

コウライシバ (*Zoysia matrella* Merr.) の体内物質
移動特性と塩ストレス対応

Substance Transport Characteristics and
Salt Tolerance Mechanism of *Zoysia matrella* Merr.

2020 年 3 月

杉浦 総一郎

SUGIURA Souichirou

目次

1. 研究背景および目的	1
1-1. 研究背景.....	1
1-1-1. 芝生の利用と役割.....	1
1-1-2. コウライシバの特徴.....	5
1-1-3. 塩分適応性を有する芝生の必要性.....	7
1-1-4. 植物の塩ストレスと対応.....	7
1) 植物の塩ストレス障害.....	7
2) 植物の塩ストレス対応.....	8
1-1-5. クローナル植物の環境ストレス対応.....	11
1-1-6. コウライシバの塩ストレス対応.....	13
1) 塩類腺からの Na ⁺ 排出.....	13
2) 液胞への Na ⁺ 隔離.....	13
3) 細胞質の浸透圧調節.....	14
1-1-7. コウライシバのラメット間の水分、塩分の移動.....	14
1-2. 研究目的.....	15
1-2-1. 垂直方向の塩分の移動特性の把握.....	16
1-2-2. 水平方向の水分と塩分の移動特性の把握.....	17
1-3. 研究のフロー.....	19
1-4. 本研究で扱う用語.....	20
2. 実験内容および方法	21
2-1. 実験内容.....	21
2-1-1. 「垂直方向の塩分の移動」(実験 A).....	21
1) 長期間の塩ストレスに対する反応(実験 A-1).....	21
2) 塩類腺からの塩分排出特性(実験 A-2).....	21

2-1-2. 「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B)	23
1) ラメット間の水分の移動特性 (実験 B-1)	23
2) ラメット間の塩分の移動特性 (実験 B-2)	23
2-2. 実験方法	26
2-2-1. 長期間の塩ストレスに対する反応	26
1) 植え付けおよび養生	26
2) NaCl 溶液の施用	26
3) 重力水の電気伝導度 (EC 値) の測定	27
4) 各部の乾燥重量の測定	27
5) 各部のイオン含有量の測定	27
6) 統計解析	28
2-2-2. 塩類腺からの塩分排出特性	28
1) 植え付けおよび養生	28
2) NaCl 溶液施用および重力水の分析	29
3) 葉身部における塩類腺数、塩類腺面積の測定	29
4) 葉身部のイオン含有量、イオン排出量の測定	29
5) 葉身部の刈取りと乾燥重量、枯死率の測定	30
6) 統計解析	30
2-2-3. 水平方向の水分と塩分の移動	33
1) 植え付けおよび養生	33
2) ラメット間の匍匐茎の切断 (Sever のみ)	34
3) 各実験区の処理	34
4) 各実験区の草丈の測定	34
5) コウライシバの掘り取りおよび土壌の採取	35
6) 土壌の乾土重および土壌含水比の測定	35
7) 各部の乾燥重量および含水率の測定	35
8) 土壌 EC、pH および土壌塩分 (Na ⁺ 、Cl ⁻) 濃度の測定	36
9) 各部における塩分 (Na ⁺ 、Cl ⁻) 含有量の測定	36
10) 統計解析	36
11) 水平方向の水分と塩分の移動 (実験 B) で扱うデータ	36
3. 結果	40
3-1. 長期間の塩ストレスに対する反応	40

3-1-1. 重力水の塩分濃度	40
3-1-2. 各部の乾燥重量	40
3-1-3. 各部の Na ⁺ 、Cl ⁻ 含有量	41
3-1-4. 各部のグルコース含有量	41
3-2. 塩類腺からの塩分排出特性	49
3-2-1. 重力水の塩分濃度	49
3-2-2. 葉身部の乾燥重量および枯死率	49
3-2-3. 葉身部におけるイオン含有量およびイオン排出量とイオン排出率	49
3-2-4. 葉身部の塩類腺数および塩類腺面積	50
3-3. ラメット間の水分の移動特性	61
3-3-1. 土壌含水比	61
3-3-2. 各ラメットの乾燥重量	61
3-3-3. 各ラメットの含水率	62
3-4. ラメット間の塩分の移動特性	66
3-4-1. 土壌 EC 値	66
3-4-2. 土壌 pH	66
3-4-3. 各ラメットの乾燥重量	66
3-4-4. 各ラメットの Na ⁺ 含有量	67
3-4-5. 各ラメットの Cl ⁻ 含有量	67
3-5. 水平方向の水分と塩分の移動（補足データ）	74
3-5-1. 各ラメットの新鮮重量（Control 区、水分制限区、塩分施用区）	75
3-5-2. 各ラメットの乾燥重量（Control 区）	78
3-5-3. 各ラメットの含水率（Control 区、塩分施用区）	79

3-5-4. 各ラメットの草丈 (Control 区、水分制限区、塩分施用区)	81
3-5-5. 各ラメットの Na ⁺ 、Cl ⁻ 含有量 (Control 区)	84
3-5-6. 土壌の Na ⁺ 、Cl ⁻ 濃度 (Control 区、塩分施用区)	86
3-5-7. 土壌の EC 値、pH (Control 区)	88
3-5-8. 土壌含水比 (Control 区)	89
4. 考察	90
4-1. 長期間の塩ストレスに対する反応.....	90
4-1-1. 重力水の EC 値.....	90
4-1-2. 各部の乾燥重量.....	90
4-1-3. 各部の Na ⁺ 、Cl ⁻ 含有量.....	92
4-1-4. 各部のグルコース含有量および Na ⁺ 含有量の関係.....	93
4-1-5. 長期間の塩ストレスに対する反応 (実験 A-1) により得られた主な結果および考察.....	94
4-2. 塩類腺からの塩分排出特性.....	99
4-2-1. 重力水の塩分濃度.....	99
4-2-2. 葉身部の乾燥重量および枯死率.....	99
4-2-3. 葉身部におけるイオン含有量およびイオン排出量とイオン排出率.....	99
4-2-4. 葉身部の K ⁺ と Na ⁺ の関係.....	101
4-2-5. 葉身部の塩類腺数および塩類腺面積.....	101
4-2-6. 土壌水分量と塩類腺からの Na ⁺ 排出特性.....	102
4-2-7. 塩類腺からの塩分排出特性 (実験 A-2) により得られた主な結果および考察.....	103
4-3. ラメット間の水分の移動特性.....	109
4-3-1. 土壌含水比.....	109

4-3-2. 各ラメットの乾燥重量	110
4-3-3. 各ラメットの含水率	111
4-3-4. ラメット間の水分の移動特性（実験 B-1）により得られた主な結果および考察	111
4-4. ラメット間の塩分の移動特性	115
4-4-1. 土壌 EC 値.....	115
4-4-2. 土壌 pH.....	115
4-4-3. 各ラメットの乾燥重量	116
4-4-4. 各ラメットの Na ⁺ 、Cl ⁻ 含有量	116
4-4-5. SNTS の Na ⁺ 、Cl ⁻ 含有量	118
4-4-6. ラメット間の塩分の移動特性（実験 B-2）により得られた主な結果および考察	119
5. 総合考察	127
5-1. コウライシバ体内の塩分の移動と塩ストレス対応	127
5-2. コウライシバ体内の水分の移動と塩ストレス対応	132
5-3. 生育環境における水の存在とコウライシバの塩ストレス対応.....	134
5-4. 本研究のまとめ	136
参考・引用文献	141
Summary	148
謝辞.....	152

1. 研究背景および目的

“芝生は人類誕生以来、人と切っても切れない関係をもちながら今日に及んでいる。原始人が草原を駆け回り、狩りをしながら生活した太古から、生活を楽しむ庭園の大きな要素となった文明興隆の時代を経て、スポーツ、レクリエーションの場として、さらに修景、表面保護へと、その利用範囲が広がった現代まで、芝生の存在価値はいよいよ大きくなってきた。芝生は常に人とともにあって、その生活を美しく豊かに、快適で、安全にする役割を演じている”（新訂 芝生と緑化）⁷²⁾。

このように、芝生は私たちの生活に深く根付いており、その存在は現代においてますます重要となっている。サッカーやラグビー、ゴルフ等のスポーツへの利用は産業に結び付いており、米国の芝生産業（芝生の管理や芝生生産など）は、数十億ドル規模の巨大産業に発展している¹⁾。また、公園や緑地における芝地はオープンスペースとして重要な機能を持ち、火災や地震等の災害時には、避難地として利用されることから、人命も救う役割も担っている⁶⁰⁾。

一方、特に降水量の少ない地域において水資源は大変貴重であり、近年では急激な都市化や干ばつの影響による水不足が深刻な問題となっている^{56) 53)}。このような背景から、緑地やゴルフ場では、塩分を含むような低コストで利用できる水の利用（散水）に耐えられ、健全な生育を維持できる芝生が求められている^{58) 57)}。

そこで筆者らは、本来沿岸に自生し^{68) 85)}、高い耐塩性を有する^{88) 59) 97) 35)} コウライシバ (*Zoysia matrella* Merr.) に着目して、その耐塩性や塩ストレス対応のメカニズムの一端を明らかにすべく実験を行った。

「1-1. 研究背景」および「1-2. 研究目的」において、本研究を行うに至った経緯や、研究の意義、目的を詳しく説明する。

1-1. 研究背景

コウライシバ (*Zoysia matrella* Merr.) を本研究の対象とした理由や、その特徴について述べる。また、高塩分環境下において本種を利用していくためには、本種の塩ストレス対応のメカニズムを明らかにする必要がある。そこで、初めに植物の耐塩性や塩ストレス対応に関する今までの既往研究や知見の整理を行った。これらの知見の整理から、体内の塩分等の物質移動が植物の塩ストレス対応として極めて重要な意味を持っていることが明確となった。次に、研究対象であるコウライシバの体内の物質移動や耐塩性に関する既往研究の整理を行い、本種の体内物質移動特性に関して既に明らかになっている点と明らかになっていない点をまとめることとした。

1-1-1. 芝生の利用と役割

先述の通り、芝生は人類誕生以来、人と切っても切れない関係をもちながら今日に及ん

でいる。現在、私たちの生活空間における主な芝生の利用とその機能には、以下に示す 4 つの項目が挙げられている（図 1）。

①修景機能

芝生の修景機能とは、美的環境の形成からくるメンタル的な機能が挙げられる。均一な密度と高さを保つ緑の広がり、視覚的にも美しく、人々の心に豊かさと安らぎを与える。特に都市部においては、建造物の垂直的な構成を受けて、芝生の水平的な広がりがこれを支えている⁷²⁾。

緑のターフは疲れた目を養い、視力を保つ効果もある¹⁾ことから、芝生の修景機能は心身ともに癒しを与える存在であると言えよう。沖縄県の与那国島では、芝地と与那国馬との共存の景観が、王朝時代の光景を現代に残す、歴史的、伝統的な景観資源としても重要な意味を持つ³⁾。

②運動レクリエーション機能と芝生産業

芝生とスポーツは密接な関係がある。芝生の存在により、スポーツをする人の体の負担を減らすことができる。芝生で地表面を覆うことで、地表面を柔らかく保ち、弾力を持たせる。これは、足首や膝の衝撃を緩和し、もし転倒しても大きな怪我をしにくいと言われている⁷²⁾。一方、この機能は人工芝にはない。また、スポーツ以外にも、芝地はレクリエーションの場を提供し⁸¹⁾、人々の憩いの空間となっている。

芝生は、サッカー、ゴルフ、ラグビー、野球など、様々なスポーツに利用されており、選手たちの体の負担を減らす点においても重要であるが、スポーツに関しては、芝生産業（ビジネス）として大変重要である。例えば、米国の芝生産業（芝生の管理や芝生生産など）は、数十億ドル規模の巨大産業に発展している。芝生の維持管理に関わるスタッフは芝生に関する幅広い知識、技術を有しており、専門職として認識されている¹⁾。

③生活環境保全機能

近年特に注目されている芝生の役割として、生活環境保全機能の重要性がある。その機能の一例としては、蒸散による微気象緩和機能、芝地が作り出すオープンスペースによる防災機能などが挙げられている⁷²⁾。芝生広場は、①や②で説明した修景機能や、レクリエーションの場の提供以外にも、オープンスペースとして重要な機能を持ち、火災や地震等の災害時には、避難地として利用されることから、人命を救う役割も担っている⁶⁰⁾。

また、微気象緩和機能では、特に都市環境で問題となっている、ヒートアイランド現象に効果があると言われており、屋上緑化において芝生を用いた場合、人工芝やスラブ面と比べ、最大約 20℃の表面温度の低下に寄与したとの報告がある⁹⁴⁾。

近年の気候変動による影響から、台風や集中豪雨が急増しており、都市型水害が多発し

ている。この問題を解決すべく、グリーンインフラの機能が注目されている²⁰⁾。都市型水害の発生時に、芝地は雨水を土壌中に浸透させる機能を有することからも、実際に公園等において、芝生がグリーンインフラとして利用されている³⁴⁾。

④土壌保全機能

地表面が裸地化した状態では、乾燥すると風により土壌粒子が飛散し（風食）、また、降雨時には水の流れとともに土壌を流し去ってしまう（水食）。芝生広場においては、芝生が地表面を密に覆うことから、風食、水食を防ぐ機能がある⁷²⁾。

芝生は、公園等におけるオープンスペース・レクリエーションの場（②の機能）、そして都市空間の癒し（①の機能）として常時利用されるとともに、風食や水食などの土壌侵食から土壌を保護する機能も併せ持つ（④の機能）。さらに、災害時には避難地として機能し（③の機能）、人命をも守る重要な役割を担っている。

このように、芝生は私たちの生活に深く根付いており、産業としても、人命を救う存在としても、まさに、人と切っても切れない関係を結んでおり、現代において芝生はなくてはならない存在となっている。



コウライシバ (*Zoysia matrella* Merr.)

※東京農業大学世田谷キャンパスにて筆者撮影

①修景機能

・特に都市空間における潤い

②運動・レクリエーション

・公園、サッカー、ゴルフ、ラグビー
・産業（ビジネス）としての役割も

③生活環境保全機能

・微気象緩和、震災時の避難地
・延焼防止、都市型水害緩和
・塩類集積緩和

④土壌保全機能

・豪雨、津波による水食の低減
・風食の防止

(新訂 芝生と緑化より一部改変)

図 1 私たちの生活空間における芝生の主な利用と機能

※日本芝草学会 編 (1988)「改定 芝生と緑化」より一部筆者が追記

1-1-2. コウライシバの特徴

芝生は、すべてイネ科（Gramineae または Poaceae）に属する種である。イネ科には 6 つの亜科があり、全部で 25 の連、600 の属、および 7500 の種で構成される¹⁾。しかし、このうち、刈込みや通行に耐えて永続的な群落を形成することのできる種、芝生として利用できる種は数十種に過ぎないと言われている¹⁾。

我が国において、広く利用されている芝生（*Zoysia* 属）は暖帯のやや乾燥した地を好んで生育し、アジアの熱帯から温帯にかけて、また、アフリカやオーストラリアの一部にも分布しており、およそ 22 種類が報告され、そのうち 6 種が日本で確認されている⁶⁹⁾。

これらの芝生は、我が国では「日本芝」とも称され、主にノシバ（*Zoysia japonica*）やコウライシバ（*Zoysia matrella* Merr.）が古くから植栽され、利用されてきた。平安時代には既に利用され始め、明治時代以降、公園造成の拡大とともに、その利用も増加した⁶⁹⁾。現在では、ソッド（マット状の芝）で一般に流通しており、ホームセンターや園芸店等でよく見かけるようになった。

特にコウライシバ（*Zoysia matrella* Merr.）は、国内、国外問わず、緑地やゴルフ場等に広く利用される最もポピュラーな芝生の 1 つである^{6) 61)}。

コウライシバの特徴はその環境ストレス耐性の高さである。強健ですり切れ耐性があり^{69) 1)}、耐暑性^{81) 1)}、耐乾性⁶⁹⁾、耐陰性^{81) 69) 1)}にも優れ、肥料要求度が低く⁶⁹⁾、病害耐性も有する⁶⁹⁾。このように、コウライシバは、様々な環境ストレス耐性を有しており、省管理による芝生の維持という点でも注目されている⁶⁹⁾。

上記の通り、コウライシバは様々な環境ストレス耐性に優れるが、最も注目すべき特徴はその耐塩性^{88) 59) 97) 35)}である。本種は、本来沿岸に自生することからも（図 2）^{68) 85)}、耐塩性との関係が示唆されている^{35) 7)}。現在までに、本種の耐塩性に関連する研究が行われており、塩ストレス対応のメカニズムの一部は既に解明されている（「1-1-6. コウライシバの塩ストレス対応」を参照）。

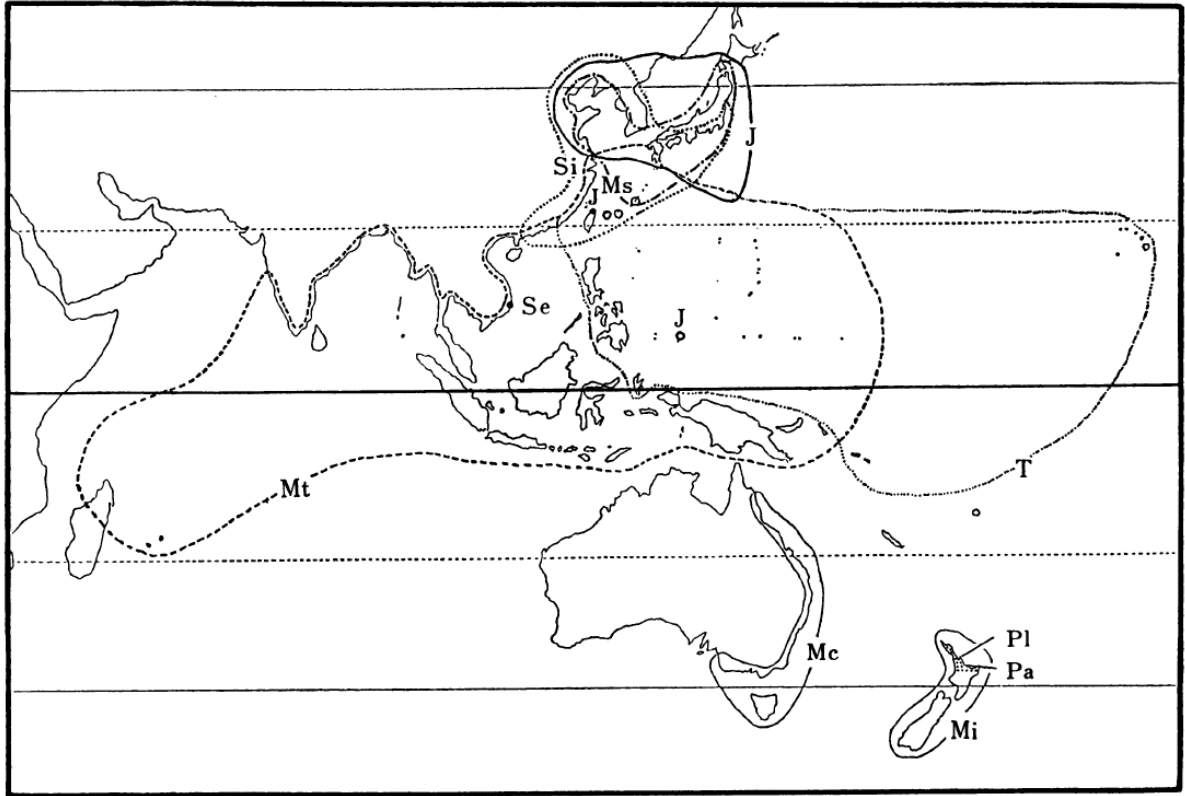


図 2 世界のコウライシバ (*Zoysia matrella* Merr.) の分布

※庄司 (1983) より引用

※Mt の点線内がコウライシバの分布を示す

1-1-3. 塩分適応性を有する芝生の必要性

芝草の健全な生育にとって最も重要な要素は、水である。水は芝草体内の 90%を占め、細胞の膨張の維持、細胞内における代謝、体内における栄養分や光合成産物の移動、光合成などに大変重要であり、不足すれば生育に影響を及ぼし、時には枯死を引き起こす¹⁾⁶⁹⁾。ところが、特に降水量の少ない地域において水資源は極めて貴重であり、近年では急激な都市化や干ばつの影響による水不足が深刻な問題となっている^{56) 53)}。このことから、緑化空間において、散水や灌漑用の水に淡水を利用することが難しくなっている^{53) 95) 82)}。

