

科学研究費助成事業(科学研究費補助金)研究成果報告書

平成 24 年 6 月 6 日現在

機関番号：11201
 研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21580074
 研究課題名(和文) 高塩類アルカリ条件下におけるイネ科植物の環境耐性
 研究課題名(英文) Tolerance for the environment of gramineous plants under high saline and alkaline conditions.
 研究代表者
 河合 成直 (KAWAI SHIGENAO)
 岩手大学・農学部・教授
 研究者番号：80161264

研究成果の概要：中国東北部に存在する Na 型アルカリ土壌の地帯の草原回復を目的として、その土壌の化学性とそこで生育するイネ科植物シオチガヤの耐性機構を検討した。その結果、その土壌は pH が 10 前後と高く、電気伝導度 (EC) も高いことが分かった。その土からは多量の鉄やアルミニウムが水により溶出することが示された。シオチガヤは高 EC に対する耐性が強く、また、Na よりむしろ炭酸水素イオンへの耐性が重要であることが示された。さらに、その根に高いムギネ酸分泌能を有していることが示された。

研究成果の概要：In order to recover the growth of the pasture in the sodic alkaline soil of North-eastern district of China, the chemical characteristics of the soil and tolerance of the gramineous plants growing there were investigated. The result showed that the soil had high pH around 10 and electron conductivity (EC). It was shown that much amount of Fe and Al was eluted by water. It was shown that the tolerance to high EC, especially to bicarbonate rather than sodium ion is more prerequisite in the tolerant plant. Furthermore, it was shown that the plant had higher activity to release phytosiderophore in its roots.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：農学

科研費の分野・細目：環境農学

キーワード：Na 型アルカリ土壌、イネ科植物、ムギネ酸、塩類耐性、砂漠化、シオチガヤ、pH、EC

1. 研究開始当初の背景

世界の土地の約 40%が乾燥地であり、そこで 20 億人以上の人が生活している。現在、世界の農地は 13 億 ha であるが、乾燥地においては、一般に土地の塩類化とそれに伴うアルカリ化が砂漠化が起こるが、そこに過度の耕作、牧畜が拍車をかけており、現在、その面積は拡大している。また、世界の陸地の 30%がアルカリ土壌であるといわれる。このアルカリ土壌もその土壌成分により、Ca 型と Na 型のアルカリ土壌に分けられる。また、Na

型塩類土壌は、主に NaCl 集積土壌と NaHNO₃ が集積したソーダ質 (Na 型) 土壌に分けられる。

近年、砂漠化が進む土壌は Na 型アルカリ土壌であり、中国東北部の砂漠地帯の土壌は pH が 10 である。また、同じ Na 過剰のアルカリ条件での水耕条件において、Na⁺の随伴イオンが塩素イオン (Cl⁻) と重炭酸イオン (HCO₃⁻) では、その害作用の激しさが異なる。この HCO₃⁻は、Na 型アルカリ土壌に多量に存在するが、その害作用の植物生理的機

構については、あまり知見がない。塩類土壌の pH は、 HCO_3^- が多い場合 pH が上昇するが、この HCO_3^- の害作用は Cl^- と比較して非常に強い。この高 pH の害作用と、そのイオン種がもたらす害作用を区別して研究する必要がある。

中国東北部では耐性植物であるシオチガヤ (*Puccinellia chinampoensis* Ohwi) というイネ科植物は、中国東北部に生育し、pH10 を示す現地土壌で、家畜飼料として期待されている。

2. 研究の目的 なぜ、耐性植物シオチガヤが pH10 の Na 型アルカリ環境で生育できるかについて、未だ研究の余地がある。その植物により半乾燥地帯の砂漠化を防止するために、その生理的特質を明らかにする必要がある。

本研究では中国吉林省の西部の Na 型アルカリ土壌の化学的性質の検討とシオチガヤの生育との関係の検討を、現場の土壌を用いて検証する。主に、植物の生育能力と EC、pH との関わり、土壌塩類の関係を明確化する。

