

テリハボクの耐塩性の検証

森林総合研究所林木育種センター 花岡 創・中和 範雄
森林総合研究所林木育種センター西表熱帯林育種技術園 加藤 一隆

Verification of salt tolerance in *Calophyllum inophyllum*

So HANAOKA, Norio NAKAWA, Kazutaka KATO (Forest Tree Breeding Center)

1. はじめに

テリハボク(*Calophyllum inophyllum*)はオトギリソウ科の常緑高木で、太平洋からインド洋にかけての熱帯・亜熱帯海岸域に広く分布する¹⁾。南太平洋地域や東南アジアでは材として活用されるほか、油分を豊富に含む種子を原料とした種々のオイル製品が生産されるなど、経済的価値の高い樹種である¹⁾²⁾。日本においては、先島諸島が主な天然分布域であり、同地域では防風林や街路樹等としての活用が盛んである²⁾。沖縄県の作成した「宮古八重山地域森林計画書(H20~30)」においても、造林を推奨する主要な広葉樹の一つに指定されている³⁾。防風林としての利用や材としての利用を促進するにあたっては、弾力性に富み耐風性が高いこと、塩害に強い(耐塩性が高い)こと、幹の通直性に優れることなどが求められ、それらの形質に優れるテリハボクの選抜および育種研究なども開始されている²⁾。

テリハボクの耐塩性については、同種が海岸域に広く分布できることから耐塩性が高いことが推察されるものの、どの程度の環境に耐えることができるのか、また、耐塩性について家系間で差異が生じるのかを詳細に検証した事例は見当たらず、選抜育種を推進するにあたって検証されるべき項目である。本研究では、テリハボクの耐塩性の程度を把握することを目的として、テリハボクの実生苗に異なる塩分(NaCl)濃度水溶液(wt 1%, 0.5%, 0%)を約2ヶ月間灌水した場合の樹勢の変化を観察した。また、樹体が根から吸収した塩分量は葉中のナトリウムイオン(Na⁺)濃度に反映されるため、葉中のNa⁺濃度が低い個体ほど根におけるNa⁺排除率が高く耐塩性が高いと想定し、イネなどの耐塩性評価試験で国際基準とされている0.5%濃度の塩水を、約3ヶ月間灌水した場合の葉中のNa⁺濃度や樹高生長量を検証することで、テリハボクの耐塩性の家系間差を詳細に評価することも試みた。

2. 材料と方法

1) 全試験の供試材料

先島諸島内から7母樹をランダムに選び、各母樹から20個以上の果実を採取した。採取された果実は全て森林総合研究所林木育種センター(茨城県日立市)に持ち帰って種子を取り出し、種皮を除去してガラス温室内のポット(直径13cm、高さ14cm)に播種した。土壌はポットの下底から約4cmにわたり日向土を、その上に約5cm厚の腐葉土を、また、それより上は川砂という3層構造とした。全ての実験は、種子を播種後約2ヶ月後の実生(9.5±2.4cm; 平均±標準誤差)を用いて実施した。

2) 異なる塩分濃度水に対する実生の応答(以降、実験1と定義)

2011年6月に4家系(A, B, C, Dと表記する)から種子を採取し、常温で保存した。同年8月にそれらを播種し、発芽した実生苗は同年10月まで地下水を灌水して育成した。2011年10月に各家系が6個体ずつ含まれるように3つの処理区に分け、全実生苗の樹高および展葉枚数を記録した。また、同日よりそれら3つの処理区にそれぞれ重量パーセントで1%、0.5%、0%(対照区)の塩水を平日のみ一日一回、100ml灌水する処置を開始した。平日以外の日には自動灌水装置により地下水を朝・夕の2回、約1分間与えた。この処置を2011年12月までの2ヶ月間実施した後、樹勢(樹体の枯損の有無)と樹高を記録した。

3) 葉中Na⁺濃度および樹高生長量の測定による耐塩性の家系間差の検証(以降、実験2と定義)