そこで、塩分が含まれるような、リサイクル水や、汽水、地下水など、低コストの水の利用が進められており、既に米国西部の多くの州では、法律上、塩分が含まれる水の利用がルール化されている^{53) 56) 10) 70)}。また、リサイクル水等の塩分が含まれる水の利用は、芝生の過剰な生育を抑え（刈込み作業の頻度が少なくなる）、雑草の防除にも繋がる（除草剤の節約）ことから、芝生管理において省管理化に寄与する^{58) 95)}と言われており、注目されている。このような背景から、緑地やゴルフ場では、塩分が含まれる水の利用に耐えられ、健全な生育を維持できる耐塩性が高い芝生が求められている^{58) 57)}。この課題に対して、筆者は、様々な環境ストレス耐性（「1-1-2. コウライシバの特徴」を参照）と、非常に高い耐塩性を有するコウライシバ（*Zoysia matrella* Merr.）が、このような高塩分環境下への緑化植物として大変有用であると注目した。

イネ科単子葉類でクローナル植物であるコウライシバは、C4植物にも分類されており、その光合成効率の高さや、要水量の低さからも⁶⁹⁾、有用であると考えられた。さらに、コウライシバは既に緑地やゴルフ場で利用されており、栽培や管理方法においても確立されている点^{69) 72)}からも対象植物として相応しいと考えた。

しかし、コウライシバを高塩分環境下において利用していくためには、本種の塩ストレス対応を明らかにする必要があると考えられた。本種の塩ストレス対応へのメカニズムの解明は、実際に塩分が含まれるような水を利用する緑地やゴルフ場における持続的な利用や管理において極めて重要であると考えられた。

1-1-4. 植物の塩ストレスと対応

植物が受ける塩ストレスとは、どのようなものなのであろうか。植物はなぜ塩分環境下では生育が低下して、最終的には枯死に至るのであろうか。植物が受ける塩ストレスと塩ストレスに対する植物の対応メカニズムの多くが科学的に明らかになっている。ここでは既に報告されている、両者の知見をまとめる。

1) 植物の塩ストレス障害

植物の塩ストレス障害は、大きく2つに分類されている。1つ目は吸水障害、2つ目はイオンストレスである^{33) 105)}。

吸水阻害は、土壌中に塩類 (Na^+ や Cl^- など) が集積して濃度が高くなり引き起こされる。植物の根は根圧 (浸透圧) により、土壌中から水を吸収しており、これが植物の吸水のメカニズムの1つである⁶⁵⁾。根では、土壌よりも根の浸透圧を高くすることで吸水を行っているが、塩類集積が発生すると、植物の根よりも土壌の浸透圧が高くなり、植物の吸水が阻害される¹⁰⁵⁾。

イオンストレスとは、ナトリウム障害とも呼ばれ¹⁰⁵⁾、主に、体内や細胞内の Na^+ が引き起こす。植物の根にはイオンの吸収を制御する機能が存在するが、過剰なイオンが土壌中に存在する場合、イオンの体内への侵入を止めることができない²⁴⁾。体内の Na^+ 濃度が高くなると、植物は恒常性を保とうとするため、 K^+ が拮抗的に排除されると言われている⁵²⁾⁹²⁾。また、 Na^+ が細胞内に侵入して濃度が高くなると、細胞内の K^+ や Ca^+ のバランスが崩れ、酵素タンパク質と膜機能に悪影響を及ぼす¹⁰⁵⁾⁹³⁾。

細胞内では、塩ストレスに抵抗する結果、活性酵素が生成され、核塩基の酸化による遺伝子障害の原因にもなっている⁵²⁾。他にも、細胞内の窒素代謝の阻害、エネルギー生産 (光合成) の阻害なども確認されており¹⁰⁵⁾、最終的には、細胞が死滅する⁹²⁾。

また、土壌中に特定のイオンが多くなると、他のイオンの吸収が妨げられる。特に土壌中に Na^+ が多い場合は、 K^+ 、 Mg^+ 、 Ca^+ の吸収が妨げられると言われており³³⁾、このことも、植物体内のイオンバランスを崩す原因と考えられている。

2) 植物の塩ストレス対応

耐塩性を有する植物の特徴として、主なものとして以下に示す植物の塩ストレス対応のメカニズムが知られている。ここでは①～⑤の各項目に関して現在報告されている植物の塩ストレス対応の知見をまとめる (図 3)。

①根からの Na^+ 排出

汽水域に生息しているヨシなどのイネ科植物は、根系部から塩分を吸収するが塩分を地上部には移動させず、根系部から土壌中へと排出する機能を有することが報告されている⁵²⁾⁴³⁾。ヨシ以外にも、マメ科のエンドウ (*Pisum sativum* L.)²⁴⁾ や、ヤナギ科のギンドロ (*Populus alba*)¹⁰⁵⁾ についても同様のメカニズムが報告されている。

②塩類腺からの Na^+ 排出

根から吸収された Na^+ は、導管を通り、最終的には葉に到達すると言われている²⁴⁾⁴⁰⁾。 Na^+ を含め、全てのイオンは、植物体内の水により運ばれる。垂直方向 (根から葉身部) のイオンの移動は、蒸散流を駆動力として行われる。つまり葉に存在する気孔から水が蒸散する際に、導管内の水が引き上げられる力 (-28 気圧にも達する) を利用して行われる⁷⁹⁾⁴⁷⁾。芝草もこの蒸散流により、吸水とイオンの移動を可能にしている⁶⁹⁾。

つまり、塩分環境下において、 Na^+ は葉に蓄積しやすい特徴があるが、この Na^+ を葉身部に存在する塩類腺と呼ばれる特異な器官から体外へ排出するメカニズムが報告されている^{92) 105) 52)}。特にマングローブ類の研究が多く行われているが^{105) 33) 93)}、イネ科植物でも研究事例が多数報告されている^{52) 74)}。

葉身部に存在する塩類腺はその数が多ければ、より多くの塩分の排出が可能であり、それが植物の耐塩性と関係していると言われている^{55) 53) 52)}。イソマツ属の *Limonium bicolor* (Bag.) Kuntze と、イネ科シオギリソウ属の *Aeluropus littoralis* (Wild) Parl に塩分施用を行った実験では、葉身部の塩類腺数が増加し、さらに塩分排出量も増加したとの報告がある^{36) 98)}。

③液胞への Na^+ 隔離

塩分環境下において、葉身部に Na^+ が蓄積することは既に説明したが、葉身部の Na^+ を細胞内の液胞に隔離することで、細胞質内の塩ストレスを回避していることが明らかとなっている^{93) 105) 27)}。細胞内の細胞質には、核や、葉緑体、ミトコンドリア等の細胞小器官（オルガネラ）が存在しており、植物の生存のために、物質の合成やエネルギーの生産を絶えず行っている⁶⁵⁾。

細胞質内には、最も大きな細胞小器官である液胞も存在しており、細胞の90%を占める場合もあると言われ、その働きは、浸透圧の調整や膨厚の維持である⁶²⁾。耐塩性植物の多くは、液胞中に Na^+ を隔離することで、細胞質中の細胞小器官の活動が塩ストレス障害により妨げられないようにすると同時に、液胞中の Na^+ を浸透圧調節や膨厚維持にも利用していると言われている^{93) 40)}。

液胞への Na^+ の取り込みは、液胞の細胞膜にある、 Na^+/H^+ アンチポーターとそのエネルギー源である、 $\text{Na}^+-\text{ATPase}$ が関与しており、これらの存在が液胞への Na^+ の取り込み、そして植物の耐塩性に影響している^{11) 27)}。

④細胞質の浸透圧調節

液胞に取り込んだ Na^+ は、液胞中の浸透圧を高める。このことにより液胞内と細胞質の浸透圧のバランスが崩れる²⁷⁾。液胞内の浸透圧が細胞質より高い場合、細胞質内の多くの水が液胞へと移動してしまい、細胞質内では代謝が妨げられ最終的には細胞の破壊等を招く。

そこで、細胞質内も Na^+ を取り込んだ液胞と同程度の浸透圧を維持する必要がある。耐塩性を有する植物は、適合溶質と呼ばれる、毒性が低い浸透圧調整物質（グリシンベタイン、プロリン、ショ糖、ソルビトール、マニトールなど）を細胞質内に作り出すことで、細胞質内の浸透圧を維持している^{27) 52) 92) 105)}。

⑤落葉（葉の脱落）

古い細胞ほど液胞へ多くの Na^+ を移動、隔離しており、それに応じて液胞が大きくなると言われている⁹³⁾。そして最終的には葉身部は枯死して落葉（脱落）するが、この落葉した葉身部（枯死葉）に多くの塩分が含まれているとの報告がある^{83) 105)}。つまり、大量の塩分が蓄積した葉身部を落葉・脱落させることで、個体から塩分を切り離し、塩ストレスの回避を行っている^{83) 105)}。

ヤナギ科のギンドロ（*Populus alba*）について大変興味深い研究が報告されている。高塩分環境下の実験区のギンドロの枯死葉と枯死した枝に多くの塩分が含まれており、低塩分環境下の実験区の約2倍の塩分濃度であったという結果が示されている³⁰⁾。

上記①～⑤の塩ストレスへの植物の対応から推察すると、体内に吸収された塩分の多くは、細胞内の特別な反応や代謝で消えて無くなってしまいうのではなく、塩分を体外へ排出することや（①、②、⑤）、液胞へ隔離する（③、④）ことで対応しているとまとめることができる。つまり、植物は体内において塩分を移動（排出や蓄積）させることで、塩ストレスに対応していると考えられた。

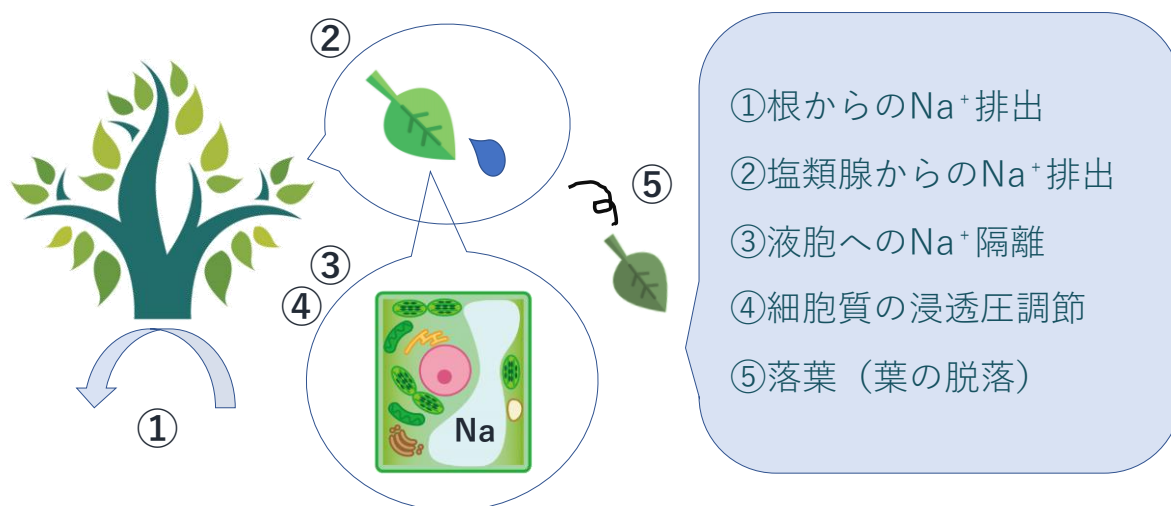


図 3 体内における塩分の移動と植物の塩ストレス対応の模式図

1-1-5. クローナル植物の環境ストレス対応

コウライシバはクローナル植物である。クローナル植物の繁殖方法として、親株から匍匐茎（地下茎も含む）を伸ばすことで、土壌表面に接地した匍匐茎の節から発根させ、そして地上部を発達させることで、新たな株（子株）を生み出すようにして、栄養繁殖を行う特徴を有する^{77) 32)}。1つの種子より発芽して生育した親株と栄養繁殖により増えた子株やその子株（孫株）、つまり同じ遺伝子を持つ株のまとまりをジェネットと呼ぶ。また新たに生み出された株をラメットと呼ぶ^{32) 75)}。

クローナル植物は、ラメット間で繋がった匍匐茎を介して物質のやりとりが行われており、これを生理的統合と呼ぶ^{91) 77)}。例えば、イネ科ササ属のチマキザサ (*Sasa palmata*) は、遮光環境下のラメット（低日射量、高水分量）から無遮光環境下のラメット（高日射量、低水分量）に水が送られ、逆に、無遮光環境下のラメットから遮光環境下のラメットに光合成産物が送られるといった、ラメット間の双方の物質移動が報告されている（図4⁷⁷⁾）。このように、ラメット間の物質移動は、不均一な環境（異なる生育環境における、水分量、日射量や土壌中の栄養塩等の濃度のばらつき）において、ラメットの生存に寄与していると言われている⁹¹⁾。

植物の生育環境は、常に不均一である³¹⁾。季節や日照、降雨など、気象条件が常に変化しており、この気象条件の変化が植物の生育にとって都合の悪い状況を作り出していると言われている⁶⁹⁾。クローナル植物は、このような不均一な環境に適応するようにして進化してきたと言われている³²⁾。クローナル植物の生理的統合の研究では、他にも、窒素、リン酸、カリ等の栄養塩^{17) 8) 50) 87)}、水分^{51) 2) 44) 109)}、光合成産物^{49) 78) 107) 5)} など、ラメット間で、多くの物質が移動していることが明らかとなっている。

生理的統合を利用したラメット間の塩ストレス対応について興味深い研究が行われている。塩分を含まない水のみを与えたラメットから、塩分を施用したラメットへ水が送られ、塩分環境下のラメットの塩ストレスを緩和したとの報告がある^{49) 18) 86) 80)}。さらに、塩分を施用したラメットから、水のみを与えたラメットへ Na^+ が送られることで、塩分環境下のラメットの塩ストレスが緩和されたとの報告もある¹⁰⁰⁾。

「1-1-4. 植物の塩ストレスと対応」では、植物は体内において塩分を移動（排出や蓄積）させることで、塩ストレスに対応していると説明したが、上記の例のように、クローナル植物の場合は、ラメット間で物質（塩分や水分）を移動させることで塩ストレスを緩和していると考えられることができる。つまり、ラメット間の水や塩分の移動も、植物の耐塩性を高めるうえで重要なはたらきを担っていると考えられる。



チマキザサ (*Sasa palmata*)

生理的統合
(斎藤ら 2007)

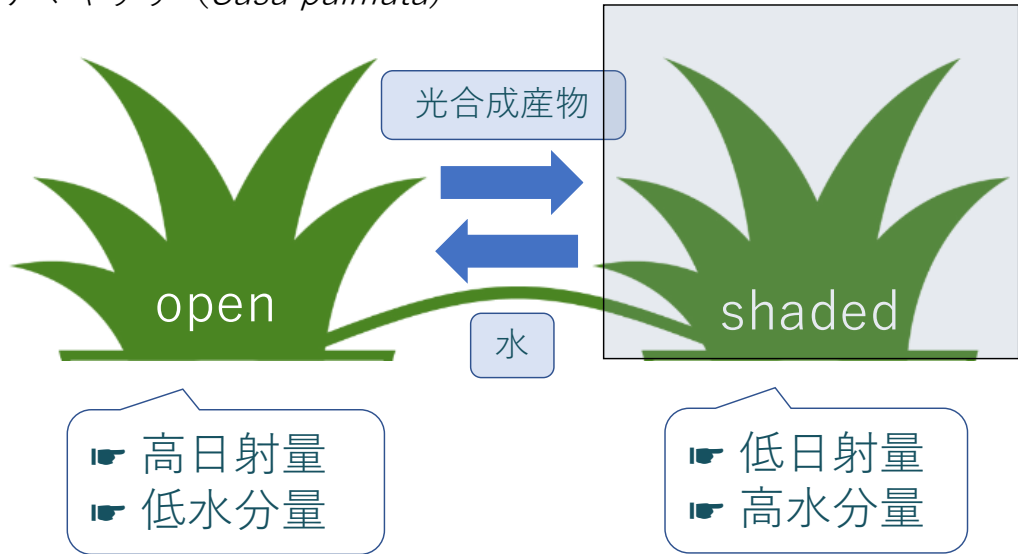


図 4 クローナル植物のラメット間における生理的統合（物質移動）の模式図

※斎藤ら（2007）を参考とした

1-1-6. コウライシバの塩ストレス対応

「1-1-4. 植物の塩ストレスと対応」で、①～⑤（図 3）の塩ストレス対応のメカニズム、つまり塩分の移動が植物の塩ストレス対応として極めて重要であることを説明した。高い耐塩性を有するコウライシバの塩ストレス対応に関する研究では、「1-1-4. 植物の塩ストレスと対応」で説明した植物の塩ストレス対応のメカニズム①～⑤（図 3）のうち、②塩類腺からの Na^+ 排出、③液胞への Na^+ 隔離、④細胞質の浸透圧調節の 3 つについて既に報告されている。

1) 塩類腺からの Na^+ 排出

塩類腺からの Na^+ 排出に関する研究は、特にイネ科植物で盛んに行われており、ギョウギシバ (*Cynodon dactylon*)^{10) 59) 55)}、ローズグラス (*Chloris gayana* Kunth.)^{37) 74)}、サワズメノヒエ (*Paspalum vaginatum*)^{10) 59)}、ムカデシバ (*Eremochloa ophiuroides*)⁵⁹⁾、イヌシバ (*Stenotaphrum secundatum*)⁵⁹⁾、ソナレシバ (*Sporobolus virginicus* (L.) Kunth)⁸⁴⁾ などの植物で研究事例がある。

