope composition in desert plants to salt stress

研究代表者

松尾 奈緒子(MATSUO, NAOKO)

三重大学・生物資源学研究科・講師

研究者番号：00423012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は土壌塩類集積により劣化した乾燥地生態系の保全・修復技術を確立するため、葉と水の安定同位体比に基づいた耐塩性指標を構築することを目的とした。中国半乾燥地原産の匍匐性常緑針葉樹を用いた<sup>180</sup>標識実験により、乾燥地植物による塩分高濃度の土壌浅層水の回避や塩分低濃度の露の利用を明らかにした。また、紅海沿岸のマングローブの樹形と葉の炭素・酸素安定同位体比の関係から、高塩分環境では不定根を伸ばし、葉の水利用効率を向上させて葉までの吸水を緩和していることがわかった。乾燥地植物の塩ストレスへの対応である塩回避と耐塩性について安定同位体を用いた評価手法を確立することに成功した。

研究成果の概要(英文)：The salt tolerance of desert plants was assessed by using the stable isotope ratios to restore/conservethe arid ecosystems degraded by the salinization. We conducted the experiments that the <sup>180</sup>-labeled water was supplied to roots or leaves of a prostrate lifeform shrub originated from semiarid areas of China. The results suggested that desert plants could avoid or mitigate the high-salinity water in shallower soil layer and absorb the low-salinity dew on leaf surfaces. We also examined the relation between branch morphology and isotope ratios of leaf organic matter in a mangrove tree growing in per-arid areas on the Red Sea coast and found that the leaves of these trees enhanced intrinsic water-use efficiency in response to decreasing hydraulic conductivity of xylem by elongating branches. Our findings indicate that the stable isotope ratios of leaf organic matter and water are useful to assess the salt tolerance of desert plants.

研究分野：植物生理生態学

キーワード：乾燥地植物 安定同位体比 塩回避 不定根 葉による露吸収 水利用効率 蒸散速度

### 1. 研究開始当初の背景

アジアやアフリカに広がる乾燥地では過剰な土地利用や不適切な水管理などにより、砂漠化や土壌塩類集積が急速に進んでいる。その結果、農地の劣化だけでなく、自然植生の消失や生物種数の減少といった生態系の劣化が顕在化している。さらに、乾燥地生態系の気候変動に対する脆弱性が指摘されており、今後さらに劣化が加速することが予想される。

このように劣化する乾燥地生態系を保全・修復することが国際社会における最重要課題の一つとなっており、その対策として緑化が行われてきた。しかし、乾燥地は水分と養分に乏しいことから成長が速い種や挿し木で容易に定着する種が緑化材料として採用されることが多く、その結果、水・熱収支への深刻な影響、自生種との競争、遺伝的多様性の低下などの新たな問題が生じてしまった。そのため、外来種ではなく自生種を用いた緑化による自然植生の回復が求められるようになった。このような状況を受け、乾燥地、特に土壌塩類集積地における自生植物を用いた緑化技術の確立が急務となっていた。

### 2. 研究の目的

土壌塩類集積地における緑化技術の基礎として求められるのは、緑化対象地の塩類集積レベルに応じた耐塩性を持つ自生種の選択、対象地の水分・塩分環境に配慮した植栽密度や給水管理の方法の確立である。また、乾燥地緑化では植栽植物の成長量と水消費量、そしてこの二つのバランスである水利用効率が重要となる。

乾燥地植物の塩ストレスへの対応はA) 地下水・露・雨季中の浅層土壌水などの塩分濃度の低い水の利用や根によるイオンの選択的吸収などによる塩回避、B) 塩腺・塩毛などの器官による塩排出、C) 水利用効率の向上や浸透圧の調節など塩への耐性の3つに分類できる。耐塩性の高い植物は上記のA)、B)、C)のうち、どれか一つ、あるいはいくつかの組み合わせにより、高塩分/極乾燥条件に適応している。これらのメカニズムは光合成・蒸散速度の測定、根系分布の調査、葉や根の水ポテンシャルの測定、細胞内の浸透圧を調節する適合溶質濃度の測定、葉の細胞構造の観察など生理生態学的手法を用いて定量的に評価されてきた。しかしながら、野外で複数の項目を一度に測定することは難しいため少数の項目だけに注目した研究が大半であり、土壌塩類集積レベルに適した耐塩性を評価できるような方法論の確立には至っていなかった。

そこで本研究課題は、乾燥地植物体内の有機物および水の酸素・炭素安定同位体比と塩ストレスとの関係を解明することで、乾燥地植物の耐塩性の評価指標を構築することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) A-1) 水の酸素安定同位体比に基づく乾燥地植物の主根・不定根による吸水の解明