シオチガヤは、イネ科植物の Fe 輸送活性物質ムギネ酸を根より分泌するが、ムギネ酸のアルカリ性の根圏における微量必須金属の挙動を研究する。さらに、アルカリ条件下でのムギネ酸の分泌量などの検討も行う。この植物の高塩類条件、高 pH 条件への耐性機構をイネ科作物の中で塩類耐性が高いオオムギ (*Hordeum vulgare*) などと比較する。また、シオチガヤは HCO_3^- イオンに対する耐性があると考えられるが、その機構について検討する。

3. 研究の方法

(1)土壌の採取 中国吉林省大安市大函子鎮の草地に発生したアルカリスポット(不毛地)の表層 20cm の土壌を採取し日本へ輸入した。

(2)土壌 pH、土壌 EC の測定 乾土 5 g を測りとり、土壌の pH は 1 : 2.5 水浸出法、EC は 1 : 5 水浸出法を用いガラス電極 (HORIBA, D-54) で測定した。

(3)栽培植物 中国農業科学院畜牧分院で選抜育種されたシオチガヤ (*Puccinellia chinampoensis* Ohwi)、エンバク (*Avena sativa.*)、オオムギ (*Hordeum vulgare.*) を用いた。

(4)植物栽培法 土耕実験においては $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{NaHCO}_3 = 1:1$ 混合液 (pH 10.4) に 24 時間浸漬し、土壌粒子表面に置換させた粘土を用いた。この粘土を 1 : 8 の割合でバークキュライトと混合し、EC (電気伝導度) 1.23 dS m^{-1} の人工 Na 型アルカリ土壌を作成し 600ml のポットにて栽培した。水耕栽培においては、Hoagland & Arnon No.2 培地 (pH 5.5)、又は、鉄欠栽培においては鉄を

除いた改変培地 (pH 6.5) を用いた。また、炭酸水素 Na 培地においては、pH 9.0 とし、各濃度の NaHCO_3 を加えた。土耕、水耕、いずれも、温室、又は、人工気象室内にて栽培した。

(5)植物体の元素分析 植物体の元素含量は硝酸 - 過塩素酸 (5 : 1) を用いて湿式分解した後、フレイム式原子吸光度法を用いて Na、K、Mg、Ca の定量を行った。

(6)分泌ムギネ酸の測定法 ムギネ酸の分泌開始前に植物体 1 株を 500 ml の脱塩水で満たしたプラスチックカップに浸した。4 時間後に植物を元の培地に戻し、カップ内の分泌されたムギネ酸を含む脱塩水に防腐剤を加えた。採取した分泌ムギネ酸は濾紙で濾過した後、濾液を強陽イオン交換樹脂を充填したカラムに通した。その後、脱塩水で樹脂を洗浄し、1 N NH_4OH 溶液で塩基性画分を溶出した。溶出された塩基性画分を減圧濃縮し、凍結保存した。得られた溶液中のムギネ酸は鉄ゲル溶解活性法で測定した。

(7)根内のムギネ酸の測定法 植物を凍結乾燥し、切断した根を乳鉢内で、沸騰した 80 % エタノール溶液にて磨砕した。細胞内に蓄積されたムギネ酸を抽出した。このエタノール抽出液を濾過し、濾液を減圧濃縮後、定容した。得られた溶液から、分泌ムギネ酸と同様の方法で分画した塩基性画分を凍結保存し、測定には鉄ゲル溶解活性法を用いた。

(8)土壌からのキレート物質による微量必須元素の溶出量の測定法 2 mm の篩を通した各土壌 1 g に対し、0.167 mM の上記キレート剤添加溶液を 30 ml 加え 6 時間連続浸透した。これを静置後 20 °C, 20 min, 3000 rpm で遠心分離し、上澄液を 0.1 μm のメンブランフィルターで濾過し検液とした。測定は各サンプル 5 連で行った。元素含量は、フレイム式原子吸光度法で測定した。使用土壌は、中国吉林省大安市郊外ソーダ質土壌(中国)、トルコ共和国コンヤ盆地石灰質土壌(トルコ)、沖縄県喜界島石灰質土壌(喜界島)、沖縄県石垣島石灰質土壌(石垣島)、岩手県盛岡市岩手大学上台黒ボク土(上台)、岩手県金ヶ崎町六原黒ボク土(六原)であった。また、使用したキレート剤はムギネ酸 (MA)、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)、ジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA) であった。