コウライシバの塩類腺と塩分排出に関する研究も多く行われている。コウライシバ (*Zoysia matrella* Merr.) は、その他の *Zoysia* 属芝草と比較して、葉身部に存在する塩類腺が多いことが分かっている^{102) 67)}。さらに、葉身部の裏面（背軸面）より、表面（向軸面）で塩類腺の数が多いとの報告がある¹⁰²⁾。

コウライシバの塩分排出特性として、塩類腺数と、塩分排出量の関係が示唆されている^{10) 39)}。*Zoysia* 属 5 種、57 品種について塩分施用を行った実験では、葉身部内の汁液の Na^+ 濃度が高いほど、葉身部のコンディションが低下したとの報告があり⁵⁸⁾、塩類腺からの塩分排出が塩ストレス緩和に影響していると言われている。つまり、塩類腺が多ければ多いほど、多くの塩分を排出することができ、そのことが葉身部の塩ストレスの緩和に影響すると考えられている。

また、コウライシバは、塩類腺から塩分を多く排出することが可能な種であると言われている^{102) 10)}。 NaCl 溶液による水耕栽培 (12g/L NaCl) 環境下で 7 日間処理を行ったコウライシバの葉身部の Na^+ 含有量は 7.6mg/g DW であったのに対して、 Na^+ 排出量は 16.8mg/g DW であり、 Na^+ 排出量は Na^+ 含有量の約 2 倍高い値であった報告⁵⁴⁾ や、砂耕栽培 (35g/L NaCl) 環境で、5 日間処理を行ったコウライシバの Na^+ 含有量は 3.9mg/g DW、 Na^+ 排出量は 8.5mg/g DW であった報告¹⁰²⁾ からも、コウライシバは塩類腺から多くの塩分を排出することで塩ストレスを緩和していると考えられている。

2) 液胞への Na^+ 隔離

「1-1-4. 植物の塩ストレスと対応」で、根から吸収された Na^+ は導管を通り最終的には葉に到達すると説明したが^{24) 40)}、コウライシバも地上部（葉身部）に蓄積した Na^+ を液胞

に隔離するメカニズムを有している。

Zoysia 属の液胞への Na^+ の取り込みに関するメカニズムは、液胞の生体膜に存在する、 Na^+/H^+ アンチポーター (Na^+/H^+ antiporter) が関係していると言われている^{16) 11)}。コウライシバの液胞への Na^+ 隔離のメカニズムを利用した大変興味深い研究が行われている。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) にコウライシバの生体膜機能の一部を組み替えたところ、塩分環境下の実験において、組み換えを行ったシロイヌナズナは、組み換えを行っていないもの比べて、葉身部に Na^+ や K^+ を多く蓄積して、耐塩性、耐乾性が大幅に向上したとの報告がある¹¹⁾。

上記の報告から、液胞への Na^+ の蓄積量は、葉身部の Na^+ 含有量に反映されると推察される。コウライシバへの塩分施用の実験では、地下部より、地上部（葉身部）で塩分濃度が高いとの報告があり^{10) 99)}、これらの報告からも葉身部における液胞への Na^+ の隔離、蓄積が本種の塩ストレス対応の1つであると考えられた。コウライシバの地上部における塩分の移動に関する実験では、 NaCl 溶液による水耕栽培実験で、約 15.0mg/g DW (15g/L NaCl 溶液で 21 日間栽培)⁹⁹⁾、 7.0mg/g DW (12g/L NaCl 溶液相当で 7 日間栽培)⁵⁹⁾ という結果が報告されている。

3) 細胞質の浸透圧調節

「1-1-4. 植物の塩ストレスと対応」でも説明した通り、耐塩性を有する植物は、細胞内の液胞に Na^+ を蓄積すると同時に、細胞質内において浸透圧調整物質を生産することで浸透圧を調整している。*Zoysia* 属芝草に塩ストレスを与えた実験では、細胞質中のプロリンや、グリシンベタインの濃度が高くなるとの報告がある^{45) 39) 95)}。塩分施用を行ったコウライシバの葉身部では、グリシンベタインの濃度が高まり、同時に浸透圧も増加したとの報告がある⁵⁹⁾。さらに、塩分施用環境下のコウライシバの葉身部では、特にプロリンの急激な増加が見られ、コントロール区と比較して、50 倍以上の濃度が確認されている⁴⁾。

以上から、コウライシバの塩ストレス対応のメカニズムは、土壌から吸収した塩分を地上部まで移動させ、その後、塩類腺からの塩分の排出や液胞への塩分の隔離、細胞質内の浸透圧調節の3通りの塩ストレス対応を同時に行うことで、耐塩性を高めていると考えられる。

1-1-7. コウライシバのラメット間の水分、塩分の移動

「1-1-5. クローナル植物の環境ストレス対応」で、クローナル植物の塩ストレス対応は、ラメット間における生理的統合の働きであること、つまり、塩分や水分の移動がクローナル植物の耐塩性を高めるために重要であることを説明した。しかし、コウライシバに関しては、ラメット間の水分の移動に関して研究事例は報告されておらず、また、コウライシバのラメット間の塩分の移動は、以前筆者が行った実験以外報告例が無い。

ラメット間の水分の移動に関して、他のクローナル植物の研究事例を報告する。水分の移動は、コウライシバと同じイネ科に属するバッファローグラス (*Buchloe dactyloides*) で研究されている。区切られた実験用ポットに、匍匐茎で繋がったバッファローグラスのラメットを生育させ、片方のラメットを乾燥状態にしたところ、湿潤環境下のラメットから、乾燥環境下のラメットへ水が送られたとの報告がある⁹⁰⁾。

他のクローナル植物に関して、同様の実験方法により、ラメット間の生理的統合、即ち、ラメット間の水分の移動に関する研究が行われている。カヤツリグサ科のスゲ属 2 種 (*Carex flacca*, *Carex hirta*)^{12) 13)}、ヤナギ科のバルサムポプラ (*Populus balsamifera* L.)²⁾ や、ハマミズナ科の *Carpobrotus edulis*⁴⁴⁾、ヒユ科のナガエツルノゲイトウ (*Alternanthera philoxeroides*)¹⁰⁶⁾ など、他のクローナル植物でも、ラメット間における水の移動が報告されている。また、ラメット間の水の移動は匍匐茎 (地下茎を含む) の伸長方向に影響されると言われ、主に、親ラメットから、子ラメットへ水が送られると言われている⁷⁷⁾。

コウライシバのラメット間の塩分の移動に関しては、以前筆者が行った実験を報告することとする⁸⁹⁾。3つの実験用ポットを並べ (Basal、Intermediate、Apical)、それぞれのポットに匍匐茎を繋げたまま、コウライシバを生育させ、中央 (Intermediate) のポットのみ NaCl 溶液を施用した。その結果、基部 (Basal)、先端部 (Apical)、のどちらのラメットも、コントロール区 (中央のポットに水道水を施用) と比べて、体内塩分濃度に有意差が無かった。つまり、Intermediate (NaCl 溶液を施用した中央のポットのラメット) から、Basal、Apical の両方向に匍匐茎を介して塩分が移動していないことが明らかとなった⁸⁹⁾。

1-2. 研究目的

「1-1-4. 植物の塩ストレスと対応」で説明した通り、植物は塩ストレスへの対応として、塩分の体外への排出や、液胞への隔離を行うことで対応している。つまり、体内における塩分の移動が、植物の塩ストレス対応として非常に重要であると考えられる。さらに、「1-1-5. クローナル植物の環境ストレス対応」で説明したように、クローナル植物においては、ラメット間の水分や塩分の移動が植物の耐塩性を高める上で重要な塩ストレス対応であることを説明した。

先述した通り、コウライシバは、塩類腺からの塩分の排出、液胞への塩分の蓄積、細胞質内の浸透圧調節を行うことで塩ストレスに対応している。さらに、クローナル植物である本種の特徴から、ラメット間の塩分や水分の移動も含めた体内の物質の移動が本種の耐塩性の向上に大きく影響していると考えられた。

このような植物体内における塩分や水分の移動特性の解明は、コウライシバの塩ストレス対応を理解する上で非常に重要であると考えられる。しかし、コウライシバの水分や塩分の移動に関して、未だに明らかになっていない点が多い。

そこで本研究では、葉身部における塩分の排出や、液胞内への塩分の隔離など、根から

吸収した塩分の地上部（葉身部）への移動特性に関する研究を「垂直方向の塩分の移動」（実験 A）とし、また、ラメット間の水分や塩分の移動に関する研究を「水平方向の水分と塩分の移動」（実験 B）として実験を行うことで、本種の垂直方向および水平方向の水分や塩分の移動特性を把握することとした。さらに、上記の実験により得られた結果や考察から、コウライシバの塩ストレス対応を「体内の物質移動特性」の視点から明らかにすることを目的とした。

本研究の成果は、リサイクル水等の塩分が含まれる水を利用する緑地やゴルフ場へのコウライシバの利用や持続的な管理のために極めて重要であると考えられた。具体的には、本種の体内の物質移動特性や塩ストレス対応を応用した植栽方法や管理方法（塩分を含む水の散水作業を含む）に極めて有用であると思われた。

また、得られた水や塩分の移動特性の知見は、本種の耐塩性種の育種や品種改良^{57) 67)}、植物の耐塩性メカニズムの解明、クローナル植物の環境ストレス対応に関する研究の発展、さらには、本種の耐塩性メカニズムを利用した塩類集積の緩和²⁷⁾などにも広く応用ができると考えた。

1-2-1. 垂直方向の塩分の移動特性の把握

コウライシバの塩ストレス対応メカニズムの1つとして、地上部（葉身部）に塩分を移動させて、液胞内に塩分を隔離する特徴が報告されている（1-1-6. コウライシバの塩ストレス対応）。従って、地上部（葉身部や直立茎）および地下部（根系部や匍匐茎部）の塩分濃度の把握が、垂直方向の塩分の移動量や、液胞へ隔離された塩分量の把握に大変重要であると考えられた。

しかし、コウライシバの耐塩性や塩分移動の研究では、実験期間が数日～数週間程度の短い期間であることが多く^{59) 99)}、長期間のストレス対応を検証した事例は少ない。長期間にわたり、継続的にコウライシバを維持、管理することを前提としたゴルフ場や緑地においては、短期間の実験では、本種の耐塩性メカニズムの把握には不十分であると考えた。また、半年を超えるような長期間の塩分施用の実験^{10) 4)}も行われているが、葉身部、匍匐茎部、根系部の Na⁺、Cl⁻濃度や各部の成長量（乾燥重量）を詳しく報告した研究は見当たらない。

そこで、「垂直方向の塩分の移動」（実験 A）では、長期間にわたりコウライシバに4段階の異なる濃度の NaCl 溶液を施用して、各部（葉身部、匍匐茎部、根系部）の Na⁺、Cl⁻濃度や、成長量を測定することで、本種の垂直方向への塩分移動特性と本種の耐塩性の把握を行うこととした（実験 A-1）。

また、*Zoysia* 属芝草に塩ストレスを与えた実験では、細胞質中のプロリンや、グリシンベタインの濃度が高くなり、細胞質内の浸透圧を調整していることが明らかとなっている（1-1-6. コウライシバの塩ストレス対応）。一方、他の植物では体内の糖分（グルコース）

の濃度を高めることで浸透圧調整を行っているとの報告もあるが^{99) 52) 21)}、コウライシバでは、塩ストレスと体内糖分（グルコース）濃度の関係性は報告されていない。このことから、本研究では、塩分環境下のコウライシバの各部（葉身部、匍匐茎部、根系部）の糖分（グルコース）含有量の測定も併せて行うことで、体内の各部における塩分含有量と糖分含有量の関係性を明らかにすることとした（実験 A-1）。

コウライシバは葉身部に存在する塩類腺から塩分を排出することで、塩ストレスに対応していることは「1-1-6. コウライシバの塩ストレス対応」で説明した。しかし、先行研究^{54) 102)}では、水耕栽培環境や、砂耕栽培環境（毎日 NaCl 溶液を施用）などの、高水分環境下で実験を行う場合が多い。これらの実験環境は、実際の緑地やゴルフ場の環境とは大きく異なると考えられた。

さらに、4段階の異なる濃度の塩分施用環境下におけるコウライシバ葉身部の塩類腺数、塩類腺面積、イオン排出量、イオン含有量を詳しく報じた研究は見当たらない。そこで、「垂直方向の塩分の移動」（実験 A）の2点目の実験内容として、コウライシバに4段階の異なる濃度の NaCl 溶液を施用（土壌表面に乾きが見られた時に施用）して、葉身部における塩類腺数、塩類腺面積、イオン（Na⁺、Cl⁻、K⁺）排出量およびイオン含有量の測定を行うことで、本種の垂直方向への塩分移動特性、特に、塩分の排出特性を明らかにすることとした（実験 A-2）。さらに、塩ストレスにより細胞内から排除されると考えられている K⁺^{52) 92)}について併せて測定することとした。

1-2-2. 水平方向の水分と塩分の移動特性の把握

クローナル植物は、ラメット間で水分や塩分を移動させることで、塩ストレスを緩和している（1-1-5. クローナル植物の環境ストレス対応）。しかし、既に述べた通り、コウライシバのラメット間の水分や塩分の移動に関する報告は極めて少ない。

ラメット間のイオンを含めた全ての物質の移動は、水の移動により行われる⁷⁷⁾。つまり、塩分の移動を明らかにするためには、まず、水分がラメット間でどのように移動しているかを把握する必要がある。また、ラメット間の物質移動は、匍匐茎の伸長方向により、その移動特性が異なると言われており、匍匐茎の伸長方向（先端部）へ主に物質の移動が行われると言われていたが^{87) 31)}、植物の種類や、移動する物質の種類により、その移動方向や移動量は様々である^{77) 75)}。また、ラメット間の物質移動に関する既往研究では、ラメット間の物質移動特性を、成長量のみで判断した研究が多く、実際の物質移動量と成長量を併せて論じた研究は非常に少ない²⁹⁾。

そこで、「水平方向の水分と塩分の移動」（実験 B）では、水分、そして塩分の両者のラメット間の移動特性を把握するため、筆者が行った実験⁸⁹⁾を元に実験内容を組み立てた。具体的には、3つの実験用ポットを並べ、それぞれのポットに匍匐茎を繋げたまま、コウライシバを生育させ、一部のラメットのみ、水分制限（実験 B-1）や、塩分施用（実験

B-2) 処理を行い、Basal (基部)、Intermediate (中間部)、Apical (先端部)、SNTS (まだ発根をしていない匍匐茎) の塩分濃度や水分量を測定することで、コウライシバのラメット間の水分や塩分の移動量を測定した。さらに、各ラメットの部位ごと (健全葉、枯死葉、匍匐茎、根系) の塩分量や水分量も調べることで、より詳細にコウライシバの物質移動特性を検証することとした。

以上のように、本研究では「垂直方向の塩分の移動」(実験 A) により主に垂直方向、つまり、根系部から葉身部までの塩分の移動や塩類腺からの塩分排出特性を明らかにする実験を行った (実験 A-1、実験 A-2)。また、「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B) により、ラメット間の水分や塩分の移動の特性を明らかにする実験を行った (実験 B-1、実験 B-2)。本研究では垂直方向および水平方向の物質移動特性を明らかにすることで、体内物質移動の視点から見た、コウライシバの塩ストレス対応の一端を明らかにすることを目的とした。