2011年11月および12月に3家系(E, F, Gと表記する)から採取した種子を常温で保存し、2012年3月に播種した。発芽した実生苗は全て地下水を灌水して2ヶ月間育成した。同年5月に0.5%塩水灌水区(各家系12個体)と対照区(各家系6個体)を設定して灌水を開始し、3ヶ月後の2012年8月に樹体の枯損の有無、樹高および葉中Na⁺濃度を測定した。Na⁺濃度は直径0.6cmの円形の葉片(1.13cm²)を採取して超純水100μlとともに乳鉢と乳房を用いてすりつぶし、その溶液中に含まれるNa⁺濃度をナトリウムイオン測定機(HORIBA; C133CARDY)を用いて測定した。また、対照区の18個体(6個体×3家系)については、葉を一枚採取して3.5%塩水(海水濃度に相当)に24時間浸漬し、葉を超純水で洗浄してから上記と同様の方法でNa⁺濃度を測定した。

4) データ解析

塩水灌水による樹体への影響とその家系間差を評価するため、樹体の枯損の有無、葉中Na⁺濃度あるいは樹高生長量を応答変数に、塩水の濃度区分および家系を説明変数とした一般化線形モデル(GLM)解析を行い、それを基に分散分析を実施した。分散分析で有意な差が検出された要因についてはTukey法による多重比較を行った。GLM解析において、枯損の有無を応答変数にした場合は誤差構造を二項分布に、Na⁺濃度及び樹高生長量を応答変数にした場合は誤差構造をガンマ分布と指定した。GLM、分散分析および多重比較の計算はそれぞれデータ解析環境Rのglm関数、aov関数およびmultcompパッケージのglht関数を利用した。

3. 結果

1) 異なる塩分濃度水に対する実生の応答(実験1)

各塩水灌水区の全個体に対する枯損個体の割合は1%塩水灌水区、0.5%塩水灌水区、対象区でそれぞれ58.3%、25.0%、12.5%となり、塩水濃度が高い処理区ほど枯損個体の割合が高くなる傾向にあった。また、家系Cの0.5%塩水灌水区と対象区のを除き、すべての家系で塩水濃度が上昇するにつれて枯損した個体数が増加する結果となった。それぞれの塩水灌水区における各家系の枯損および健全個体数を図1に示す。分散分析の

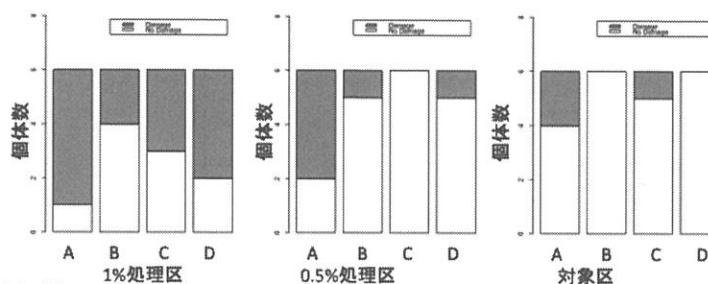


図1. 各塩水灌水区における家系ごとの枯損および健全個体の数

表1. 分散分析の結果(枯損確率)

要因	自由度	変動	普遍分散	F値	p値
家系	4	9.500	2.375	14.506	<0.01
処理区	2	2.694	1.347	8.229	<0.01
誤差	66	10.806	0.164		

結果、枯損が生じる確率に対する家系および処理区間の有意な差が検出された(表 1)。多重比較の結果、1%塩水灌水区と 0.5%塩水灌水区との間、および 1%塩水灌水区と対照区との間に有意な差が検出された($p < 0.05$)。一方で、0.5%塩水灌水区と対照区との間には有意な差が検出されなかった。家系間については家系 A と家系 C の間でのみ有意な差が検出された。樹高生長量については、対象区の家系 A で 1.5cm 程度の樹高生長をみせた個体が 2 個体あったものの、他の個体では樹高生長量が 5mm 未満となり正確な測定が困難と判断し、以降の解析は実施しなかった。