乾燥地域では、土壌面蒸発によって塩類が地下水とともに土壌表層まで上昇し蓄積するため、土壌浅層で塩類集積が起こる。そのため、浅層土壌水は深層土壌水(地下水を含む)よりも塩分濃度が高い。この塩分濃度の高い浅層土壌水を乾燥地植物がどのように回避あるいは利用しているかを明らかにするため、中国半乾燥地原産の匍匐性常緑針葉樹である臭柏(*Juniperus sabina*)の苗木4個体を用いた乾燥ストレス実験を行った。

*J. sabina*は土壌深層まで伸びた主根と匍匐枝の途中から浅層土壌に広げた不定根を持つという乾燥地植物に多く見られる匍匐性の樹形を有する。無降雨期間が続いた場合、主根は深層土壌水を吸収することができるのに対し、不定根が分布する浅層土壌は極乾燥/高塩分環境となると予想される。この条件を再現するため*J. sabina*の挿し木の主根と不定根を別々のポットに植栽して十分な灌水下で育てた後、主根側のポットには18-0標識水(以下、重水)を灌水し、不定根側のポットには灌水を一定期間停止して強度の乾燥ストレスを与えた(図1)。その後、苗木を解体し、各部位中の水や土壌水を真空蒸留法を用いて抽出し、水の酸素安定同位体比を汎用性ガスベンチ(Gas Bench II, Thermo Fisher Scientific)つき安定同位体比質量分析計(DELTA V, Thermo Fisher Scientific)を用いて測定した。各部位の水に重水が占める割合を算出することで、*J. sabina*の吸水および樹体内の水の動きを推定し、匍匐性乾燥地植物の主根・不定根が吸水/塩回避における機能を考察した。また、HRM 樹液流速計(SFM-1, ICT International)を用いて枝の主根~不定根間と不定根~先端間の樹液流速度と向きを測定した。

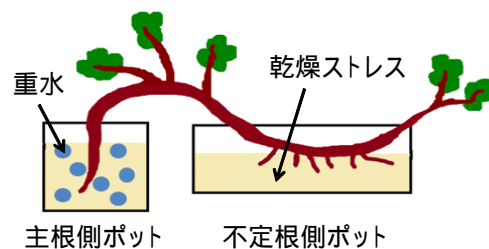


図1 ポット実験の概要

(2) A-2) 水の酸素安定同位体比と重量変化に基づく乾燥地植物の葉による露吸収の解明

乾燥地域では夜中から早朝にかけて温度が低下するため、しばしば葉面上や地表面上で露が発生する。利用可能な水分量が少ない乾燥地植物にとってこの露が重要な吸水源となっている可能性が高い。植物による露の

吸収経路として、葉からの吸収と土壤中に浸透した露の根からの吸収の2経路が考えられる。空気中の水分が凝結したものである露は塩分濃度が低いため、葉からの露吸収は塩回避として有効であると予想される。乾燥地植物が葉から露をどの程度、どのような経路で吸収するかを明らかにするため、(1)と同じく中国半乾燥地原産の常緑針葉樹である臭柏 (*Juniperus sabina*) の鱗片葉を用いた吸水実験を行った。*J. sabina* の生枝もしくは切り枝に乾燥処理、暗処理、袋かけ処理を行い、さらに葉の採取時刻を夜明け前、午前中、午後と変化させることによって15通りの気孔開度と水ポテンシャルの組み合わせを持つ葉を用意した。それぞれの条件の枝から鱗片葉を20枚ずつ採取し、切り口をエポキシ樹脂で密封した後、10枚は葉の表裏に霧吹きで蒸留水を噴霧し(以下、噴霧) 残りの10枚は葉全体を蒸留水に沈めた(以下、沈水)(図2)。この吸水前後の重量変化から葉の乾燥重量あたりの吸水量を算出し、吸水源としての露の寄与を推定した。また、吸水量と水の与え方、葉の水ポテンシャル、気孔の開閉との関係を調べ、吸水経路とメカニズムを考察した。

また、(2)の予備実験として温帯性広葉樹を用いて上述の方法で18-0標識をしていない蒸留水または18-0標識水(重水)を与え、(1)で記した方法で葉内水の酸素安定同位体比を測定し、葉内水に占める重水の割合を算出して吸水源として露の寄与を推定した。