1-3. 研究のフロー

本研究の流れ（フロー）を以下の図にまとめた（図 5）。

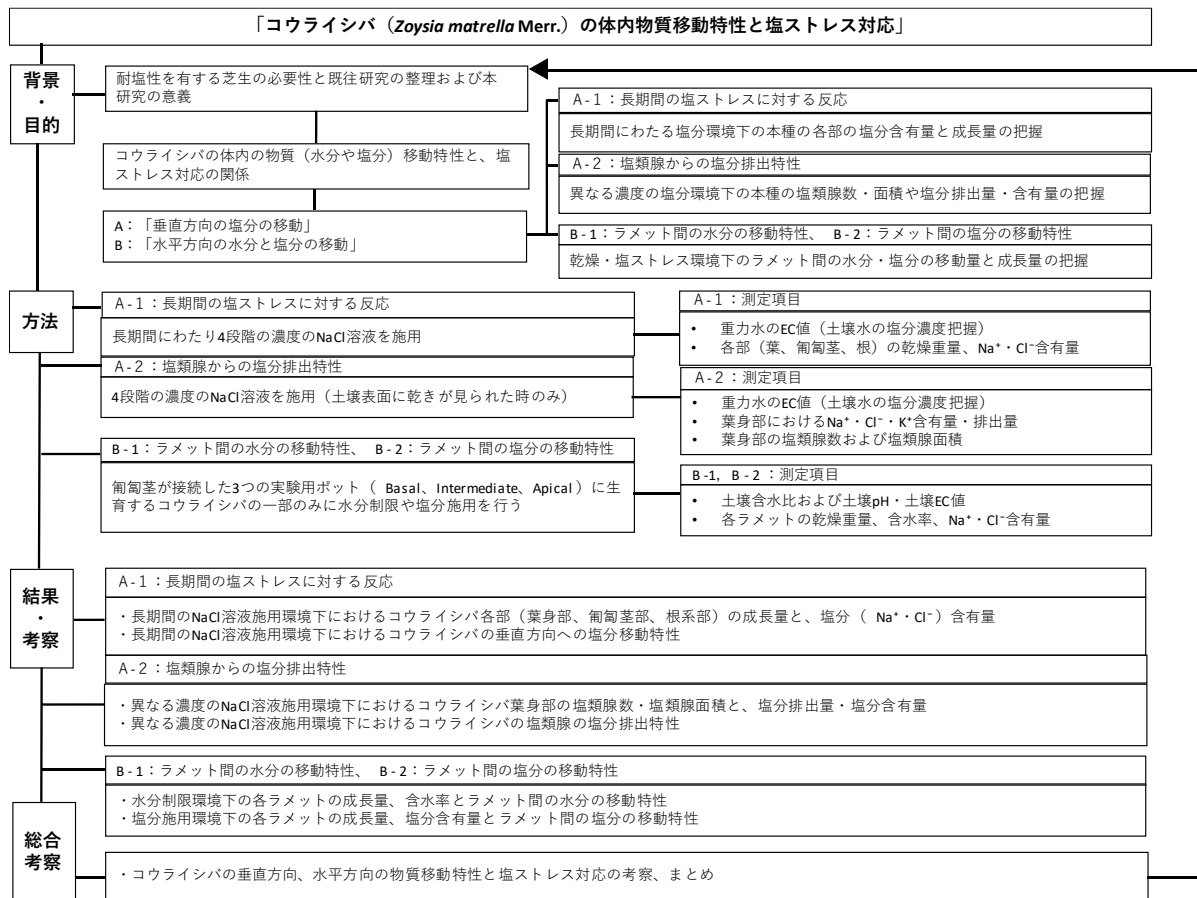


図 5 本研究の流れ（フロー）

1-4. 本研究で扱う用語

本研究で扱う主な用語の一覧を表 1 にまとめた。なお、本論文の図や表では、英語表記が含まれるため、以下の表に併わせて記載した。

表 1 本研究で扱う主な用語

コウライシバ (<i>Zoysia matrella</i> Merr.) : イネ科多年生植物。分類学上、コウシュンシバとも呼ばれる。本研究では通称名の「コウライシバ」で統一した。
葉身部 : 葉を指す。本研究では直立茎部を含む (図表中でLeavesと表記の場合もあり)。
向軸面 : 葉身部の表面を指す。茎頂分裂組織に向いている側を向軸面 (表面) と呼ぶ (図表中でAdaxial sideと表記の場合もあり)。
背軸面 : 葉身部の裏面を指す。茎頂分裂組織に背いている側を背軸面 (裏面) と呼ぶ (図表中でAbaxial sideと表記の場合もあり)。
匍匐茎部 : 匍匐茎を指す。本研究では地下茎部を含む (図表中でRhizomesと表記の場合もあり)。
根系部 : 根を指す (図表中でRootsと表記の場合もあり)。
健全葉 : 葉身部で、緑の状態を保ち枯損が確認されない葉 (図表中でGreen Leavesと表記の場合もあり)。
枯死葉 : 葉身部で、茶色に変色し枯損が確認された葉 (図表中でBrown Leavesと表記の場合もあり)。
新鮮重量 : 乾燥させる前の植物の重さ (水分を含んだ重さ)。(図表中ではFWと表記)。
乾燥重量 : 乾燥させた後の植物の重さ (図表中ではDWと表記)。
枯死率 : 健全葉および枯死葉の乾燥重量に占める、枯死葉の割合。
含水率 : 新鮮重量および乾燥重量から計算した植物体内に含まれる水分量の割合。
塩類腺 : 葉身部表面に存在する、体内の過剰な塩分等を排出する器官。
イオン排出量 : 葉身部 (塩類腺) から排出されたイオン量 (図表中でExcretionと表記の場合もあり)。
イオン含有量 : 植物体内に含まれるイオン量 (図表中でAccumulation、Contentと表記の場合もあり)。
イオン排出率 : イオン含有量およびイオン排出量に占める、イオン排出量の割合。
ラメット : 栄養繁殖により生まれた新しい個体。
生理的統合 : ラメット間で行われる匍匐茎を介した水や栄養塩の移動。
Basal : 基部のラメット、または基部を指す。
Intermediate : 中間部のラメット、または中間部を指す。
Apical : 先端部のラメット、または先端部を指す。
SNTS : Stolon Not Touching The Soilの略称。地表面に接触しておらず発根していない匍匐茎。本研究では、Intermediateから伸長したものを指す。
Intact : ラメット間 (3ポット間) の匍匐茎を接続したままにした実験区 (生理的統合が行われる状態)。
Sever : ラメット間 (3ポット間) の匍匐茎を切断した実験区 (生理的統合が行われない状態)。
不均一な環境 : それぞれの植物の生育環境で、土壌水分量、日射量や、土壌中の栄養塩の濃度等が不均一な環境。
土壌含水比 : 生土重および乾土重の値から計算した土壌中に含まれる水分量の割合。
Na⁺ : ナトリウムイオン
Cl⁻ : 塩化物イオン
K⁺ : カリウムイオン
塩分 : 本研究では、塩化ナトリウム (NaCl) を指す。また、Na ⁺ 、Cl ⁻ の両イオンを指す場合や、Na ⁺ のみを指す場合もある。

※順不同

2. 実験内容および方法

本研究では、主に2項目の実験[「垂直方向の塩分の移動」(実験A)、「水平方向の水分と塩分の移動」(実験B)]を行うことで、コウライシバの垂直方向の塩分の移動特性およびラメット間の水分や塩分の移動特性を明らかにすることとした。

ここでは、「垂直方向の塩分の移動」(実験A)と、「水平方向の水分と塩分の移動」(実験B)の実験内容や分析内容の概要を説明する。

実験Aでは、「長期間の塩ストレスに対する反応」(実験A-1)と、「塩類腺からの塩分排出特性」(実験A-2)の2項目の実験を行い、また、実験Bに関しては、「ラメット間の水分の移動特性」(実験B-1)と、「ラメット間の塩分の移動特性」(実験B-2)の2項目の実験を行った(図5)。より詳細な実験内容は、「2-2. 実験方法」において説明する。

2-1. 実験内容

以下に実験Aおよび実験Bの実験内容について説明する。

2-1-1. 「垂直方向の塩分の移動」(実験A)

垂直方向の塩分の移動特性について、「長期間の塩ストレスに対する反応」と「塩類腺からの塩分排出特性」の2点を明らかにすべく実験を行った。実験内容を以下に示す。

1) 長期間の塩ストレスに対する反応(実験A-1)

長期間(191日間)にわたり、コウライシバに4段階(0g/L(Control)、7.5g/L、15g/L、30g/L)の濃度のNaCl溶液の施用を行い、以下の項目について測定を行った(図6)。

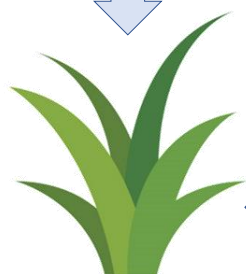
- 1 重力水のEC値
- 2 各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)の乾燥重量(成長量)
- 3 各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)のNa⁺、Cl⁻含有量
- 4 各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)のグルコース含有量

2) 塩類腺からの塩分排出特性(実験A-2)

35日間にわたり、コウライシバに4段階(0g/L(Control)、7.5g/L、15g/L、30g/L)の濃度のNaCl溶液を施用(土壌表面に乾きが見られた時に施用)して、以下の項目について測定を行った(図7)。

- 1 重力水のEC値
- 2 葉身部の乾燥重量および枯死率
- 3 葉身部におけるNa⁺、Cl⁻、K⁺の含有量
- 4 葉身部におけるNa⁺、Cl⁻、K⁺の排出量
- 5 葉身部の塩類腺数と塩類腺面積

4段階の濃度の NaCl溶液



コウライシバ
(*Zoysia matrella* Merr.)

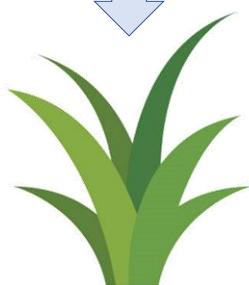
「長期間の塩ストレスに対する反応（実験A-1）」

測定項目

- 1 重力水のEC値
- 2 各部（葉身部、匍匐茎部、根系部）の乾燥重量（成長量）
- 3 各部（葉身部、匍匐茎部、根系部）のNa⁺、Cl⁻含有量
- 4 各部（葉身部、匍匐茎部、根系部）のグルコース含有量

図 6 「長期間の塩ストレスに対する反応」（実験 A-1）の実験内容の模式図

4段階の濃度の NaCl溶液



コウライシバ
(*Zoysia matrella* Merr.)

「塩類腺からの塩分排出特性（実験A-2）」

測定項目

- 1 重力水のEC値
- 2 葉身部の乾燥重量および枯死率
- 3 葉身部におけるNa⁺、Cl⁻、K⁺の含有量
- 4 葉身部におけるNa⁺、Cl⁻、K⁺の排出量
- 5 葉身部の塩類腺数と塩類腺面積

図 7 「塩類腺からの塩分排出特性」（実験 A-2）の実験内容の模式図

2-1-2. 「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B)

水平方向の水分と塩分の移動特性を検証するため、3つの実験用ポットを並べ、それぞれのポットに匍匐茎を繋げたまま、コウライシバを生育させた実験区を準備し(図 8)、その後、Basal(基部)、Intermediate(中間部)、Apical(先端部)のラメットに関して、一部のラメットにのみ処理を行うことでラメット間や SNTS (Intermediate から伸長したまだ発根をしていない匍匐茎)の水分や塩分の移動特性を把握することとした。また、全てのラメットに水道水を施用したコントロール区(Control)も併せて設置した。

「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B)では、各ラメット間(Basal、Intermediate、Apical)および SNTS の物質移動特性を把握するため、ラメット間の匍匐茎を切断して物質の移動が行われないようにした実験区(Sever)とラメット間の匍匐茎を接続したままにしてラメット間の物質移動が行われるようにした実験区(Intact)を設置して、両者の体内物質や成長量を比較することで、ラメット間の物質移動特性を把握することとした(図 9)。

1) ラメット間の水分の移動特性(実験 B-1)

ラメット間の水分の移動特性を明らかにするため、Intermediate のラメットに 300ml の水道水を与え、Basal、Apical に水分制限処理(50ml~無灌水)を与えた(水分制限区)。49 日間の処理の後、以下の項目について測定を行った(図 10)。

1 土壌含水比

2 各ラメット(Basal、Intermediate、Apical、SNTS)の乾燥重量(成長量)

3 各ラメット(Basal、Intermediate、Apical、SNTS)の含水率

※各ラメット(Basal、Intermediate、Apical、SNTS)に関しては、各部(健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部)に分けてそれぞれ測定した。

2) ラメット間の塩分の移動特性(実験 B-2)

ラメット間の塩分の移動特性を明らかにするため、Intermediate のラメットに 300ml の NaCl 溶液(15g/L)を与え、同時に Basal、Apical に 300ml の水道水を与えた(塩分施用区)。49 日間の施用の後、以下の項目について測定を行った(図 10)。

1 土壌 pH、土壌 EC 値

2 土壌の Na⁺、Cl⁻濃度

3 各ラメット(Basal、Intermediate、Apical、SNTS)の乾燥重量(成長量)

4 各ラメット(Basal、Intermediate、Apical、SNTS)の Na⁺、Cl⁻含有量

※各ラメット(Basal、Intermediate、Apical、SNTS)に関しては、各部(健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部)に分けてそれぞれ測定した。

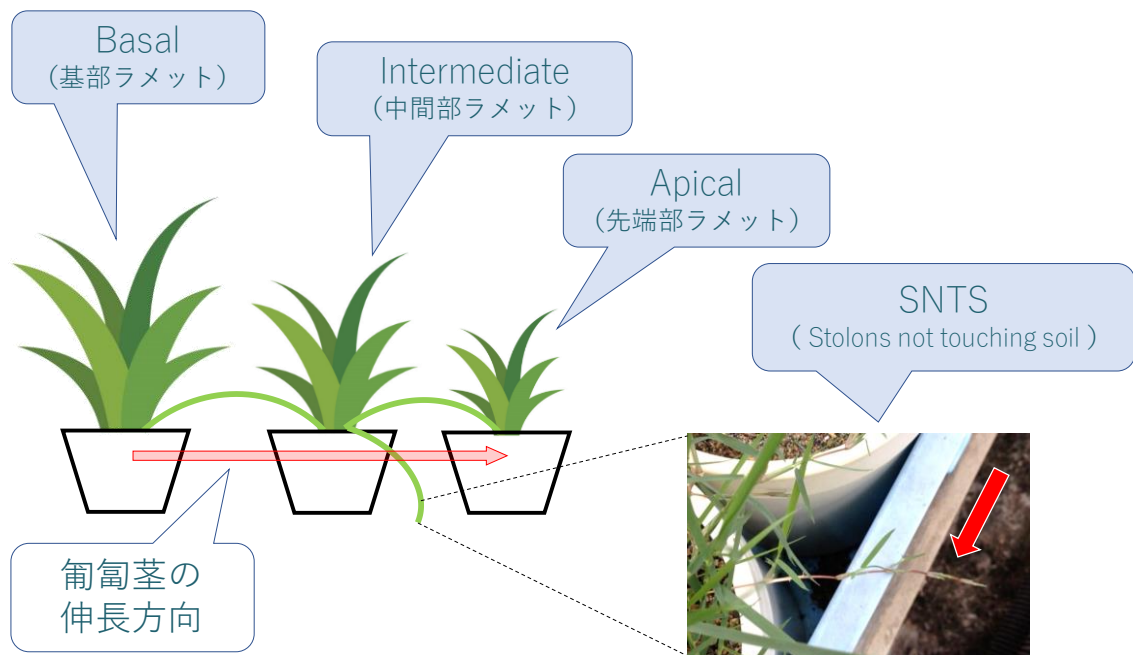


図 8 「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B) の実験におけるポットの配置と各ラメットの模式図

※Basal にコウライシバの匍匐茎を植えつけ、Intermediate、Apical へと匍匐茎を誘引させて生育させた

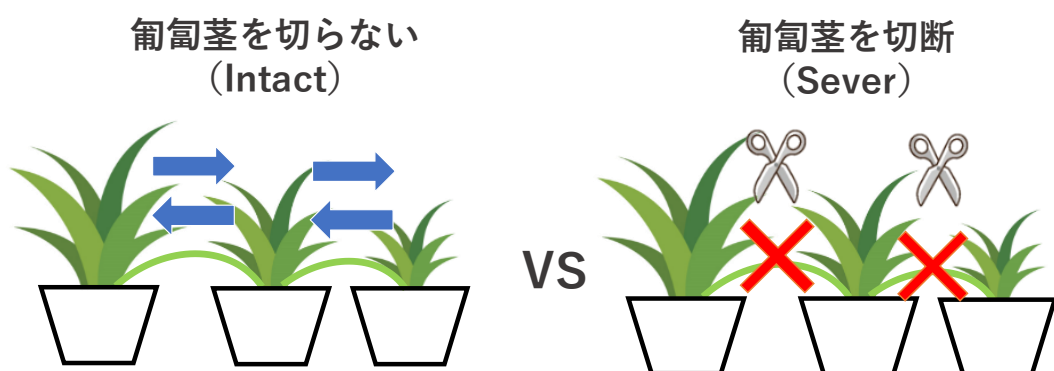
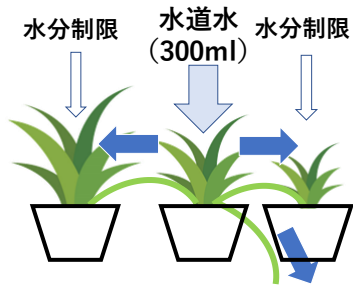


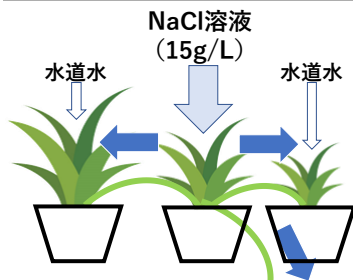
図 9 「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B) の実験における「Intact」と「Sever」の模式図

※「水分制限区」「塩分施用区」「Control 区」の全ての実験区に Intact と Sever をそれぞれ 3 反復 (3 ポット 1 セット) 設置した。

①水分制限区 (実験B-1)



②塩分施用区 (実験B-2)



「水平方向の水分と塩分の移動 (実験B)」

測定項目

①水分制限区 (実験B-1)

- 1 土壌含水比
- 2 各ラメットの乾燥重量 (成長量)
- 3 各ラメットの含水率

②塩分施用区 (実験B-2)

- 1 土壌pH、土壌EC値
- 2 土壌のNa⁺、Cl⁻濃度
- 3 各ラメットの乾燥重量 (成長量)
- 4 各ラメットのNa⁺、Cl⁻含有量

※各ラメットについては、各部 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部) に分けてそれぞれ測定した

図 10 「ラメット間の水分の移動特性」(実験 B-1) および「ラメット間の塩分の移動特性」(実験 B-2) の実験内容の模式図

※①水分制限区では、Intermediate のラメットに 300ml の水道水を与え、Basal、Apical に水分制限処理 (50ml～無灌水) を与えた。

※②塩分施用区では、Intermediate のラメットに 300ml の NaCl 溶液 (15g/L) を与え、Basal、Apical に 300ml の水道水を与えた。

※上記 2 実験区の対照区として Control 区を設置し、全てのラメットに 300ml の水道水を与えた。

2-2. 実験方法

「2-1. 実験内容」では、実験 A に関して、「長期間の塩ストレスに対する反応」(実験 A-1)、「塩類腺からの塩分排出特性」(実験 A-2) の 2 項目の実験内容を説明した。また、実験 B に関して、「ラメット間の水分の移動特性」(実験 B-1)、「ラメット間の塩分の移動特性」(実験 B-2) の 2 項目の実験内容を説明した。

ここでは、実験 A (実験 A-1、実験 A-2) および実験 B (実験 B-1、実験 B-2) の実験方法を説明する。

2-2-1. 長期間の塩ストレスに対する反応

「長期間の塩ストレスに対する反応」(実験 A-1) では、長期間にわたりコウライシバに 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液を施用して、各部 (葉身部、匍匐茎部、根系部) の Na⁺、Cl⁻濃度や、成長量を測定することで、本種の垂直方向への塩分移動特性と耐塩性の把握を行うこととした。さらに、細胞内の浸透圧調整に重要な働きを持つと言われる糖分 (グルコース)^{99) 52) 21)} の測定も併せて行うこととした。以下に、実験 A-1 の実験方法を説明する。

1) 植え付けおよび養生

実験は東京農業大学世田谷キャンパス (東京都世田谷区桜丘 1-1-1) の無加温ガラス温室内で行った。供試植物は鳥取県芝生産組合から購入したコウライシバ (*Zoysia matrella* Merr.) を用いた。1/5000a ワグネルポット (アズワン社製 2-550-02) に排水層として下層に砂利 1kg (高さ 4cm) とその上に床土として川砂 3.8kg を充填し、2013 年 8 月 6 日にコウライシバの匍匐茎の 5 節を有する断片を 1 ポットあたり 3 株植え付けた。

異なる濃度の NaCl 溶液を施用するため、4 実験区 (0、7.5、15、30g/L NaCl) 分の実験用ポットをそれぞれ 3 反復設置した。周縁効果を考慮し実験ポットを無作為に配置し、実験中は適宜配置を変更した。

2013 年 8 月 6 日から 2014 年 6 月 12 日までの 311 日間、水道水を適宜灌水し、コウライシバが実験ポット内を密に覆うまで養生した。2013 年 8 月 14 日、12 月 8 日、2014 年 1 月 15 日に、実験ポットへ 1g の化成肥料 (日東エフシー社製 N : P : K = 8 : 8 : 8) を施用した。なお、化成肥料は速効性を高めるために粉末状にして施用した。

2) NaCl 溶液の施用

ポリタンク内で水道水と塩化ナトリウム [和光純薬工業社製 (99.5%)] を混和し、4 段階の濃度 [0g/L (Control)、7.5g/L (12mS/cm 相当)、15g/L (24mS/cm 相当)、30g/L (48mS/cm 相当)] に調整した NaCl 溶液を、2014 年 6 月 13 日から 2014 年 12 月 5 日までの 175 日間にわたり実験ポット上部から施用した。

季節により蒸発散量が異なるため、NaCl 溶液施用の頻度を以下のとおり調節した。

2014 年 6 月 13 日～2014 年 8 月 30 日：2 日おき

2014 年 8 月 31 日～2014 年 10 月 20 日：1 週間おき

2014 年 10 月 21 日～2014 年 12 月 5 日：2 週間おき

なお、NaCl 溶液施用後にポット下部の排水口から十分な量の重力水を採取するため、1 回の施用量を 600mL に設定した。

3) 重力水の電気伝導度（EC 値）の測定

土壌中の塩分濃度の変動を把握するため、NaCl 溶液施用時に実験ポット下部の排水口から排出された重力水を採取し、電気伝導度（EC 値）を測定した。測定は EC メーター（東亜 DKK 社製 CM-60G）を用いた。