2) 葉中 Na⁺濃度および樹高生長量の測定による耐塩性の家系間差の検証 (実験 2)

樹体の枯損は 0.5%塩水灌水区の家系 E で 2 個体見られたのみであった。塩水灌水区および対照区における家系ごとの葉中 Na⁺濃度の結果を図 2 に示す。0.5%塩水灌水区における家系 E、F、G の葉中 Na⁺濃度は平均でそれぞれ 59.3 ± 21.3 ppm、 49.2 ± 20.4 ppm、 48.5 ± 13.4 ppm となり、対象区では家系 E、F、G それぞれ 40.3 ± 8.4 ppm、 42.0 ± 11.3 ppm、 51.5 ± 8.7 ppm となった。家系 E と F では、0.5%塩水灌水区で Na⁺濃度が高くなる傾向にあったが、家系 G では、差は小さいものの対象区の方が高い値を示す結果となった。また、いずれの家系においても 0.5%塩水灌水区で葉中 Na⁺濃度のばらつきが大きくなる傾向にあった。分散分析の結果、葉中 Na⁺濃度に対する家系間の有意な差が検出されたが(表 2)、塩水灌水区と対象区の間には有意な差は検出されなかった。家系間について多重比較を行ったところ、いずれの家系組み合わせにおいても有意な差は検出されなかった。

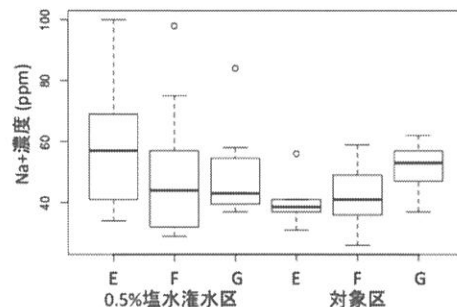


図2. 各塩水灌水区における家系ごとのNa⁺濃度

表2. 分散分析の結果 (Na⁺濃度)

要因	自由度	変動	普遍分散	F値	p値
家系	3	134053	44684	160.71	<0.01
処理区	1	716	716	2.5737	0.115
誤差	50	13902	278		

の結果、葉中 Na⁺濃度に対する家系間の有意な差が検出されたが(表 2)、塩水灌水区と対象区の間には有意な差は検出されなかった。家系間について多重比較を行ったところ、いずれの家系組み合わせにおいても有意な差は検出されなかった。

塩水灌水区および対照区における家系ごとの樹高生長量の結果を図 3 に示す。0.5%塩水灌水区における家系 E、F、G の樹高生長量は平均でそれぞれ 2.4 ± 1.2 cm、 1.9 ± 1.5 cm、 1.4 ± 0.9 cm となり、対照区ではそれぞれ 4.1 ± 1.1 cm、 5.8 ± 1.7 cm、 4.3 ± 2.0 cm となった。すべての家系で 0.5%塩水灌水区よりも対象区で生長量が大きくなる傾向があった。分散分析の結果、樹高生長量は家系間で有意な差が検出され、また、0.5%塩水灌水区と対象区の間にも有意な差が検出された(表 3)。家系間については多重比較を行ったが、個々の組み合わせについて有意な差は検出されなかった($p > 0.05$)。

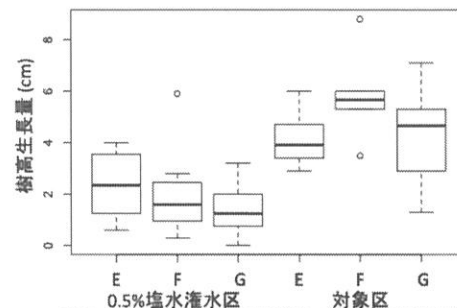


図3. 各塩水灌水区における家系ごとの樹高生長量

表3. 分散分析の結果 (樹高生長量)

要因	自由度	変動	普遍分散	F値	p値
家系	3	444.33	148.109	73.567	<0.01
処理区	1	98.42	98.42	48.886	<0.01
誤差	50	100.66	2.013		