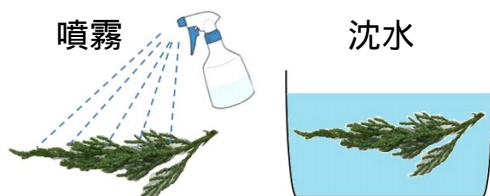


図2 葉の吸水実験の概要

(3)C)葉の炭素・酸素安定同位体比に基づく乾燥地植物の葉の水利用効率調節による耐塩性向上の解明

葉有機物の炭素・酸素安定同位体比はそれぞれその葉の内的水利用効率(光合成速度と気孔コンダクタンスの比)と気孔コンダクタンスと関係がある。多くの植物では、乾燥ストレスもしくは塩ストレスを受けると気孔閉鎖により蒸散量を抑制する一方で、葉の内的水利用効率を上昇させることが知られている。したがって、葉の炭素・酸素安定同位体比は耐塩性の指標として有効であると考えられる。研究代表者の先行研究により、中央アジアのキジルクム砂漠に生育する灌木であるタマリスク (*Tamarix hispida*) において生育場所の土壤塩分濃度と葉の炭素・酸素安定同位体比の関係が示され、これらの値が耐塩性の指標として有効であると考えら

れた。さらに、紅海沿岸の乾燥地域に生育するヒルギダマシ (*Avicennia marina*) の葉を用いて検証を行った。アフリカ大陸とアラビア半島の紅海沿岸域は降水量が少なく、陸からの淡水供給も極めて少ないため塩分濃度が高い。こうした地域に分布する *A. marina* は樹高が低く、匍匐枝と不定根を持つ個体が多い。こうした枝の形態が葉の耐塩性と関連しているのかを明らかにするため、エジプトおよびスーダンの紅海沿岸域の *A. marina* 純林で採取された葉の炭素・酸素安定同位体比を燃焼式元素分析計 (Flash 2000, Thermo Fisher Scientific) つき安定同位体比質量分析計 (DELTA V, Thermo Fisher Scientific) を用いて測定した。これらの値と葉のついていた枝の主幹を起点とした長さ(L)、不定根を起点とした長さ(Lr)、高さ(H)との関係を調べた(図3)。

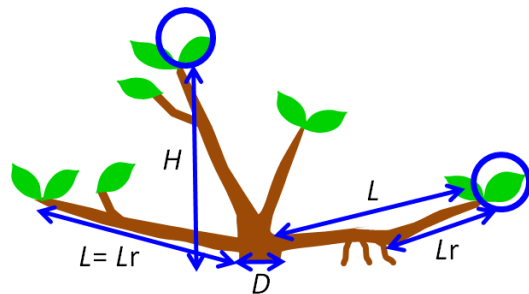


図3 測定した樹形のパラメータ

#### 4. 研究成果

(1) A-1)水の酸素安定同位体比に基づく乾燥地植物の主根・不定根による吸水の解明

*J. sabina* の挿し木苗の主根ポットには重水を灌水し、不定根ポットの灌水を止めて乾燥ストレスを与えた後、樹体内の水や土壤水の酸素安定同位体比の分布を測定した結果、4個体のうち3個体において匍匐枝基部と先端の枝内の水、不定根内の水、不定根側の土壤水の酸素安定同位体比が重水の影響を受けていた(図4)。

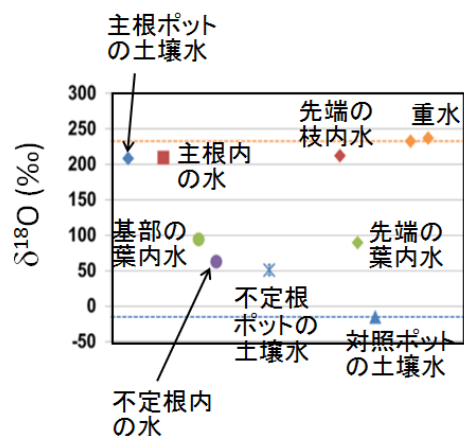


図4 *J. sabina* の各部位と主根側・不定根側ポットの土壤水の酸素安定同位体比 ( $\delta^{18}\text{O}$ )

これらから、土壌浅層の乾燥により不定根から吸水できない場合でも主根からの吸水によって匍匐枝先端まで水が供給されること、主根から吸収した水が不定根を介して乾燥した土壌浅層へと輸送されていることが示され、乾燥地によく見られる匍匐性植物の主根と不定根の吸水における役割が明らかにされた。また、これまで樹液流速観測から示唆されていた湿潤な土壌深層と乾燥した土壌浅層間で主根・不定根を介した水の再分配が起きていることを確認することができた。この水の再分配は土壌浅層の塩分濃度を低下させるため、塩回避に効果がある可能性が示唆された。