(9) $\text{NaHCO}_3 : \text{Na}_2\text{CO}_3$ 1:1 緩衝液を用いた高アルカリ性炭酸条件下におけるムギネ酸 (MA) の Fe 溶出過程 以下の方法でムギネ酸の Fe ゲル溶出量を測定した。200 μM のムギネ酸溶液 3 ml を添加し、濃度の異なる $\text{NaHCO}_3 / \text{Na}_2\text{CO}_3$ 緩衝液を 15 ml 添加、これに 5 mM $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ゲル懸濁液を 2 ml 添加した。溶液中の炭酸イオ

ン濃度が 20, 40, 60, 80 mM となるように $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ 緩衝液で調整した。 $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ 緩衝液を加えない 0 mM 区は 0.1 N NaOH 溶液で pH 10 に調整した。これを 2 時間 55°C で保存した後、濾過し 50 ml に定容した溶液を検液とした。各サンプル 3 連でとし、ICP 発光分析装置により Fe を測定した。

4. 研究成果

(1) 土壌の電気伝導度と植物の耐性の比較

方法(3)に記したポットにオオムギ、エンバク、シオチガヤ 6 個体を 60 日間栽培し、その生育量と元素含量を測定した。図 1 に地上部の乾物重を、図 2 に根部の乾物重を示した。

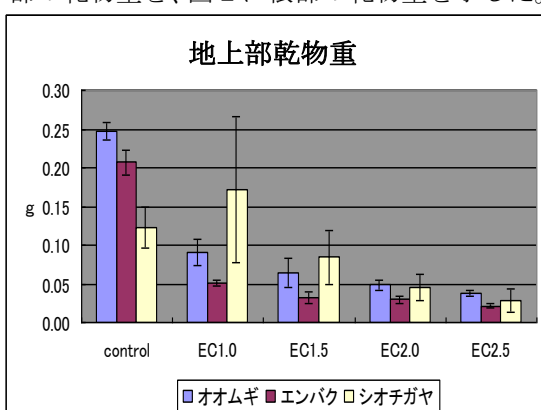


図 1 地上部の乾物重

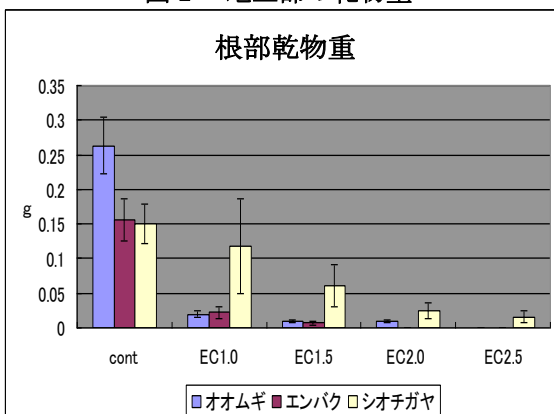


図 2 根部の乾物重

その結果、図 2 の地上部の乾物重においてはオオムギやエンバクが EC 上昇により生育が低下したのに対し、シオチガヤは EC1.0 まで低下しなかった。むしろ、増加する傾向さえも見られた。また、根部においてはオオムギとエンバクが EC1.0 において激減したのに対し、シオチガヤはあまり減少しなかった。

次に、根部の元素含量を測定したところ、図 3 に示されたように、EC の増加に伴いオオムギとエンバクは Na 含量が激増したのに対し、シオチガヤではあまり大きく増加しなかった。