4) 各部の乾燥重量の測定

水道水で養生中の 2014 年 3 月 16 日、5 月 10 日、NaCl 溶液施用中の 8 月 12 日、12 月 2 日の計 4 回、コウライシバの地上部（葉身部・直立茎部）を刈り高 2cm で刈込み採取した。なお、地上部の採取直前に、霧吹きで蒸留水を噴射し、茎葉部表面の塩分を洗い流した。刈取った地上部は、真空凍結乾燥機（東洋理化機器社製 FD-80）にて 24 時間乾燥させた後、電子天秤を用いて乾燥重量を測定した。

2014 年 12 月 21 日に実験ポットからコウライシバを掘り取り、水道水で根系部の砂を洗い流した。その後、地上部、匍匐茎部（地下茎部を含む）、根系部に切り分けた。その後、真空凍結乾燥機（東京理化機器社製 FD-80）にて 24 時間乾燥させた後、電子天秤を用いて、切り分けた各部の乾燥重量を測定した。

なお、地上部（葉身部、直立茎部）に関しては、刈取りを行った際に測定した 4 回分の乾燥重量およびコウライシバの掘り取り時（12 月 21 日）に採取した地上部の乾燥重量を合計して、地上部の乾燥重量とした。

5) 各部のイオン含有量の測定

乾燥重量を測定した後、コウライシバの各部（葉身部、匍匐茎部、根系部）をサンプル破砕機（バイオメディカルサイエンス社製 BMS-A20TP）を用い粉砕した。粉砕したコウライシバの各部を超純水中に浸漬した後攪拌し、0.45 μ m のナイロンシリンジフィルター（Membrane Solution 社製 NY025045）により濾過し、塩分（Na⁺、Cl⁻）およびグルコース分析用溶液とした。各部の Na⁺、Cl⁻の含有量はイオン分析計（東亜 DKK 社製 IA-300）を用いて測定した。

また、各部のグルコース含有量の測定は、RQ フレックス（Merck 社製 16970-1M）を用いた。測定は専用の試験紙（リフレクトクェント グルコース（ブドウ糖）テスト 16720-

1M) を用いて行った。

なお、地上部（葉身部）に関しては、4 回目の地上部の刈取り時 [2014 年 12 月 2 日 (NaCl 溶液施用開始から 172 日間)] に採取した地上部を分析用サンプルとした。また、地下部（匍匐莖部、根系部）に関しては、掘り取り時 [2014 年 12 月 21 日 (NaCl 溶液施用開始から 191 日間)] に採取した部位を分析用サンプルとした。

6) 統計解析

4 段階の塩分濃度間（4 実験区間）における、コウライシバ各部の Na^+ 、 Cl^- 、グルコース含有量、および乾燥重量の有意差は、チューキー検定 (Tukeys test) により分析した。統計解析はエクセル（マイクロソフト社）のアドイン統計ソフト（BellCurve for Excel, Social Survey Research Information Co, Ltd.）を用いて行った。

2-2-2. 塩類腺からの塩分排出特性

「塩類腺からの塩分排出特性」（実験 A-2）では、コウライシバに 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液を施用（土壌表面に乾きが見られた時に施用）して、葉身部における塩類腺数、塩類腺面積、イオン (Na^+ 、 Cl^- 、 K^+) 排出量およびイオン含有量の測定を行うことで、本種の垂直方向への塩分移動特性、特に、塩分の排出特性を明らかにすることとした。以下に、実験 A-2 の実験方法を説明する。

1) 植え付けおよび養生

実験は東京農業大学世田谷キャンパス（東京都世田谷区桜丘 1-1-1）の無加温ガラス温室内で行った。供試植物は鳥取県芝生産組合から購入したコウライシバ (*Zoysia matrella* Merr.) を用いた。1/5000a ワグネルポット（アズワン社製 2-550-02）に排水層として下層に砂利 1kg とその上に床土として川砂 4kg を充填し、2016 年 4 月 14 日に、3cm の長さに切りそろえたコウライシバの匍匐莖 3 株を植え付けた。匍匐莖は、先端部のみを用いた。なお、「2-2-1. 長期間の塩ストレスに対する反応」（実験 A-1）では、川砂を 3.8kg 充填したが、NaCl 溶液施用に伴う土壌の沈下が見られたため、実験 A-2 では、川砂の充填量を 0.2kg 多くした。

植えつけ後、十分に生育するまで、132 日間にわたり水道水を用いて養生した。養生期間中、化成肥料 (N:P:K=6:4:3) を各ポットに 0.3g 与えた (2016 年 4 月 27 日、5 月 27 日)。なお、化成肥料は速効性を高めるために粉末状にして施用した。

異なる濃度の NaCl 溶液を施用するため、4 実験区 (0、7.5、15、30g/L NaCl) 分の実験用ポットを設置した。なお、周縁効果を考慮し実験ポットを無作為に配置した。ポット数はそれぞれ 3 反復とした。実験期間中のガラス温室内の気温、湿度は、温湿度データロガー（株式会社ティアンドデイ社製 TR-72U）を用いて測定した（図 11）。

2) NaCl 溶液施用および重力水の分析

132 日間の水道水による養生後、NaCl 溶液の施用を開始した。ポリタンク内で水道水と塩化ナトリウム [和光純薬工業社製 (99.5%)] を混和し、4 段階の濃度 [0g/L (Control)、7.5g/L (12mS/cm 相当)、15g/L (24mS/cm 相当)、30g/L (48mS/cm 相当)] に調整した NaCl 溶液を、各実験ポットに 600mL 施用した。施用は 2016 年 8 月 25 日から 9 月 29 日まで行った (35 日間)。なお、NaCl 溶液の施用は、土壌表面に乾燥が見られた時に行った。施用日は、8/26、8/30、9/5、9/12、9/22 (計 5 回) であった。葉身部に塩分が付着しないよう、NaCl 溶液は漏斗を用いて土壌のみに施用した。

塩水施用中の 35 日間のガラス温室内の平均気温は、28.7°C、平均湿度は 73%であった (図 11)。土壌中の塩分濃度増加の傾向を把握するため、NaCl 溶液施用後にポット下部から排出される重力水を採取した。採取した重力水は、EC メーター (東亜 DKK 社製 CM-60G) を用いて電気伝導度 (EC) を測定した。その後、以下の式を用いて推定 NaCl 濃度 (全塩類濃度) に換算した^{14) 53)}。

$$\text{重力水の推定 NaCl 濃度 (mg/L)} = 640 \times \text{EC (mS/cm)}$$

3) 葉身部における塩類腺数、塩類腺面積の測定

NaCl 溶液施用開始から、35 日後に、各ポットから十分に生長した葉身部を 6 枚採取した。採取後、葉身部表面を純水でよく洗い流して水滴を拭き取った。葉身部表面のレプリカを得るため、表面にマニキュアを薄く塗り (向軸面 3 枚、背軸面 3 枚) 30 分乾燥させた。その後、セロハンテープで葉身部表面のレプリカをはがし取り、スライドガラスに貼り付け、観察用プレパラートとした²⁸⁾。

葉身部表面の観察は光学顕微鏡 (株式会社島津理化製 BA210EINT) を用いて行った。塩類腺数、塩類腺面積の測定は、光学顕微鏡に付属の画像解析ソフト (Motic Images Plus) を用いて、PC モニター上で行った。葉身部表面の観察は、100 倍 (PC モニターで 0.5mm²) に拡大して行った。また、塩類腺数、塩類腺面積の測定は、400 倍 (PC モニターで 0.03mm²) に拡大して行った (図 12)。測定は、1 プレパラートにつき 5 か所行った [1 ポットあたりのデータ数は、向軸面 (3×5=15)、背軸面 (3×5=15)]。

4) 葉身部のイオン含有量、イオン排出量の測定

塩水施用開始から 35 日後に、各ポットから十分に生長した葉身部を 5~6 枚採取した。採取した葉身部を、超純水 (13mL) が入った 15mL 遠沈管に入れ、超音波洗浄器にて 30 分間洗浄した⁶³⁾。その後、遠沈管内の葉身部を取り出した。遠沈管内の洗浄後の溶液を、イオン排出量測定用溶液として、測定の日まで冷蔵庫にて保存した。

表面洗浄後の葉身部は、ドライオーブン (清水理化学機器製作所製 PSN-60) を用いて、

90°Cに設定して24時間乾燥させた。乾燥後、電子天秤を用いて乾燥重量を測定した。乾燥後の葉身部をサンプル破砕機（バイオメディカルサイエンス社製 BMS-A20TP）を用いて粉砕した。粉砕した葉身部を超純水が入った2mlチューブ内に入れ、超純水中に浸漬した後30秒間手振とうで攪拌し、0.45φμmのナイロンシリンジフィルター（Membrane Solution社製 NY025045）により濾過し、葉身部のイオン含有量測定用溶液とした。それぞれのイオン（Na⁺、Cl⁻、K⁺）のイオン含有量およびイオン排出量は、イオン分析計（東亜 DKK 社製 IA-300）を用いて測定した。

また、得られたイオン含有量とイオン排出量の値より、イオン排出率を求めた。イオン排出率は、以下の計算式により算出した。

$$\text{イオン排出率 (\%)} = \frac{\text{イオン排出量 (mg/g DW)}}{[\text{イオン含有量 (mg/g DW)} + \text{イオン排出量 (mg/g DW)}]} \times 100$$

5) 葉身部の刈取りと乾燥重量、枯死率の測定

イオン含有量、排出量の測定用の葉身部を採取後、実験用ポットから全ての葉身部（直立茎を含む）を地際から刈取った。刈取り後、ドライオーブン（清水理化学機器製作所製 PSN-60）を用いて、90°Cに設定して24時間乾燥させた。乾燥後の葉身部は健全葉と枯死葉に分別し、電子天秤を用いて両者の乾燥重量を測定した。

各ポットの枯死率（Turf Quality）は、健全葉、枯死葉の乾燥重量から求めた。枯死率は、以下の計算式により算出した。

$$\text{枯死率 (\%)} = \frac{\text{枯死葉の乾燥重量 (g)}}{[\text{健全葉の乾燥重量 (g)} + \text{枯死葉の乾燥重量 (g)}]} \times 100$$

6) 統計解析

4段階の塩分濃度間（4実験区間）における、各イオン（Na⁺、Cl⁻、K⁺）含有量、排出量および乾燥重量、枯死率の有意差は、チューキー検定（Tukeys test）により分析した。また、葉身部の向軸面および背軸面の塩類腺のデータ（塩類腺数および塩類腺面積）の有意差の比較は、*t*検定（Student's *t*-test）を用いて分析した。統計解析はエクセル（マイクロソフト社）のアドイン統計ソフト（BellCurve for Excel, Social Survey Research Information Co, Ltd.）を用いて行った。

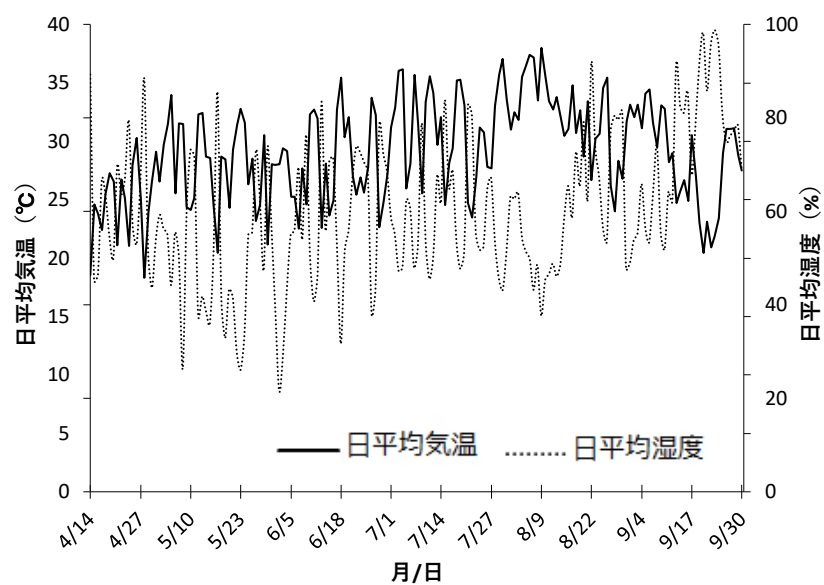


図 11 コウライシバ養生期間中および NaCl 溶液施用期間中のガラス温室内の日平均気温、日平均湿度 [塩類腺からの塩分排出特性 (実験 A-2)]

※3月4日から4月13日までの間データ無し

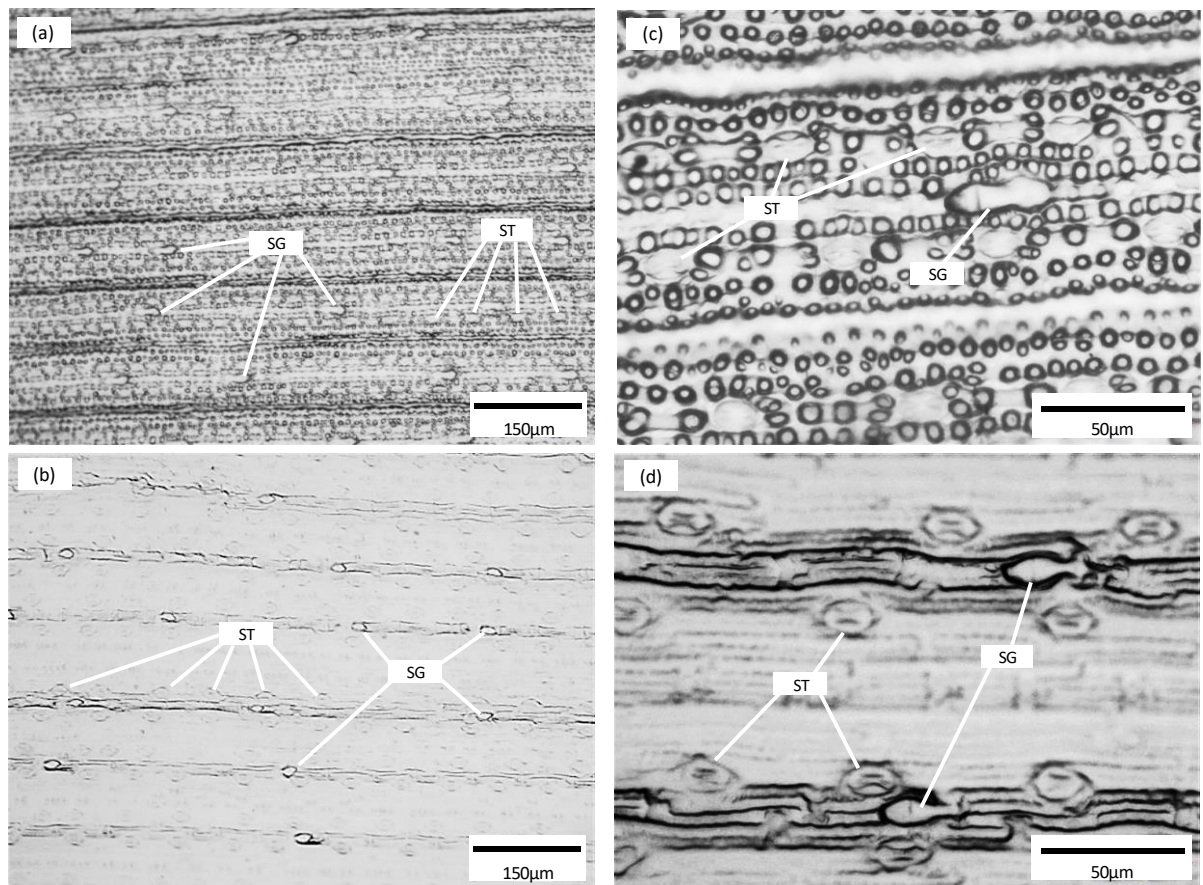


図 12 コウライシバの葉身部表面における塩類腺

Salt gland on the leaf surface of *Zoysia matrella*

(a) adaxial side, (b) abaxial side ($\times 100$ magnification, 0.5 mm^2 image area). (c) adaxial side, (d) abaxial side ($\times 400$ magnification, 0.03 mm^2 image area). SG = Salt gland, ST = Stomata

2-2-3. 水平方向の水分と塩分の移動

「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B) では、水分、そして塩分の両者のラメット間の移動特性を把握するため、筆者が行った実験⁸⁹⁾を元に実験内容を組み立てた。具体的には、3つの実験用ポットを並べ、それぞれのポットに匍匐茎を繋げたまま、コウライシバを生育させ、一部のラメットのみ、水分制限(実験 B-1)や、塩分施用(実験 B-2)の処理を行い、Basal(基部)、Intermediate(中間部)、Apical(先端部)、SNTS(まだ発根をしていない匍匐茎)の塩分濃度や水分量を測定することで、コウライシバのラメット間の水分や塩分の移動特性を把握することとした。さらに、各ラメットの部位ごと(健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部)の塩分量や水分量を測定することで、より詳細にコウライシバの水平方向の物質移動特性を検証することとした。以下に、実験 B-1 および実験 B-2 の実験方法を説明する。

1) 植え付けおよび養生

実験は東京農業大学世田谷キャンパス(東京都世田谷区桜丘 1-1-1)の無加温ガラス温室で行った。供試植物は鳥取県芝生産組合から購入したコウライシバ(*Zoysia matrella* Merr.)を用いた。1/5000a ワグネルポット(アズワン社製 2-550-02)に排水層として下層に砂利 1kg とその上に床土として川砂 4kg を充填し、2017年5月24日に、5節を有するコウライシバの匍匐茎 1片を植え付けた。匍匐茎は、先端部のみを用いた。なお、「2-2-1. 長期間の塩ストレスに対する反応」(実験 A-1)では、川砂を 3.8kg 充填したが、NaCl 溶液施用に伴う土壌の沈下が見られたため、実験 B では、川砂の充填量を 0.2kg 多くした。

実験用ポットを 3つ横並びに配置して、3ポットを 1組とした。1つ目のポット(Basal: 基部ラメット)に植えてつけて生長した匍匐茎を、2つ目のポット(Intermediate: 中間部ラメット)、3つ目のポット(Apical: 先端部ラメット)へと誘引して生育させた。また、Intermediate から伸長した匍匐茎を、地面に触れさせずに(発根しないように)生育させた(Stolons Not Touching Soil: SNTS)(図 8)。

実験用ポットは、Control 区、水分制限区、塩分施用区の 3 実験区分を用意し、さらに、各実験区において、Sever および Intact を設置した(図 9)。各実験区の反復数は、3つの連結したポットを 1組として、Sever および Intact でそれぞれ 3 反復とした。なお、周縁効果を考慮し実験ポット(3ポットで 1組)を無作為に配置した。

匍匐茎で繋がった 3ポットの個体(ラメット)が十分に生育するまで水道水で養生した。養生は自動灌水装置(カクダイ社製 502-302)を用いてドリップ灌漑にて行った。ドリップ灌漑は、毎日朝 6時に 30分間灌漑する設定とし、匍匐茎の植え付けから、113日間行った。実験期間中のガラス温室内の気温、湿度は、温湿度データロガー(株式会社ティアンドデイ社製 TR-72U)を用いて測定した(図 13)。

2) ラメット間の匍匐茎の切断 (Sever のみ)