(2) A-2) 水の酸素安定同位体比と重量変化に基づく乾燥地植物の葉による露吸収の解明

*J. sabina* の鱗片葉に吸水させた前後の重量変化からは葉の乾燥重量あたりの吸水量を算出した結果、様々な水ポテンシャルと気孔開度の葉において吸水量は正の値であった(図5)。いずれの条件でも、噴霧よりも沈水させた葉において吸水量が多かった(図5)。葉表面に残る水の重さは噴霧と沈水の間で有意差がなかったことから(図示せず)、水への接触面積が大きいほど吸水量が多いことが示唆された。

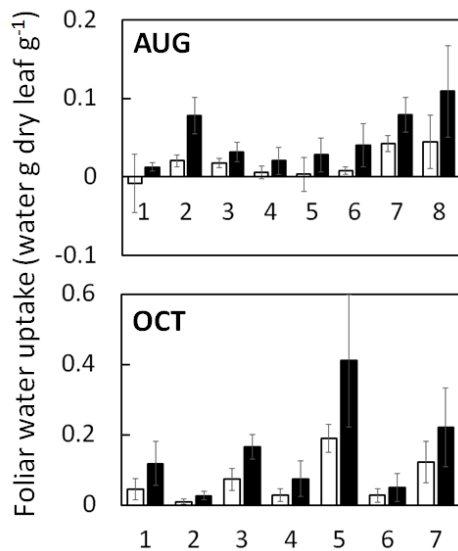


図5 葉による吸水量。横軸の数字は実験番号、白棒は噴霧、黒棒は沈水による 10 枚の平均値、エラーバーは標準偏差を表す。

葉採取時の水ポテンシャルと吸水量の間には有意な関係はなかったことから(図6)、葉による吸水の駆動力が葉内外のポテンシャル勾配ではないことが示唆された。吸水中は暗処理や葉の濡れにより、気孔が閉じていた可能性があるが、葉採取時の気孔の開閉が吸水量に影響しなかったことから(図6)、気孔開口部以外から吸水できることが示唆

された。以上より、*J. sabina* は気孔を閉じている夜明け前に葉面上の露を吸収できることが示された。この乾燥地植物の葉による露吸収は塩回避に有効なメカニズムのひとつであると考えられる。

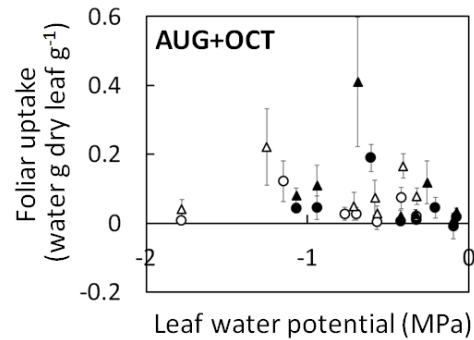


図6 吸水前の葉の水ポテンシャルと吸水量。各マークとエラーバーは 10 枚の平均値と標準偏差を表す。△は噴霧 + 気孔開、○は沈水 + 気孔開、▲は噴霧 + 気孔閉、●は沈水 + 気孔閉。

(3) C) 葉の炭素・酸素安定同位体比に基づく乾燥地植物の葉の水利用効率調節による耐塩性向上の解明

エジプト紅海沿岸で採取された *A. marina* の枝先端の葉の炭素安定同位体比と樹形パラメータ(図3)の関係性を調べた結果、葉の炭素安定同位体比はその葉の高さ(H)とは関係がなかったが、主幹からその葉までの枝の長さ(L)と関係があった(図7)。さらに、葉の炭素安定同位体比は主幹を起点とした枝の長さ(L)よりも不定根を起点とした枝の長さ(L<sub>r</sub>)との間により強い相関があった(図7)。

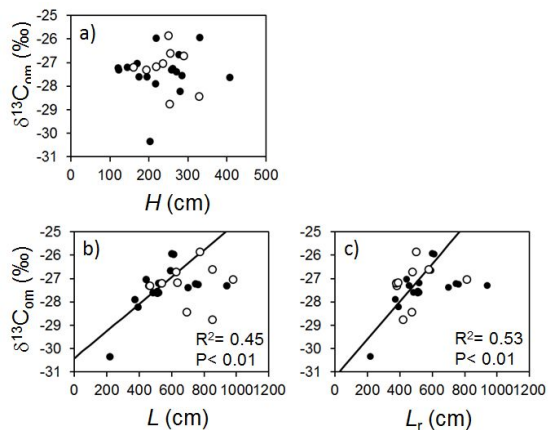


図7 葉の高さ(H)、主幹を起点とした枝の長さ(L)、不定根を起点とした枝の長さ(L<sub>r</sub>)と葉の炭素安定同位体比(δ<sup>13</sup>C<sub>om</sub>)の関係