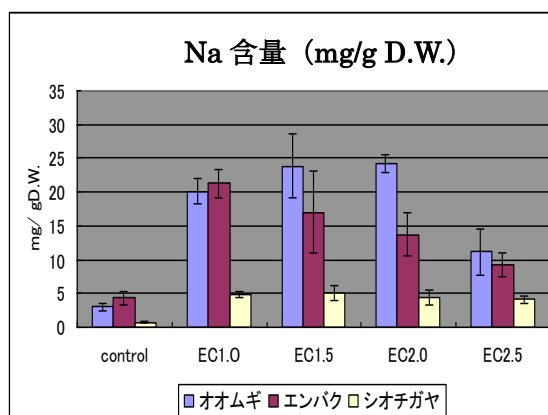


図 3 地上部の Na 含量

この時、図 4 で示した地上部の K 含量にはオオムギ、エンバクとシオチガヤの間には明確な違いが有った。オオムギとエンバクが EC の上昇に伴い K 含量が激減したのに対し、シオチガヤではあまり減少しなかった。

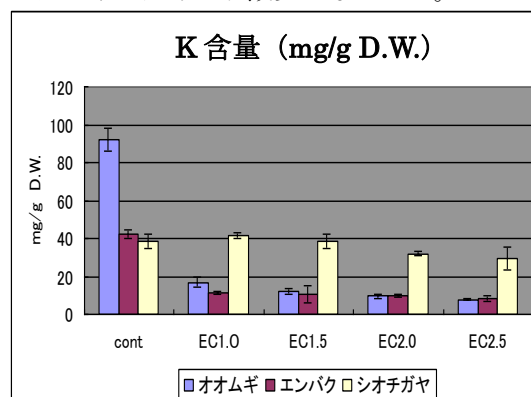


図 4 地上部の K 含量

図 5 と 6 に地上部の Ca と Mg 含量を示した。図ではオオムギ、エンバクとシオチガヤの違いが明瞭に示されている。オオムギとエンバクでは EC の増加に従いその含量が低下するのに対し、シオチガヤではその含量が増加したことが示された。

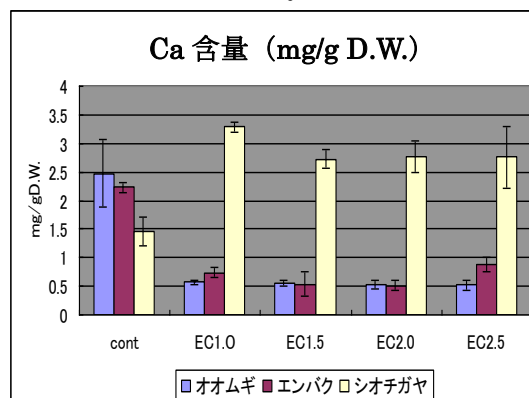


図 5 地上部の Ca 含量

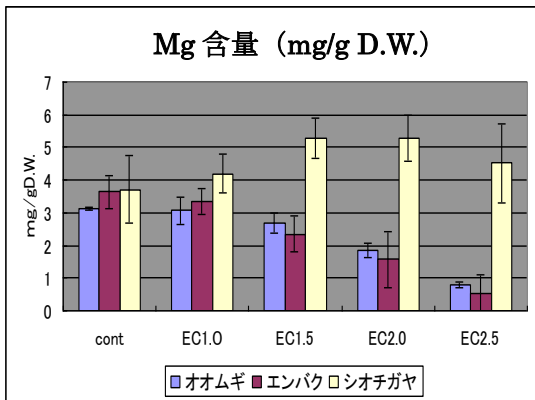


図6 地上部のMg含量

これら多量元素の含量の結果は、塩類耐性の低い植物では、土壌ECの増加によりNa含量が増加し、他元素が激減するのに対し、シオチガヤではNa含量の増加が抑制され、他の元素の含量が維持された。このシオチガヤの特性が、Na型塩類条件下で生育できる耐性を示している。シオチガヤの根が何らかのNa排出機構、もしくはNa侵入抑制機構をもつ可能性がある。