113 日間の養生後、2017 年 9 月 14 日に、全実験区 (Control 区、水分制限区、塩分施用区) の Sever の匍匐茎を切断した (図 9)。匍匐茎の切断は、Basal と Intermediate 間の匍匐茎、Intermediate と Apical 間の匍匐茎の 2 か所行った (Intact では、ラメット間の匍匐茎を切断しない)。

3) 各実験区の処理

ラメット間の匍匐茎の切断後 (Sever のみ)、3 実験区の処理を開始した (図 10)。それぞれの実験区の処理は、Sever、Intact とともに同じ内容で行った。処理の方法を以下に示す。

Control 区

300mL の水道水を、Basal、Intermediate、Apical、の全てのポットに処理した。処理は、2017 年 9 月 14 日から 11 月 2 日まで行い、週 1 回の頻度で行った (49 日間、合計 7 回処理)。

水分制限区 [ラメット間の水分の移動特性 (実験 B-1)]

水分制限区では、Basal、Apical のポットに水分制限 (乾燥ストレス) を与えた (図 10)。水分制限処理は、2 段階に分けて行った。第 1 段階では、300mL の水道水を Intermediate に施用して、同時に、50mL の水道水を Basal、Apical に施用した。第 1 段階の処理期間は 9 月 14 日から 9 月 27 日の間行った。第 2 段階では、300mL の水道水を Intermediate に施用して、Basal、Apical を無灌水状態とした。第 2 段階の処理期間は 9 月 28 日から 11 月 2 日の間行った。

第 1 段階、第 2 段階の処理は、2017 年 9 月 14 日から 11 月 2 日まで行い、週 1 回の頻度で行った (全 49 日間、合計 7 回処理)。

塩分施用区 [ラメット間の塩分の移動特性 (実験 B-2)]

NaCl 溶液は、ポリタンク内で水道水と塩化ナトリウム [和光純薬工業社製 (99.5%)] を混和し、15g/L (24mS/cm 相当) の NaCl 濃度に調整した。300mL の NaCl 溶液を Intermediate に施用し、同時に、300mL の水道水を、Basal、Apical に施用した (図 10)。

施用は、2017 年 9 月 14 日から 11 月 2 日まで行い、週 1 回の頻度で行った (49 日間、合計 7 回施用)。

4) 各実験区の草丈の測定

各実験区の処理終了後 (2017 年 11 月 2 日)、草丈の測定を行った。草丈は、各ポットで最も高い葉を 3 枚選び、葉身をまっすぐに立て、地面から上部までの長さを測定した。測

定は、「最新 芝生・芝草調査法」⁷¹⁾に記載の方法を参考として行った。

5) コウライシバの掘り取りおよび土壌の採取

草丈の測定後の翌日（11月3日）に、コウライシバの掘り取り、および土壌採取を行った。コウライシバの掘り取りに際して先ず、土壌のサンプリングを行った。

土壌のサンプリングは、土壌表層から5cmと、10cmの深さの2か所から行った。採取した土壌を封筒に入れ、電子天秤で重さを測定し、生土重（FW）を測定した。土壌採取後、コウライシバを掘り取り、水道水で根系部の砂を洗い流した。その後、地上部（健全葉、枯死葉、直立茎を含む）、匍匐茎部（地下茎部を含む）、根系部に切り分け、キムワイプを用いてコウライシバの各部の水分を取り除いた。その後、電子天秤を用いて根系部を除く各部の新鮮重量（FW）を測定した。

なお、根系部については、水道水で洗い流しきれなかった微細な砂が根系部に絡みついており、新鮮重量の値に影響すると考え、新鮮重量については測定しなかった。また、地上部については、掘り取り時に健全葉と枯死葉を仕分ける際に多くの時間を要し、水分の蒸発が新鮮重量に影響すると考え、地上部の新鮮重量の測定は枯死葉を含んだ状態で行った。

6) 土壌の乾土重および土壌含水比の測定

土壌含水比の測定は、地表5cmと、10cmの深さから採取した土壌について行った。生土重の測定後、封筒に入った土壌を、ドライオープン（清水理化学機器製作所製 PSN-60）を用いて、50℃に設定して24時間乾燥させ⁷³⁾、電子天秤を用いて乾土重（DW）を測定した。

得られた生土重と乾土重の値から、土壌含水比を計算した¹⁵⁾。計算式を以下に示す。

$$\text{土壌含水比 (\%)} = [\text{生土重 (g)} - \text{乾土重 (g)}] \div \text{乾土重 (g)} \times 100$$

7) 各部の乾燥重量および含水率の測定

コウライシバ各部（地上部、匍匐茎部、根系部）の新鮮重量の測定後、真空凍結乾燥機（東京理化機器社製 FDU-2110）を用いて、各部を48時間乾燥させた。乾燥後、地上部を健全葉と枯死葉に分別した。電子天秤を用いて乾燥したコウライシバの各部（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部）の乾燥重量（DW）を測定した。

なお、根系部に関しては、根に絡みついた砂を乾燥後にふるい落とし、砂の重さが乾燥重量に含まれないように注意した。

得られたコウライシバ各部の新鮮重量と乾燥重量から、含水率を計算した^{10) 98)}。計算式を以下に記載する。なお、地上部の含水率は既に説明した通り枯死葉を含む値である。

$$\text{含水率 (\%)} = [\text{新鮮重量 (g)} - \text{乾燥重量 (g)}] \div \text{新鮮重量 (g)} \times 100$$

8) 土壌 EC、pH および土壌塩分 (Na⁺、Cl⁻) 濃度の測定

土壌 EC、土壌 pH および土壌塩分濃度の測定は、地表から 10cm の深さで採取した土壌について行った。乾燥後の土壌と超純水を 1:5 の比率になるように 50ml 遠沈管に入れ、振とう機 (トーマス科学器機社製 T-N22S) により 1 時間攪拌した^{19) 14) 101)}。攪拌後、0.45 μ m のナイロンシリンジフィルター (Membrane Solution 社製 NY025045) により濾過し、土壌 EC、pH および水溶性イオン (Na⁺、Cl⁻) 濃度の分析用溶液とした。

分析用溶液の EC 値の測定は EC メーター (東亜 DKK 社製 CM-60G) を、pH の測定は pH メーター (東亜 DKK 社製 HM-60G) を用いてそれぞれ測定した。また、分析用溶液のイオン (Na⁺、Cl⁻) 濃度は、イオン分析計 (東亜 DKK 社製 IA-300) を用いて測定した。なお、塩分施用区の土壌塩分濃度は著しく高く、イオン分析計のカラムを傷める恐れがあったため、土壌の塩分濃度に応じて分析用溶液を希釈して測定した。

9) 各部における塩分 (Na⁺、Cl⁻) 含有量の測定

コウライシバの各部 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部) を乾燥後、サンプル破砕機 (バイオメディカルサイエンス社製 BMS-A20TP) を用いて各部を粉砕した。粉砕した各部を超純水が入った 2ml チューブ内に入れ、浸漬、攪拌した後、ドライオーブン (清水理化学機器製作所製 PSN-60) を用いて、80°C、24 時間インキュベートした⁶⁴⁾。その後、0.45 μ m のナイロンシリンジフィルター (Membrane Solution 社製 NY025045) により濾過し、塩分分析用溶液とした。分析用溶液中の塩分 (Na⁺、Cl⁻) 濃度はイオン分析計 (東亜 DKK 社製 IA-300) を用いて測定した⁶⁴⁾。

10) 統計解析

Sever と Intact 間における両者の測定結果の差異 (有意差) を検証するため、*t* 検定 (Student's *t*-test) を用いて統計解析を行った。統計解析はエクセル (マイクロソフト社) のアドイン統計ソフト (BellCurve for Excel, Social Survey Research Information Co, Ltd.) を用いて行った。

11) 水平方向の水分と塩分の移動 (実験 B) で扱うデータ

本研究では、コウライシバのラメット間の物質移動特性を明らかにするため、「Control 区」「水分制限区 (実験 B-1)」「塩分施用区 (実験 B-2)」の 3 実験区について実験を行った。本研究では、「水分制限区 (実験 B-1)」、「塩分施用区 (実験 B-2)」において、特に重要であると思われる測定項目についてのみ実験結果を説明し、考察することとした。各実

験区における測定項目のリストを表 2 に示す。

水分制限区（実験 B-1）では、コウライシバ各部（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部）の乾燥重量、含水率、土壌含水比の結果について詳しく説明することとした。また、塩分施用区（実験 B-2）では、コウライシバ各部（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部）の乾燥重量、Na⁺、Cl⁻含有量、土壌 EC 値、土壌 pH の結果について詳しく説明することとした。

その他のデータについては、参考値として「3-5. 水平方向の水分と塩分の移動（補足データ）」に結果のみを示す。

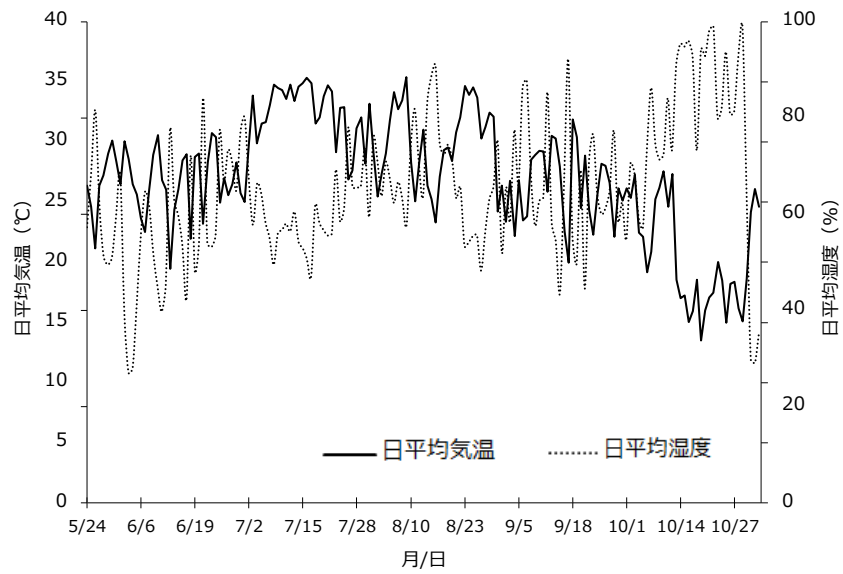


図 13 コウライシバの養生期間中および処理期間中のガラス温室内の日平均気温、日平均湿度 [水平方向の水分と塩分の移動 (実験 B)]

表 2 水平方向の水分と塩分の移動 (実験 B) で測定する項目

- ：測定を行い、得られたデータについて説明、考察を行う
- △：測定を行い、参考値 (補足データ) としてデータのみを示す
- ×：測定を行わない

植物 (成長量、水分量に関する項目)

測定項目	FW			DW			各部位の含水率		
	Basal, Intermediate, Apical, SNITS	葉身部 (健全葉)	葉身部 (枯死葉)	Basal, Intermediate, Apical, SNITS	葉身部 (健全葉)	葉身部 (枯死葉)	Basal, Intermediate, Apical, SNITS	葉身部 (枯死葉含む)	匍匐茎部
測定ラメット	Basal, Intermediate, Apical, SNITS	匍匐茎部	葉身部 (枯死葉)	Basal, Intermediate, Apical, SNITS	匍匐茎部	葉身部 (枯死葉)	Basal, Intermediate, Apical, SNITS	葉身部 (枯死葉含む)	匍匐茎部
測定部位	葉身部 (枯死葉含む)	匍匐茎部	葉身部 (健全葉)	葉身部 (枯死葉)	匍匐茎部	葉身部 (枯死葉)	根系部 (SNITS除く)	葉身部 (枯死葉含む)	匍匐茎部
Control区	△	△	△	△	△	△	△	△	△
塩分施用区	△	△	○	○	○	○	○	△	△
水分制限区	△	△	○	○	○	○	○	○	○

植物 (体内イオン含有量に関する項目)

測定項目	Na ⁺ , Cl ⁻		
	Basal, Intermediate, Apical, SNITS	葉身部 (健全葉)	葉身部 (枯死葉)
測定ラメット	Basal, Intermediate, Apical, SNITS	葉身部 (健全葉)	葉身部 (枯死葉)
測定部位	葉身部 (健全葉)	匍匐茎部	根系部 (SNITS除く)
Control区	△	△	△
塩分施用区	○	○	○
水分制限区	×	×	×

土壌 (土壌化学性、イオン濃度、水分量に関する項目)

測定項目	Na ⁺ , Cl ⁻		EC, pH		土壌含水比	
	Basal, Intermediate, Apicalのポット土壌	地表から10cm	Basal, Intermediate, Apicalのポット土壌	地表から10cm	Basal, Intermediate, Apicalのポット土壌	地表から10cm
測定土壌 (ラメット)	Basal, Intermediate, Apicalのポット土壌	地表から10cm	Basal, Intermediate, Apicalのポット土壌	地表から10cm	Basal, Intermediate, Apicalのポット土壌	地表から10cm
土壌採取箇所	地表から10cm	△	地表から10cm	△	地表から5cm	△
Control区	△	△	△	△	△	△
塩分施用区	△	△	○	○	×	×
水分制限区	×	×	×	×	○	○

3. 結果

本研究では、コウライシバの垂直方向の塩分の移動特性を明らかにする「垂直方向の塩分の移動」(実験 A) と、ラメット間の水分や塩分の移動特性を明らかにする「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B) の主に 2 項目の実験を行うことで、「体内物質移動特性」から見た本種の塩ストレス対応を明らかにすることを目的とした。ここでは、実験 A および実験 B により得られた結果を示す。

3-1. 長期間の塩ストレスに対する反応

「長期間の塩ストレスに対する反応」(実験 A-1) では、長期間にわたりコウライシバに 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液を施用して、各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)の Na⁺、Cl⁻含有量や、成長量を測定することで、長期間の塩ストレス環境下における本種の垂直方向への塩分移動特性と塩ストレスへの反応を把握することとした。以下に、実験 A-1 により得られた結果を示す。

3-1-1. 重力水の塩分濃度

最後に行った NaCl 溶液の施用 [2014 年 12 月 5 日 (NaCl 溶液施用期間 175 日間)] について、施用後ポット下部から排出された重力水の EC 値は、施用した 4 段階の NaCl 溶液の濃度に伴い直線的に増加した (図 14)。また、施用した NaCl 溶液の濃度と重力水の EC 値は高い相関が確認された ($R^2=0.96$)。

重力水の EC 値の平均値は順に、0.3mS/cm [0g/L 区 (Control)]、19.5mS/cm [7.5g/L 区 (12mS/cm 相当)]、31.1mS/cm [15g/L 区 (24mS/cm 相当)]、52.1mS/cm [30g/L 区 (48mS/cm 相当)] であり、全ての実験区で施用した NaCl 溶液濃度より高い値であった。

3-1-2. 各部の乾燥重量

コウライシバの掘り取り時 [2014 年 12 月 21 日 (NaCl 溶液施用開始から 191 日間)] のコウライシバの全乾燥重量(葉身部、匍匐茎部、根系部の合計値)は、施用した NaCl 溶液濃度が高くなるにつれて低くなった (表 3)。

全乾燥重量は Control 区 (0g/L) から順に、48.96、48.67、39.58、37.50g/pot DW であった。15g/L 区および、30g/L 区の全乾燥重量は、0g/L 区 (Control) のそれぞれ 80.9%、76.6% であった。一方、7.5g/L 区の全乾燥重量は、0g/L 区 (Control) とほぼ同程度であった。

全乾燥重量について、4 段階の全ての塩分濃度間で有意な差は無かった。また、各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)の乾燥重量について、4 段階の塩分濃度間に有意な差は無かった。なお、30g/L 区の地上部に関しては、4 回目の地上部の刈取り時 [2014 年 12 月 2 日 (NaCl 溶液施用開始から 172 日間)] において全ての地上部で枯死が確認されたため、刈取ることができなかった。

3-1-3. 各部の Na⁺、Cl⁻含有量

4 回目の地上部の刈取り時 [2014 年 12 月 2 日 (NaCl 溶液施用開始から 172 日間)] およびコウライシバ掘り取り時 [2014 年 12 月 21 日 (NaCl 溶液施用開始から 191 日間)] のコウライシバの Na⁺および Cl⁻含有量は、15g/L 区の根系部の Na⁺含有量を除いて、いずれの部位 (葉身部、匍匐茎部、根系部) においても、施用塩分濃度が高くなるにつれて含有量が高くなった (図 15、図 16)。

葉身部の Na⁺含有量は、NaCl 溶液を施用した実験区 (7.5g/L、15g/L 区) において、著しい増加が見られ、0g/L 区 (Control) と比べ、7.5g/L 区で約 8 倍、15g/L 区で約 15 倍の Na⁺含有量を示し、有意に高かった。Cl⁻でも同様の結果が得られ、葉身部の Cl⁻の含有量は、0g/L 区 (Control) と比べ、7.5g/L 区で約 5 倍、15g/L 区で約 9 倍の含有量を示し、有意に高かった。なお、30g/L 区は 4 回目の地上部の刈取り時において、地上部が全て枯死したため、Na⁺、Cl⁻のいずれの含有量についてもデータが得られなかった。

匍匐茎部、根系部も同様に、体内の Na⁺および Cl⁻含有量は、施用 NaCl 溶液濃度が高くなるにつれて、高くなった。匍匐茎の Na⁺含有量は、0g/L 区 (Control) から順に、5.5、13.2、14.7、28.0mg/g DW、Cl⁻含有量は、0g/L 区 (Control) から順に、3.0、8.0、11.5、24.9mg/g DW であった。また、根系部の Na⁺含有量は、0g/L 区 (Control) から順に、12.6、16.8、14.7、21.4mg/g DW、Cl⁻含有量は、0g/L 区 (Control) から順に、2.5、7.2、9.3、19.6mg/g DW であった。

一方、地上部 (葉身部) と比較して、地下部 (匍匐茎部や根系部) では、Na⁺、Cl⁻含有量が低い値であった。15g/L 区における葉身部の Na⁺、Cl⁻ (両イオンの合算値) 含有量は、134.2mg/g DW、匍匐茎部では、26.1mg/g DW、根系部では、30.8mg/g DW を示し、葉身部の Na⁺、Cl⁻含有量は、匍匐茎部と比較して約 5 倍、また、根系部と比較して約 4 倍であり、葉身部で有意に高かった (図 17)。

3-1-4. 各部のグルコース含有量

4 回目の地上部の刈取り時 [2014 年 12 月 2 日 (NaCl 溶液施用開始から 172 日間)] およびコウライシバ掘り取り時 [2014 年 12 月 21 日 (NaCl 溶液施用開始から 191 日間)] におけるコウライシバのグルコース含有量は、地上部 (葉身部) と地下部 (匍匐茎部、根系部) で異なる傾向を示した。地上部 (葉身部) のグルコース含有量は、0g/L 区 (Control) から順に、3.6、4.0、4.9mg/g DW であり、施用した塩分濃度に応じて高くなった。しかし、4 段階の NaCl 濃度の間には有意な差は無かった。なお、30g/L 区では 4 回目の地上部の刈取り時において、地上部が全て枯死したため、データは得られなかった (図 18)。

一方、地下部 (匍匐茎部、根系部) では、地上部 (葉身部) とは逆の傾向を示し、匍匐茎部の 30g/L 区を除いて、施用 NaCl 濃度が高くなるにつれて、グルコース含有量は低くなった。匍匐茎部のグルコース含有量は、0g/L 区 (Control) から順に、0.6、0.5、0.3、0.4mg/g

DW であり、4 段階の NaCl 溶液濃度の間には有意な差は無かった。根系部では、0g/L 区 (Control) から順に、0.3、0.2、0.1、0.1mg/g DW であった。根系部では、0g/L 区 (Control) と比べ、15g/L 区、30g/L 区で有意に低い値であった。

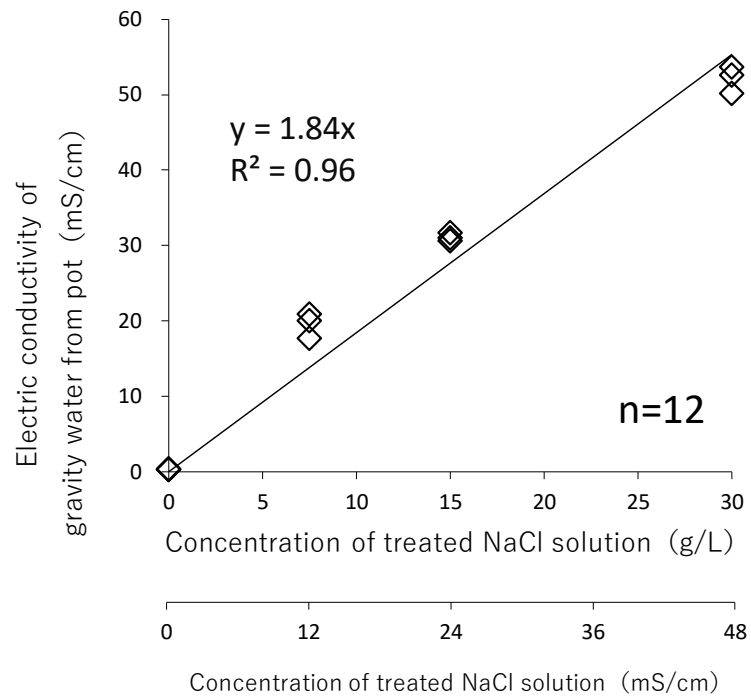


図 14 施用 NaCl 溶液濃度と重力水の EC 値の関係


Relationship between concentration of treated NaCl solution and electric conductivity of gravity water from the pot

NaCl solution treatment period was 175 days.