このことから、高塩分環境では不定根の存在が葉までの水輸送距離を緩和すること、水輸送距離の増加にともなう通水性の低下に

葉の水利用効率を向上させることで対応していることが示唆された。以上より、乾燥地植物の塩ストレスへの対応である塩回避と耐塩性について安定同位体を用いた評価手法を確立することに成功した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

Matsuo N, Banjo R, Teraminami T, Afefe A, El-Shaffai A, Nakashima A, Nawata H, Yoshikawa K (2016) Branch morphology of a mangrove (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh) growing in a per-arid area on the Egyptian Red Sea coast regulates water use of its leaves. *Journal of Arid Land Studies* 26: 91-94, 査読有

Miki NH, Kubori F, Yang L, Matsuo N, Zhang G, Wang L, Yoshikawa K (2016) Effective water use and growth of a prostrate lifeform shrub, *Juniperus sabina*, in semiarid areas of China. *Journal of Arid Land Studies* 26: 95-99, 査読有

Maimaiti1 A, Iwanaga F, Taniguchi T, Hara N, Matsuo N, Mori N, Yunus Q, Yamanaka N (2016) Inorganic and organic osmolytes accumulation in five halophytes growing in saline habitats around Aiding Lake area in Turpan Basin, northwest China. *Arid Land Research and Management* 30: 421-431, 査読有

Imada S, Matsuo N, Acharya K, Yamanaka N (2015) Effects of salinity on fine root distribution and whole plant biomass of *Tamarix ramosissima* cuttings. *Journal of Arid Environments* 114: 84-90, 査読有

Saito T, Tsukumo M, Elbasit MAMA, Yasuda H, Kawai T, Matsuo N, Inosako K, Acharya K, Babiker AE, Hamd AA, Nawata H (2014) Estimation of water sources of invasive tree species in arid environments by oxygen stable isotope analysis. *Journal of Arid Land Studies* 24: 29-32, 査読有

Yang L, Miki NH, Matsuo N, Zhang G, Wang L, Yoshikawa K (2014) Contribution of adventitious roots to water use strategy of *Juniperus sabina* in semiarid area of China. *Journal of Agricultural Science and Technology* A4: 251-259, 査読有

〔学会発表〕(計7件)

松尾奈緒子・磯部知世・佐藤佳奈子・三木直子、中国半乾燥地の常緑針葉樹 (*Juniperus sabina*) の葉からの吸水メ

カニズム、第63回日本生態学会大会、2016.03.24、仙台国際センター(宮城県・仙台市) ポスター発表。

大石有美・松尾奈緒子・矢野翠・木庭啓介・勝山正則・小杉賢一朗・山本浩之・鶴田健二・小杉緑子・山中典和、新しい安定同位体分析を用いた乾燥地植物の水・窒素吸収源の把握、鳥取大学乾燥地研究センター共同研究発表会、2015.12.04、鳥取大学乾燥地研究センター(鳥取県・鳥取市) ポスター発表。

Matsuo M, Banjo R, Teraminami T, Afefe A, El-Shaffai A, Nakashima A, Nawata H, Yoshikawa K, Branch morphology of a mangrove (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh) growing in a per-arid area on the Egyptian Red Sea coast regulates water use of its leaves, The 12th International Conference of Desert Technology, 2015.11.18、カイロ(エジプト) 口頭発表。

青木万実・松尾奈緒子・佐藤佳奈子・楊靈麗・三木直子、乾燥ストレス下の匍匐性樹木の樹体と土壌間の水動態が水同位体分布に及ぼす影響、日本生態学会、2015.3.19、鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市) ポスター発表

高山友香・松尾奈緒子、水安定同位体比を用いた葉の露吸収経路の解明、日本生態学会、2015.3.19、鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市) ポスター発表

松尾奈緒子、乾燥・高塩分環境に生きる植物の水利用戦略、シンポジウム：乾燥地における樹木・森林の生理生態、2014.12.13、岡山大学(岡山県・岡山市) 口頭発表

松尾奈緒子、安定同位体比から見る生態系～地域スケールの水循環、水環境学会中部支部会、2014.10.3、三重県教育文化会館(三重県・津市) 口頭発表

〔図書〕(計1件)

松尾奈緒子・中島敦司(2014) 乾燥・高塩分環境に生きる植物たちの水利用戦略、国立科学博物館叢書：砂漠誌(篠田謙一・縄田浩志編)、東海大学出版部、454 (pp.147-155)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

松尾 奈緒子 (MATSUO, Naoko)

三重大学・生物資源学研究所・講師

研究者番号：00423012