(2) シオチガヤのムギネ酸類の分泌、合成に対する炭酸水素イオンの影響

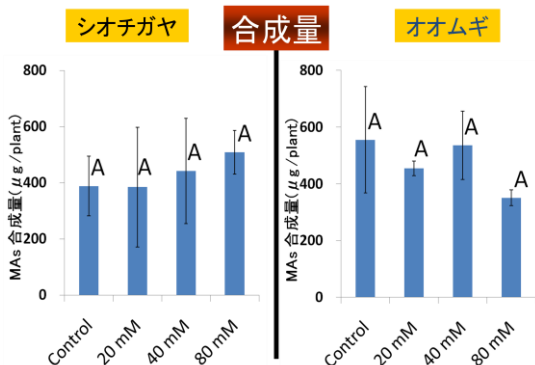


図7 ムギネ酸の根内の蓄積量

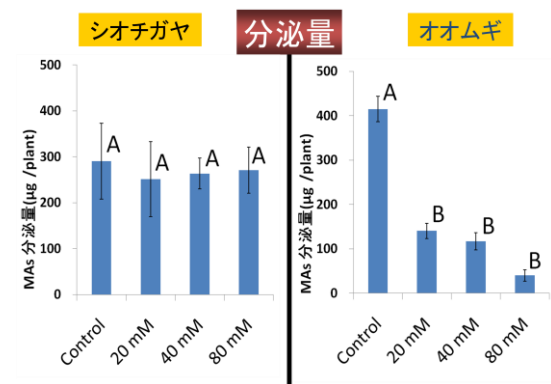


図8 根からのムギネ酸の分泌量

図7に鉄欠水耕栽培したシオチガヤとオオムギの根内に最も蓄積した時のムギネ酸の含

量を図8に1日当たりのムギネ酸(MA)の分泌量を示した。いずれも、 NaHCO_3 処理後3日目の値である。その結果、 NaHCO_3 の濃度増加に伴い、ムギネ酸の合成量はシオチガヤ、オオムギで変化しなかったが、図8で示した分泌量はオオムギで NaHCO_3 の濃度増加に伴い激減することが分かった。

図9に NaHCO_3 処理したシオチガヤとオオムギのムギネ酸の分泌量の経日変化を示した。オオムギは NaHCO_3 処理した翌日よりMA分泌量が激減したのに対し、シオチガヤはまったくムギネ酸分泌量が変化しなかった。オオムギのムギネ酸分泌機構が短時間で NaHCO_3 により抑制されるのに対し、シオチガヤのムギネ酸分泌が耐性を持っていることが示された。

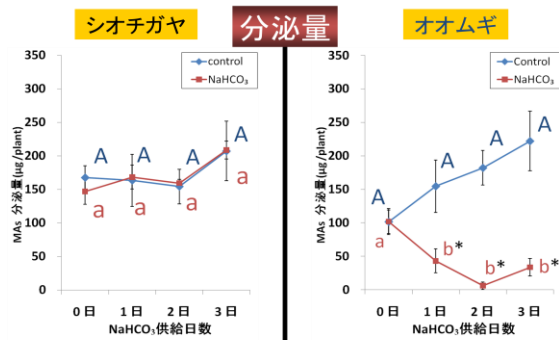


図9 NaHCO_3 処理したシオチガヤとオオムギのムギネ酸分泌量の経日変化

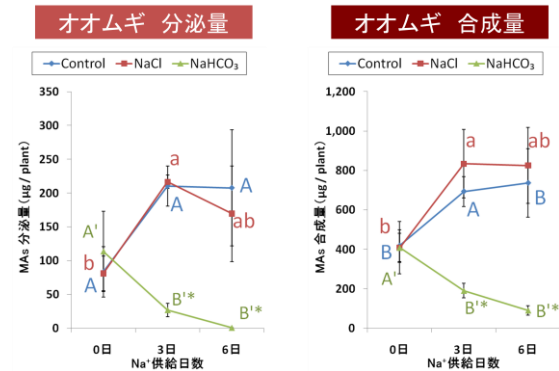


図10 オオムギをNaClと NaHCO_3 で処理した時のムギネ酸の根内蓄積量と分泌量

図10に対照植物としてのオオムギにNaClと NaHCO_3 で処理した時のムギネ酸の合成、分泌量の違いを示した。塩類処理をした場合、NaClに対しオオムギのムギネ酸合成分泌量は影響を受けなかったが、 NaHCO_3 によっては明瞭に減少した。この結果により、植物のムギネ酸合成分泌に害作用を持つイオンは Na^+ や Cl^- ではなく、 HCO_3^- であることが示された。