傾向があった。分散分析の結果、樹高生長量は家系間で有意な差が検出され、また、0.5%塩水灌水区と対象区の間にも有意な差が検出された(表 3)。家系間については多重比較を行ったが、個々の組み合わせについて有意な差は検出されなかった($p > 0.05$)。

葉を塩水に浸漬した実験では、実験開始前の Na⁺濃度の平均は家系 E、F、G でそれぞれ 40.3 ± 8.4 ppm、 42.0 ± 11.3 ppm、 51.5 ± 8.6 ppm であったが、実験終了後にはそれぞれ 136.3 ± 36.2 ppm、 111.1 ± 30.7 ppm、 191.7 ± 65.5 ppm となった。実験後には、Na⁺濃度が有意に増加していた(対応のある t 検定; $p < 0.01$)。分散分析の結果、家系間の有意な差が検出され、多重比較では、家系 F と家系 G の間で有意な差が検出されたが($p < 0.01$)、それ以外の組み合わせでは有意な差は検出されな

かった。

4. 考 察

ナシ属や北海道に分布する複数の広葉樹種の耐塩性を検証した事例では、耐塩性の低い種では塩水灌水によって樹体に枯損が生じやすかったこと、葉中の Na^+ や Cl^- 濃度の上昇率が高かったことなどを報告している⁴⁾⁵⁾。また、イネやアブラナ属の研究事例では、耐塩性の低い種や品種では塩水処理によって葉中の Na^+ やその他のイオン濃度が上昇し、それが光合成速度や蒸散量、あるいは成長速度と関連があったことを報告している⁶⁾⁷⁾。

一方、テリハボクの実験1では、より高い塩水濃度において樹体の枯損率が高くなり、実験2では塩水灌水区における有意な生長量の減少が観察された。これらの結果から、テリハボクへの塩水灌水が生存及び生長に対して負の影響をおよぼすことが示唆された。実験1では多くの個体で樹体に枯損が生じたにも関わらず(0.5%灌水区でも25%が枯損)、実験2では0.5%塩水灌水区で2個体(5.6%)のみが枯損する結果となった。また、実験1ではほとんどの個体で明瞭な樹高生長がみられなかったが、実験2では樹高生長の家系間差とともに塩水灌水区と対照区との間で有意な差が検出されるなど、一部で対応しない結果となった。テリハボクは耐寒性に乏しい種であり⁸⁾、実験1は秋期から冬期にかけての実験で温室内の温度が比較的低く(温室内の平均気温 $22.3 \pm 2.5^\circ\text{C}$; 最低 9.3°C)、実験2は夏期で(温室内の平均気温 $27.4 \pm 6.3^\circ\text{C}$; 最低 15.4°C) テリハボクの生育に好ましい環境であった。それゆえ、実験1では塩ストレスに加えて温度ストレスなど複数の要因が同時に影響し、実生の生長や枯損の生じやすさに差異をもたらした可能性がある。このことは、実験1では対象区においてもいくつかの枯損個体が生じていたことから支持される。

葉中 Na^+ 濃度には塩水灌水区と対象区との間に有意な差がなかったが(実験1)、これは塩水灌水区において Na^+ 濃度の上昇がないか、あるいはわずかな上昇であったことに起因している。ナシ属3種の研究事例⁴⁾では、100mM(wt 約0.5%)の塩水灌水区と対象区では葉中 Na^+ 濃度に5~6倍近い差が生じており、塩水灌水区における葉中 Na^+ 濃度は、本研究で測定した Na^+ 濃度が超純水を添加したことによって3倍程度に希釈されていた(生重と乾重の差から推定した葉片水分量からおおまかに推定)ことを考慮しても、本研究の20倍以上の数値であった。テリハボクの塩分排除能力はナシ属の種と比べ極めて高いものであると考えられる。