表 3 長期間にわたる 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部、匍匐茎部、根系部における乾燥重量

Dry weight of *Zoysia matrella* under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. Cultivation period were August 6, 2013 to December 21, 2014 (502 days). NaCl solution treatment period was 191 days. Leaves data are total biomass of several times trimmed leaves. For more details on experimental condition, see material and methods section. EC of gravity water after 175 days NaCl solution treatment were 0.3mS/cm (Control), 19.5mS/cm [7.5g/L (12mS/cm) treated], 31.1mS/cm [15g/L (24mS/cm) treated], 52.1mS/cm [30g/L (48mS/cm) treated].

	Concentration of treated NaCl solution(g/L)			
	0	7.5	15	30
Appearance (November 2014)				
Leaves (g/pot DW)	26.36 \pm 4.88 a	25.34 \pm 2.69 a	21.66 \pm 3.80 a	18.44 \pm 3.42 a
Rhizomes (g/pot DW)	18.39 \pm 1.21 a	19.76 \pm 1.97 a	14.94 \pm 1.37 a	16.66 \pm 2.35 a
Roots (g/pot DW)	4.21 \pm 0.16 a	3.57 \pm 0.14 a	2.98 \pm 0.06 a	2.40 \pm 0.71 a
Total (g/pot DW)	48.96 \pm 5.18 a	48.67 \pm 5.08 a	39.58 \pm 5.49 a	37.5 \pm 6.42 a

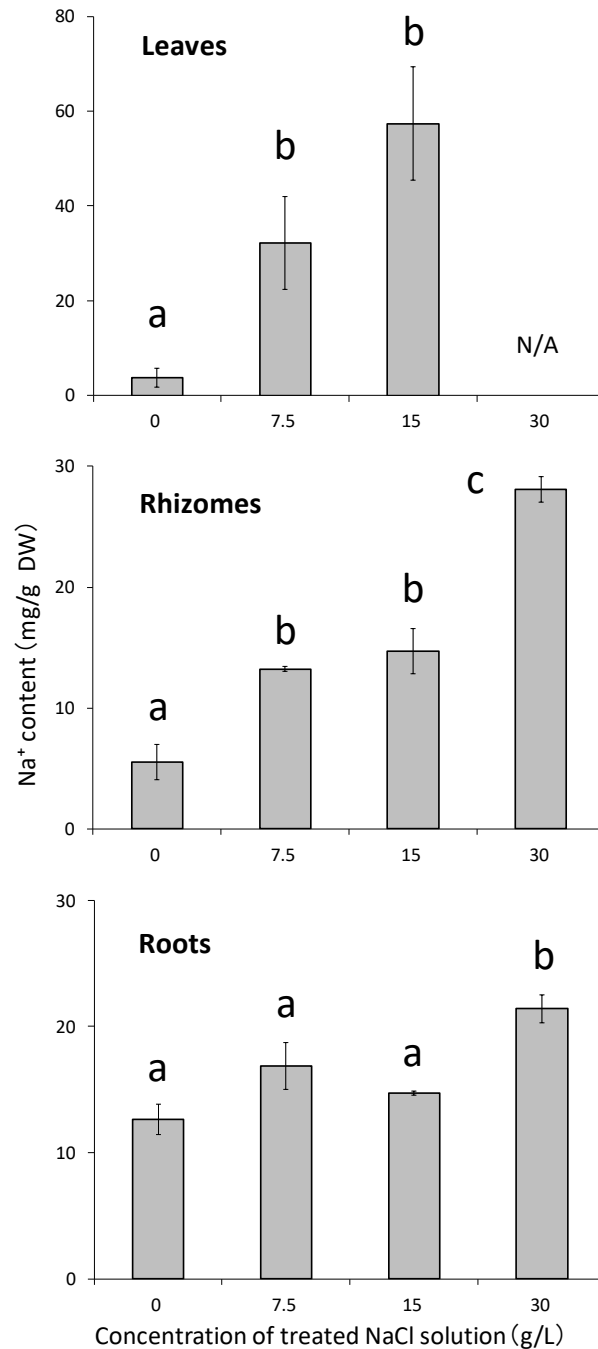


図 15 長期間にわたる 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部、匍匐茎部、根系部における Na⁺含有量

Na⁺ content of *Zoysia matrella* under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent ±SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 191 days for rhizomes and roots. NaCl solution treatment period was 172 days for leaves. Data for Leaves (30g/L NaCl treated) were not available due to all leaves withered. EC of gravity water after 175 days NaCl solution treatment were 0.3mS/cm (Control), 19.5mS/cm [7.5g/L (12mS/cm) treated], 31.1mS/cm [15g/L (24mS/cm) treated], 52.1mS/cm [30g/L (48mS/cm) treated].

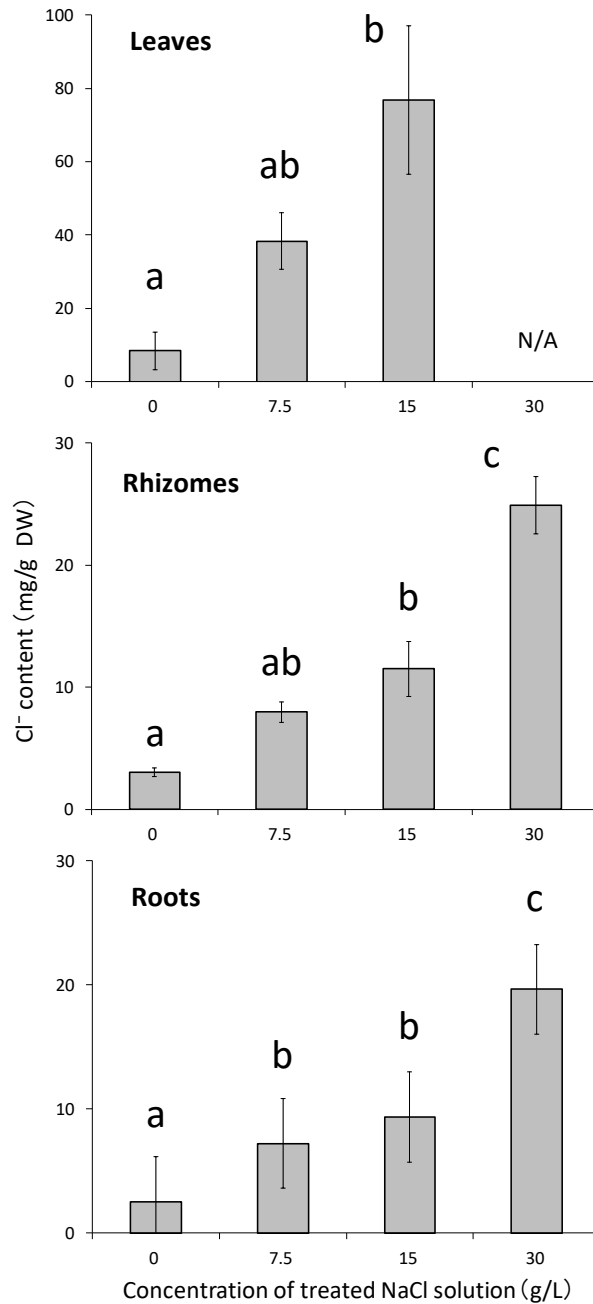


図 16 長期間にわたる 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部、匍匐茎部、根系部における Cl⁻含有量

Cl⁻ content of *Zoysia matrella* under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 191 days for rhizomes and roots. NaCl solution treatment period was 172 days for leaves. Data for Leaves (30g/L NaCl treated) were not available due to all leaves withered. EC of gravity water after 175 days NaCl solution treatment were 0.3mS/cm (Control), 19.5mS/cm [7.5g/L (12mS/cm) treated], 31.1mS/cm [15g/L (24mS/cm) treated], 52.1mS/cm [30g/L (48mS/cm) treated].

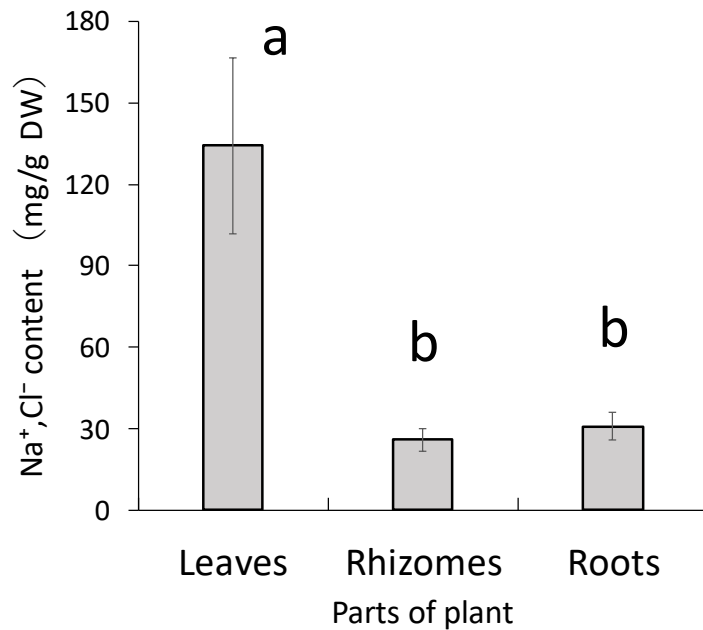


図 17 長期間にわたる NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部、匍匐基部、根系部における Na⁺、Cl⁻含有量 (15g/L 区)

Na⁺, Cl⁻ content of *Zoysia matrella* under 15g/L concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 191 days for rhizomes and roots. NaCl solution treatment period was 172 days for leaves. EC of gravity water after 175 days NaCl solution treatment were 0.3mS/cm (Control), 19.5mS/cm [7.5g/L (12mS/cm) treated], 31.1mS/cm [15g/L (24mS/cm) treated], 52.1mS/cm [30g/L (48mS/cm) treated].

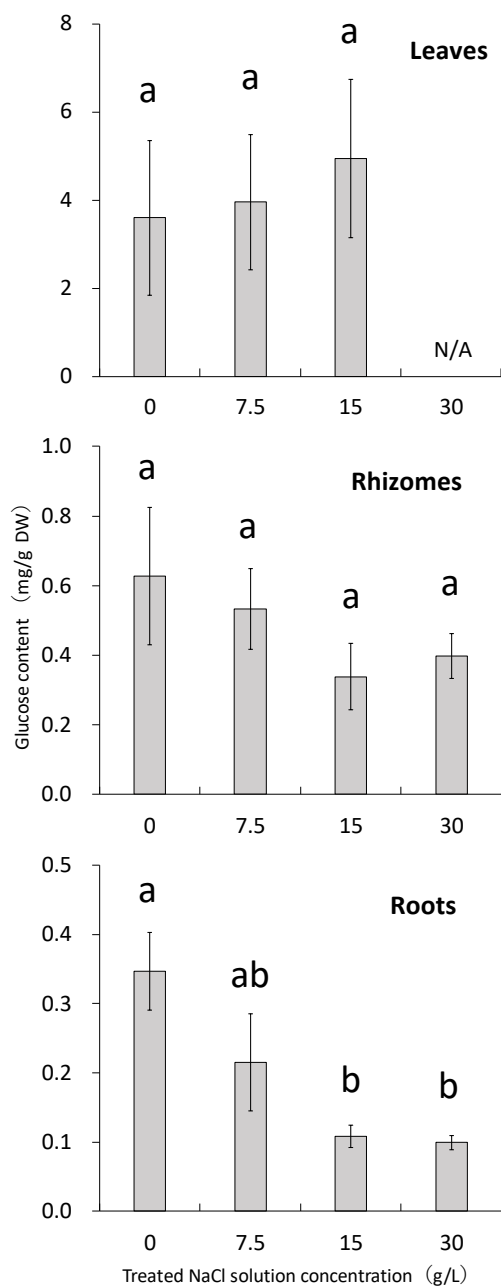


図 18 長期間にわたる 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部、匍匐茎部、根系部におけるグルコース含有量

Glucose content of *Zoysia matrella* under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 191 days for rhizomes and roots. NaCl solution treatment period was 172 days for leaves. Data for Leaves (30g/L NaCl treated) were not available due to all leaves withered. EC of gravity water after 175 days NaCl solution treatment were 0.3mS/cm (Control), 19.5mS/cm [7.5g/L (12mS/cm) treated], 31.1mS/cm [15g/L (24mS/cm) treated], 52.1mS/cm [30g/L (48mS/cm) treated].

3-2. 塩類腺からの塩分排出特性

「塩類腺からの塩分排出特性」(実験 A-2) では、コウライシバに 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液の施用(土壌表面に乾きが見られた時に施用)を行い、葉身部における塩類腺数、塩類腺面積や各イオン (Na^+ 、 Cl^- 、 K^+) の排出量および含有量を測定することで、異なる塩分濃度環境下における本種の垂直方向への塩分移動特性や、塩類腺数、塩類腺面積の変化、塩分排出特性を明らかにすることとした。以下に実験 A-2 により得られた結果を示す。

3-2-1. 重力水の塩分濃度

NaCl 溶液施用後にポット下部から排出された重力水の EC 値 (mS/cm) を測定し、NaCl 濃度 (g/L) に換算した。重力水の推定塩分 (NaCl) 濃度は、9 月 22 日を除いて、NaCl 溶液を施用した、7.5、15、30g/L 区の全てのポットにおいて、施用した回数に応じて高くなった (図 19)。

9 月 5 日 (NaCl 溶液施用 3 回目) では、重力水の推定塩分 (NaCl) 濃度は、施用した NaCl 溶液の濃度より高くなり、0g/L 区 (Control) から順に 0.23、9.86、15.08、31.45g/L NaCl であった。9 月 12 日 (NaCl 溶液施用 4 回目) では、重力水の推定塩分 (NaCl) 濃度が実験期間中で最大となり、0g/L 区 (Control) から順に 0.21、12.6、22.5、38.9g/L NaCl であった。

3-2-2. 葉身部の乾燥重量および枯死率

4 段階の濃度の NaCl 溶液施用環境下におけるコウライシバの健全葉および枯死葉の乾燥重量を図 20 に示す。健全葉の乾燥重量は 0g/L 区 (Control) から順に、3.40、2.37、2.65、2.67 g/pot DW であった。枯死葉は、0g/L 区 (Control) から順に、0.82、0.52、0.65、0.68 g/pot DW であった。健全葉、枯死葉ともに、4 段階の塩分濃度間において乾燥重量に有意な差は見られなかった。

健全葉と枯死葉の乾燥重量から求めた枯死率を表 4 に示す。枯死率は、0g/L 区 (Control) から順に、19.4、18.0、19.7、20.3%であり、4 段階の塩分濃度間では、有意な差は見られなかった。

3-2-3. 葉身部におけるイオン含有量およびイオン排出量とイオン排出率

葉身部 (健全葉) における各イオン (Na^+ 、 Cl^- 、 K^+) のイオン含有量、イオン排出量を図 21、図 22 に示す。また、各イオンのイオン含有量、イオン排出量の値を併せたグラフを図 23 に載せる。

Na^+ 含有量は、0g/L 区 (Control) から順に、4.34、12.16、19.31、25.22 mg/g DW であった。また、 Cl^- 含有量は、0g/L 区 (Control) から順に、6.67、16.24、24.52、35.51 mg/g DW であり、両者ともに、施用塩分濃度が高くなるにつれて有意に高い値を示した (図 21)。一方、 K^+ 含有量は 0g/L 区 (Control) から順に、9.95、8.18、8.90、9.76 mg/g DW であり、

有意な差は無かった (図 21)。

イオン排出量について、Na⁺は 0g/L 区 (Control) から順に、1.71、4.38、5.48、7.30 mg/g DW であり、0g/L 区と比較して、7.5、15、30 g/L 区で有意に高かった。また、Cl⁻は 0g/L 区 (Control) から順に、1.31、3.72、3.45、2.91 mg/g DW であり、4 段階の NaCl 濃度間に有意な差は無かった (図 22)。

K⁺のイオン排出量は Na⁺や Cl⁻の排出量と比べて著しく低く、0g/L 区 (Control) から順に、0.16、0.31、0.16、0.12 mg/g DW であり、4 段階の NaCl 濃度間に有意な差は無かった (図 23)。

得られたイオン含有量と、イオン排出量のデータから、イオン排出率を求めた (表 5)。イオン排出率は、測定した各イオン (Na⁺、Cl⁻、K⁺) の中で、Na⁺が最も高く、0g/L 区 (Control) から順に、28.2、26.5、22.1、22.5%であった。Cl⁻は次に高く、0g/L 区 (Control) から順に、16.4、18.7、12.3、7.6%であり、7.5 g/L 区は、30g/L 区と比べ有意に高い値であった。