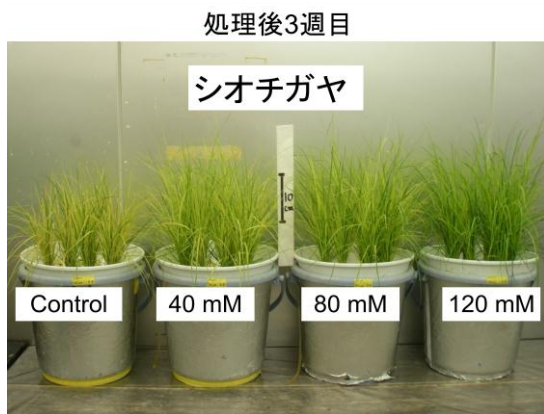


図 11 鉄欠水耕培地の NaHCO_3 濃度を増加させた時のシオチガヤの生育の様子。

図 11 に示されているように、鉄欠の水耕培地の NaHCO_3 濃度を増加させるとシオチガヤの葉が緑化し、生育が良くなることが示された。このことはシオチガヤの高い NaHCO_3 耐性を示している。この葉の緑化の生理的理由として、 HCO_3^- によるリン酸の吸収抑制が関与していると考えられる。

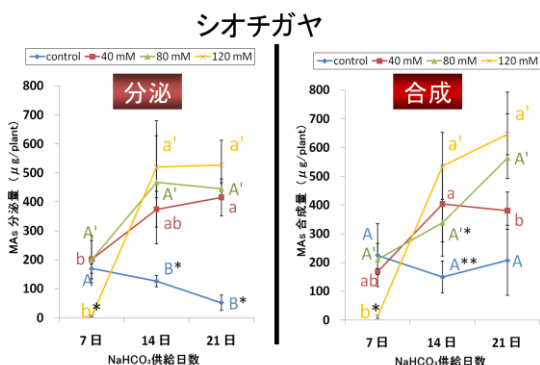


図 12 鉄欠水耕培地の NaHCO_3 濃度を増加させた時のシオチガヤの根のムギネ酸の蓄積量と分泌量

また、図 12 にその時のシオチガヤの根のムギネ酸の蓄積量と分泌量を示した。水耕培地の NaHCO_3 の濃度の増加に伴いムギネ酸の合成分泌量が増加することが明らかであった。シオチガヤのムギネ酸分泌が NaHCO_3 に対する耐性機構の一部となっていることが示されていると思われる。

(3) 中国東北部の Na 型塩類土壌からの微量必須元素の溶出

石灰質土壌においては Fe が不要化しており、ムギネ酸 (MA) の分泌量が植物の Fe 欠乏を回避するための重要な要因と考えられている。本実験では、Na 型塩類土壌においてムギネ酸が Fe 溶出にとってどの程度効果を持つかを検討した。表 1 に使用した土壌の pH、EC、CEC を示した。土壌 (中国) は Na 型

塩類土壌であり、土壌(トルコ、喜界島、石垣島)は石灰質土壌であり、土壌(六原、上台)は酸性土壌の黒ボク土である。中国のソーダ質土壌は土壌 pH が高く、土壌 EC が 3.85 dS/m、交換性 Na 量も 12.49 cmol/kg と非常に高い値を示し、ソーダ質化が著しいことがわかる。

	中国	トルコ	喜界島	石垣島	六原	上台
pH	9.59	8.36	8.94	8.14	4.94	6.47
EC (dS/m)	3.85	0.707	0.099	0.272	0.243	0.071
CEC (cmol/kg)	14.12	13.60	1.05	8.37	40.79	43.93