一方で、樹高生長量については塩水灌水区と対象区との間で有意な差が検出された(実験2)。実験開始時の樹高と樹高生長量の間には相関は見られず(単回帰分析、無相関検定)、樹高生長量が初期の個体サイズに依存していたとは考えにくく、また、本実験が環境条件の良い時期であったことも勘案すると、塩水灌水による影響があったと考えるのが自然であろう。ところが、葉中 Na^+ 濃度は塩水灌水区と対象区で有意な差は検出されておらず、また、葉中 Na^+ 濃度と樹高生長量との間には有意な相関関係は認められなかった。アブラナ属の耐塩性の研究では、 Na^+ 濃度と光合成速度の間には有意な相関が検出されなかったが、 Na^+ と K^+ の総量と光合成速度との間には有意な相関があったことを報告している⁷⁾。同研究は、塩分を吸収することで、①葉中の各種イオン濃度が上昇して浸透圧が増加、②葉水分含量が増加、③それでも高圧状態を解消しきれず葉の生理的乾燥状態が続くために葉のガス拡散抵抗が低下、④③に伴って蒸散速度が低下、⑤④に伴って光合成速度も低下、というプロセスを考察している。同様のことがテリハボクに当てはまるとするならば、葉中 Na^+ 濃度のみで生長率の低下など負の影響を定量的に評価することは困難であり、より多くの要素に注目した解析が必要であろう。

3.5%濃度の塩水に葉を24時間浸漬した結果では、実験後のNa⁺濃度に有意な家系間差が生じており、葉柄や葉の表面からの塩分吸収能力に家系間差があることが示唆された。しかし、本研究の結果（実験後の葉中Na⁺濃度の平均 = 146.4±55.9ppm）は北海道の広葉樹10種で最も耐塩性が高かったハマナス（同様の試験で得られた葉中Na⁺濃度は4000ppm程度⁵⁾と比較して著しく低く、テリハボク自体の高い耐塩性が示されたとも言える。

5. まとめ

本研究では、テリハボクの実生が他樹種の研究事例^{4) 5)}と比較しても高い水準の耐塩性を有することを明らかにできた。沖縄において台風などの強風時に飛来する雨水に含まれる塩分濃度は0.025%以下であったことが報告されており⁹⁾、本研究で作りに出した環境は自然環境下より厳しい傾向にあったと考えられる。それゆえ、海水に直接晒されるような場合を除き、テリハボクは多くの海岸域で十分に生育が可能であろう。しかし、実験1における枯損率や実験2における樹高生長量には塩水灌水区と対照区で有意な差が検出され、塩水灌水により負の影響を受けることが示された。選抜育種という観点では、塩ストレス環境下における形質の変化について注意を払うべきであろう。

引用文献

- 1) Whistler WA. : Plants of the canoe people., p52-53, 2009
- 2) 花岡 創: テリハボク (*Calophyllum inophyllum*) の研究に向けて. 林木の育種 No.242, p26-28, 2012
- 3) 沖縄県: 宮古八重山地域森林計画書, p20, 2008
- 4) Matsumoto et al.: Salt Tolerance in *Pyrus* species is linked to levels of Na and Cl translocation from roots to leaves., J. Japan. Cos. Hort. Sci, 75: 385-391, 2006
- 5) 小久保 亮: 葉の塩水処理試験による樹木の耐塩性ランク付け, 北海道林業試験場光珠内季報告, p12-14, 2002
- 6) 槇野 大吾ら: ナトリウムイオン集積に対するイネ切断葉の光合成反応からみた耐塩性の評価, 日作紀, 70: 78-83, 2001
- 7) 高畑 義人ら: アブラナ属ならびに近縁属植物における耐塩性の種間差異・光合成反応を中心として. 日本育種学会誌, 31: 383-394, 1981
- 8) 佐竹 義輔ら: 日本の野生植物 木本(I), 平凡社, 1989
- 9) 中座 栄三ら: 強風時の飛来塩分量と降雨中塩分濃度に関する研究, 土木学会海岸工学論文集, 45: 1176-1180, 1998