表 1 供試土壌の pH、EC、CEC

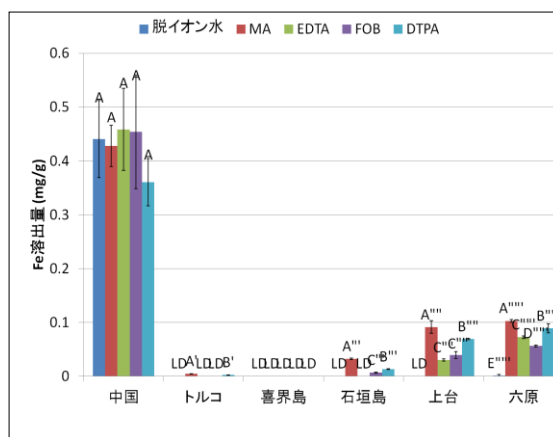


図 13 各土壌からの各種キレート剤による Fe の溶出量

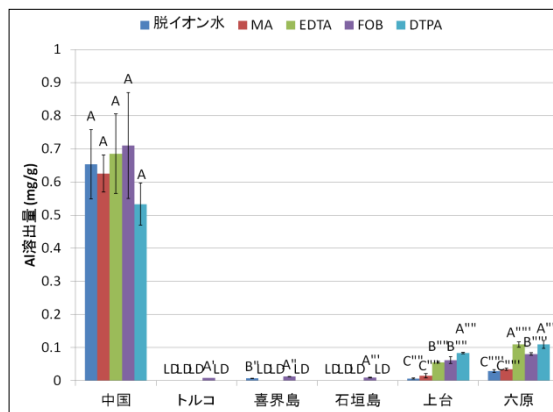


図 14 各土壌からの各種キレート剤による Al の溶出量

図 13 に、各土壌の 1g からの各種キレート剤による Fe の溶出量を示した。中国のソーダ質土壌では、他の土壌と比較して多量の Fe が溶出した。これは同じアルカリ土壌であるトルコ、喜界島、石垣島とは異なる結果であった。また、黒ボク土である上台や六原と比較しても倍以上の溶出量を示す結果となった。キレート効果については、ソーダ質土壌では、どのキレート剤を添加しても有意差はなく、

脱イオン水で抽出した場合と同程度の Fe 溶出量であった。

図 14 に各種キレート剤による各土壌 1 g からの Al の溶出量を示した。ソーダ質土壌では、他の土壌と比較して多量の Al が溶出した。また、ソーダ質土壌では、ムギネ酸を添加しても溶出量の有意な増加は見られず、脱イオン水で抽出した場合と同程度の Al 溶出量であった。

(4) HCO_3^- がムギネ酸 (MA) の鉄溶解活性に与える影響

$\text{NaHCO}_3:\text{Na}_2\text{CO}_3$ 1:1 緩衝液添加溶液の結果は図 15 に示した。 HCO_3^- 濃度が増加すると、ムギネ酸の Fe 溶解量が減少し、Fe 溶解量は溶液の HCO_3^- 濃度が増加しても、ほぼ一定の値を示した。この結果から、ムギネ酸は pH 10 という高 pH 条件下で、 HCO_3^- により著しく Fe 溶解能が阻害されると考えられた。

この原因の一つとして、随伴陰イオンのイオン半径が関係すると考えられる。土壌中に存在する Fe^{3+} は正八面体の構造を持ち、錯イオンの 6 配位部位に OH^- と H_2O が 3 つずつ配位し、電価的に釣り合い $\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{H}_2\text{O})_3$ として沈殿している。高アルカリ性炭酸条件下で 6 配位部位に OH^- よりもイオン半径の大きい HCO_3^- が配位すると、配位した Fe 錯体の直径が大きくなり、ムギネ酸のキレート形成が困難になり Fe 溶解が阻害されると考えられる。このように、ソーダ質条件下ではムギネ酸の Fe 溶解能が著しく阻害されると、本実験から考えられる。

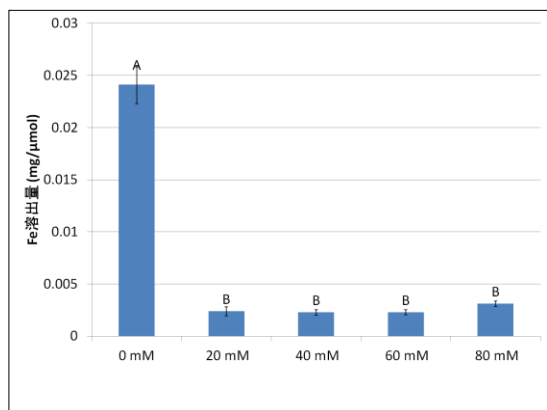


図 15 各 $\text{Na}_2\text{CO}_3:\text{NaHCO}_3$ 添加溶液におけるムギネ酸の Fe ゲル溶解量

(5) まとめ

本研究で、Na 型アルカリ土壌の特異的な性質の一端を示せた。また、そこに生育できるシオチガヤの栄養特性と Fe 吸収生理活性物質ムギネ酸の高い分泌能力が示された。今後、土と植物の特質をさらに検討し、そのデータを Na 型塩類土壌での植生回復に役立てたい。

5. 主な発表論文

[学会発表] (計 11 件)

- ① 吉田有宏、佐藤敦、河合成直、中国東北部の Na 型アルカリ塩類集積土壌からのムギネ酸による金属溶出 中国吉林省強アルカリ荒地における生態的土壌修復に関する研究 (6)、第 57 回日本土壌肥料学会、2011, 8, 8、つくば国際会議場 (茨城県)
- ② 河合成直、玉手英行、佐藤敦、水耕培地の炭酸水素ナトリウム濃度を上昇させた時の Na 型塩類耐性植物シオチガヤのムギネ酸分泌 中国吉林省強アルカリ荒地における生態的土壌修復に関する研究 (5)、第 57 回日本土壌肥料学会、2011, 8, 8、つくば国際会議場 (茨城県)
- ③ 吉田有宏、河合成直、佐藤敦、中国東北部 Na 型アルカリ塩類集積土壌の Fe 溶出におけるムギネ酸の影響 中国吉林省強アルカリ荒地における生態的土壌修復に関する研究 (4)、第 57 回日本土壌肥料学会、2011, 8, 8、つくば国際会議場 (茨城県)
- ④ 佐藤敦、河合成直、徐安凱、趙明清、郭希明、佐藤孝志、永井正、塩地茅の生育可能な土壌条件 — 中国吉林省強アルカリ荒地における生態的土壌修復に関する研究 (1)、第 56 回日本土壌肥料学会、2010, 9, 8、北海道大学 (北海道)
- ⑤ 吉田有宏、佐藤敦、河合成直、Na 型塩類集積土壌における耐塩性植物の生育と土壌 pH 及び EC の関係 中国吉林省強アルカリ荒地における生態的土壌修復に関する研究 (2)、第 56 回日本土壌肥料学会、2010, 9, 8、北海道大学 (北海道)
- ⑥ 玉手英行、河合成直、アルカリ条件下での水耕オオムギのムギネ酸分泌に対する重炭酸ナトリウムの影響、第 55 回日本土壌肥料学会、2009, 9, 17、京都大学農学部 (京都府)
- ⑦ 河合成直、浪岡賢治、佐藤敦、中国東北部で生育するイネ科牧草シオチガヤの Na 型アルカリ条件に対する耐性能、第 55 回日本土壌肥料学会、2009, 9, 17、京都大学農学部 (京都府)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河合 成直 (KAWAI SHIGENAO)
岩手大学・農学部・教授
研究者番号：80161264

(2) 研究協力者

佐藤 敦 (SATO ATSUSHI)
秋田県立大学・生物資源科学部・名誉教授
徐 安凱 (JO ANGAI)
中国吉林省農業科学院・畜牧分院・分院長