K⁺は 0g/L 区 (Control) から順に、1.6、3.7、1.8、1.2%であった。K⁺のイオン排出率は、他のイオンと比べて著しく低く、30g/L 区の Na⁺の排出率と比較した場合には、約 19 倍低い排出率であった。30g/L 区の Cl⁻を除いて、施用 NaCl 濃度間の比較では、全てのイオン排出率に有意な差は見られなかった (表 5)。

3-2-4. 葉身部の塩類腺数および塩類腺面積

葉身部 (健全葉) における塩類腺数は、向軸面で 0g/L 区 (Control) から順に、69.0、66.7、72.0、57.7 個/mm²であった。背軸面では 0g/L 区 (Control) から順に、53.3、42.3、50.3、45.3 個/mm²であり、向軸面、背軸面ともに 4 段階の塩分濃度間に有意な差は無かった (図 24)。

塩類腺面積は、向軸面で 0g/L 区 (Control) から順に、347、327、375、375μm²であった。また、背軸面では 0g/L 区 (Control) から順に、196、193、211、199μm²であり、向軸面、背軸面ともに 4 段階の塩分濃度間に有意な差は無かった (図 25)。

向軸面と背軸面の比較では、塩類腺数および塩類腺面積に違いが見られ、塩類腺数および塩類腺面積は、両者ともに背軸面より、向軸面で高い値であった (図 26)。塩類腺数は、7.5g/L 区と、15g/L 区において背軸面より向軸面で有意に多かった。また、塩類腺面積は、4 段階の塩分濃度全てで、背軸面より向軸面で有意に大きい値であった (図 26)。

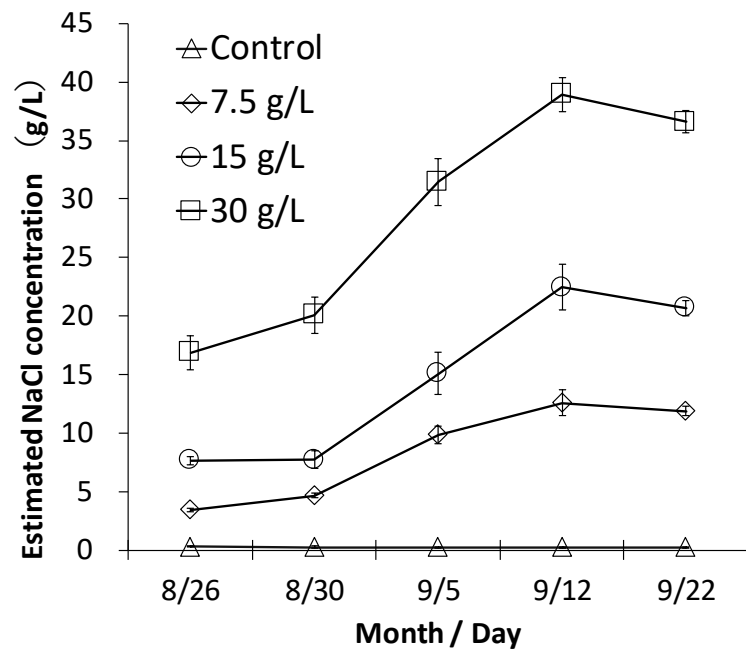


図 19 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用の実験ポットにおける重力水の推定 NaCl 濃度と推移

Estimated NaCl concentration of gravity water from pot under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Control represent 0 g/L NaCl solution treatment.

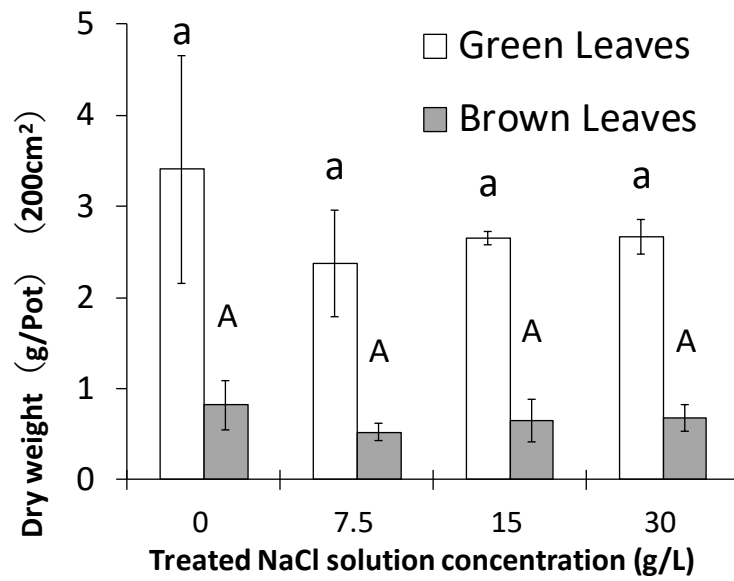


図 20 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの健全葉、枯死葉の乾燥重量

Dry weight of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. Small letter indicates Green Leaves and large letter indicates Brown Leaves in Tukey's test results. NaCl solution treatment period was 35 days. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

表 4 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部における枯死率
Shoot mortality ratio of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 35 days. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

Treated NaCl solution concentration (g/L)	Shoot dry weight (g/200cm ²)		Shoot mortality ratio (%)
	Green leaves	Brown leaves	
0	3.40 \pm 1.25 a	0.82 \pm 0.27 a	19.4 \pm 7.6 a
7.5	2.37 \pm 0.58 a	0.52 \pm 0.10 a	18.0 \pm 6.9 a
15	2.65 \pm 0.07 a	0.65 \pm 0.24 a	19.7 \pm 6.0 a
30	2.67 \pm 0.19 a	0.68 \pm 0.14 a	20.3 \pm 4.5 a

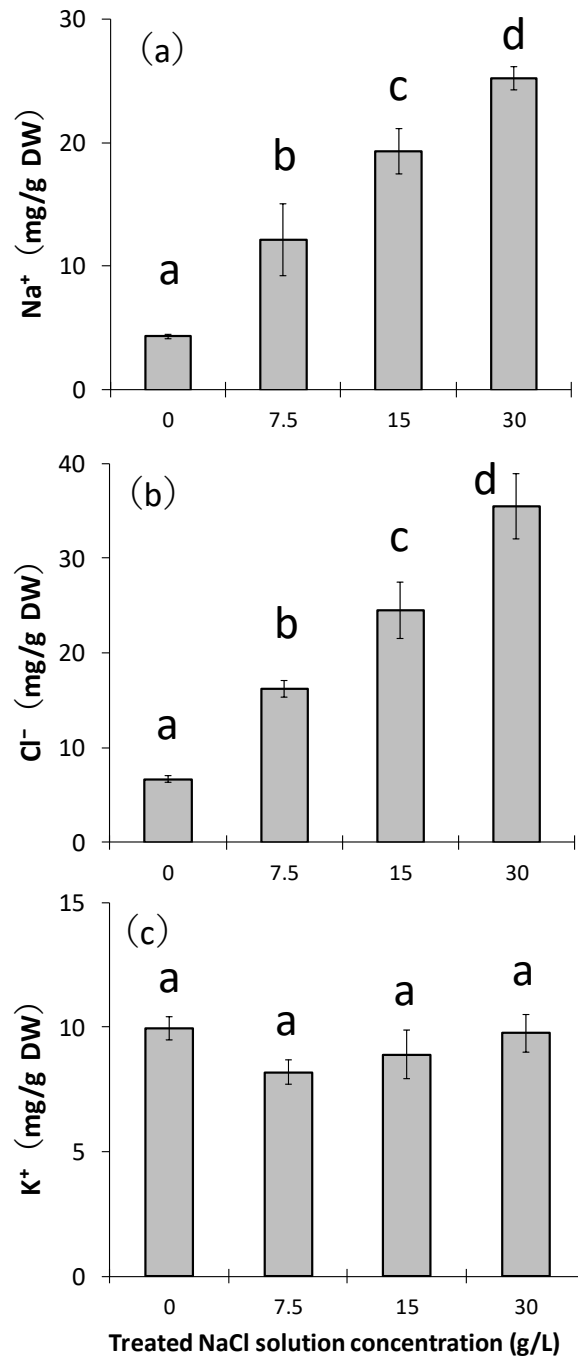


図 21 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部におけるイオン含有量

Ion content of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 35 days. (a)Na⁺, (b)Cl⁻, (c)K⁺. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

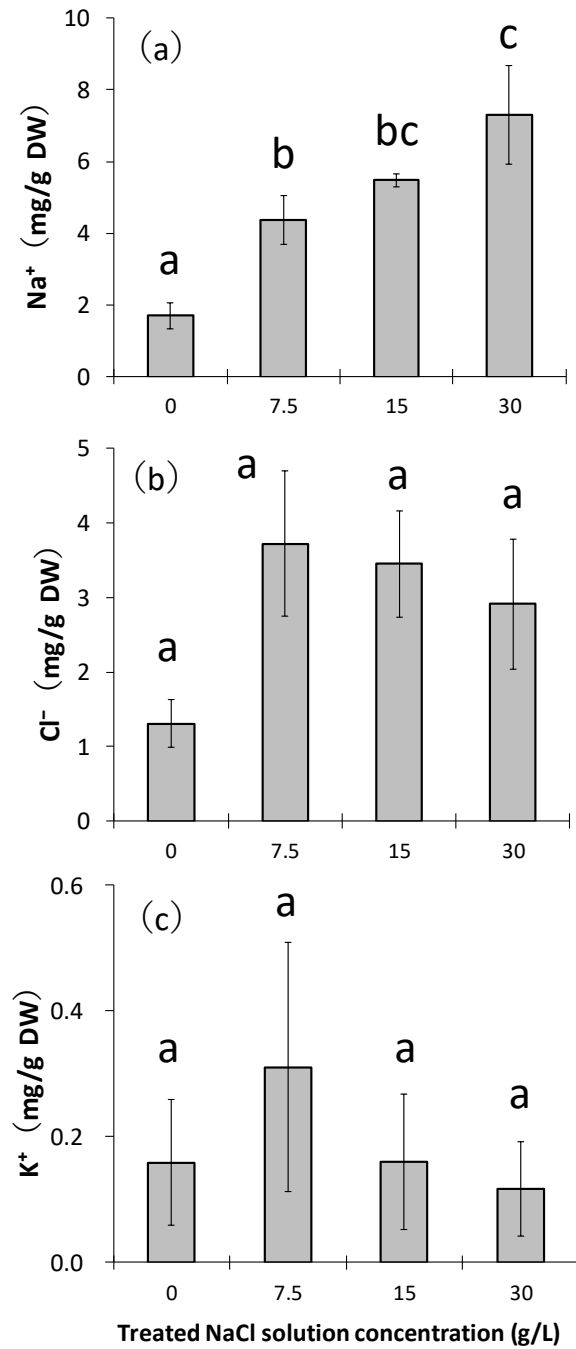


図 22 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部におけるイオン排出量

Ion excretion amount of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 35 days. (a)Na⁺, (b)Cl⁻, (c)K⁺. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

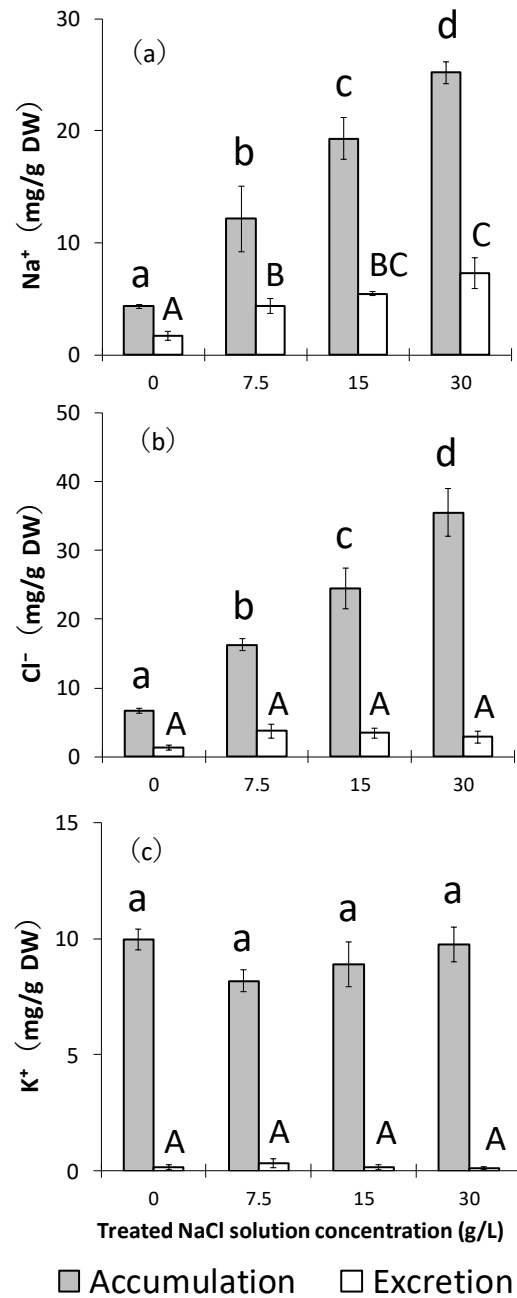


図 23 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部におけるイオン含有量およびイオン排出量

Ion content (accumulation) and ion excretion amount of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. Small letter indicates accumulation in leaves and large letter indicates excretion from the leaves in Tukey's test results. NaCl solution treatment period was 35 days. (a)Na⁺, (b)Cl⁻, (c)K⁺. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

表 5 4段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部におけるイオン排出率

Ion excretion ratio of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 35 days. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

Treated NaCl solution concentration (g/L)	Ion excretion ratio (%)		
	Na ⁺	Cl ⁻	K ⁺
0	28.2 \pm 4.7 a	16.4 \pm 3.3 ab	1.6 \pm 1.0 a
7.5	26.5 \pm 5.9 a	18.7 \pm 4.6 a	3.7 \pm 2.3 a
15	22.1 \pm 2.1 a	12.3 \pm 3.0 ab	1.8 \pm 1.4 a
30	22.5 \pm 2.5 a	7.6 \pm 2.0 b	1.2 \pm 0.8 a

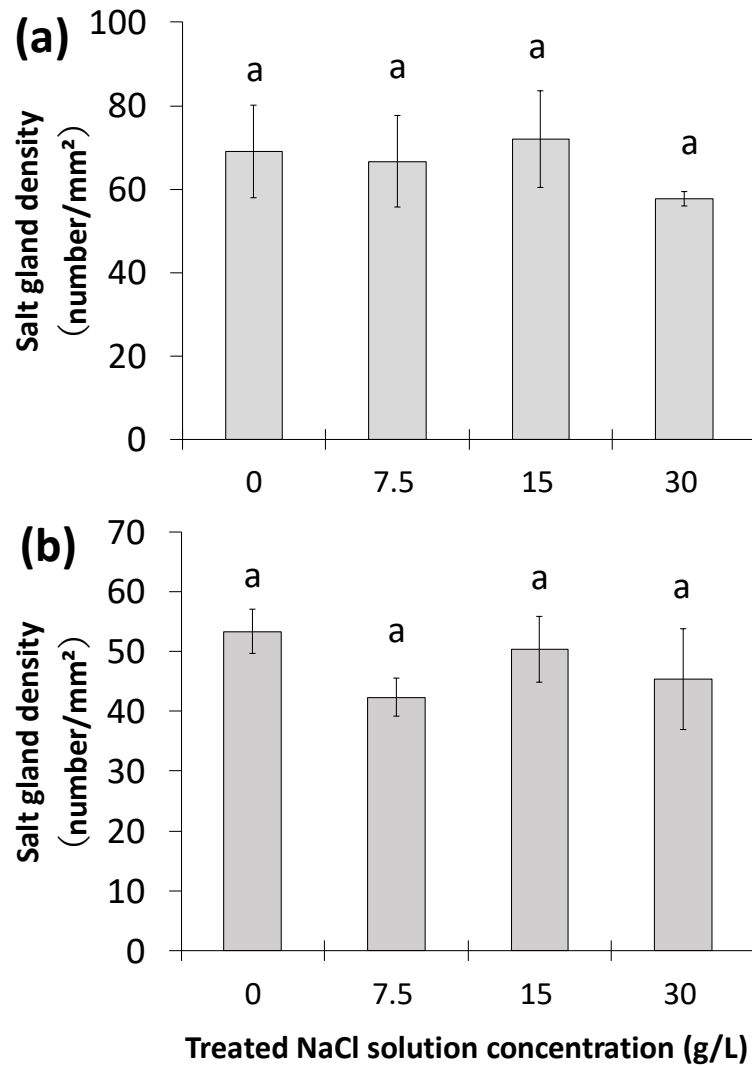


図 24 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部における塩類腺数

Salt gland density of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 35 days. (a)Adaxial side, (b)Abaxial side.

Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

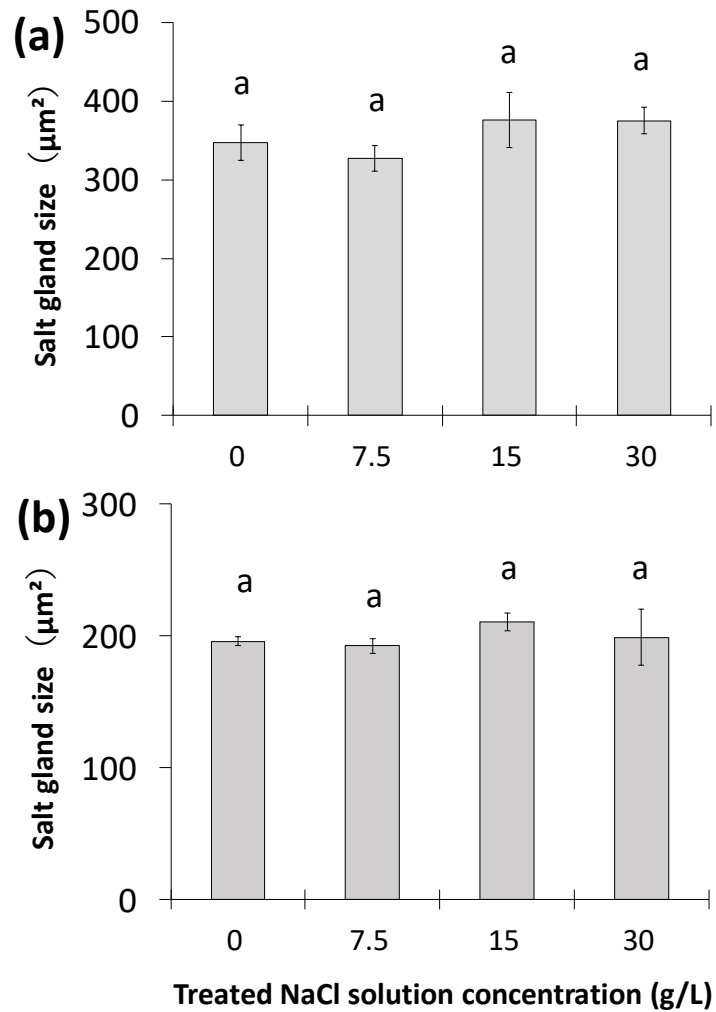


図 25 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部における塩類腺面積

Salt gland size of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. NaCl solution treatment period was 35 days. (a)Adaxial side, (b)Abaxial side. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

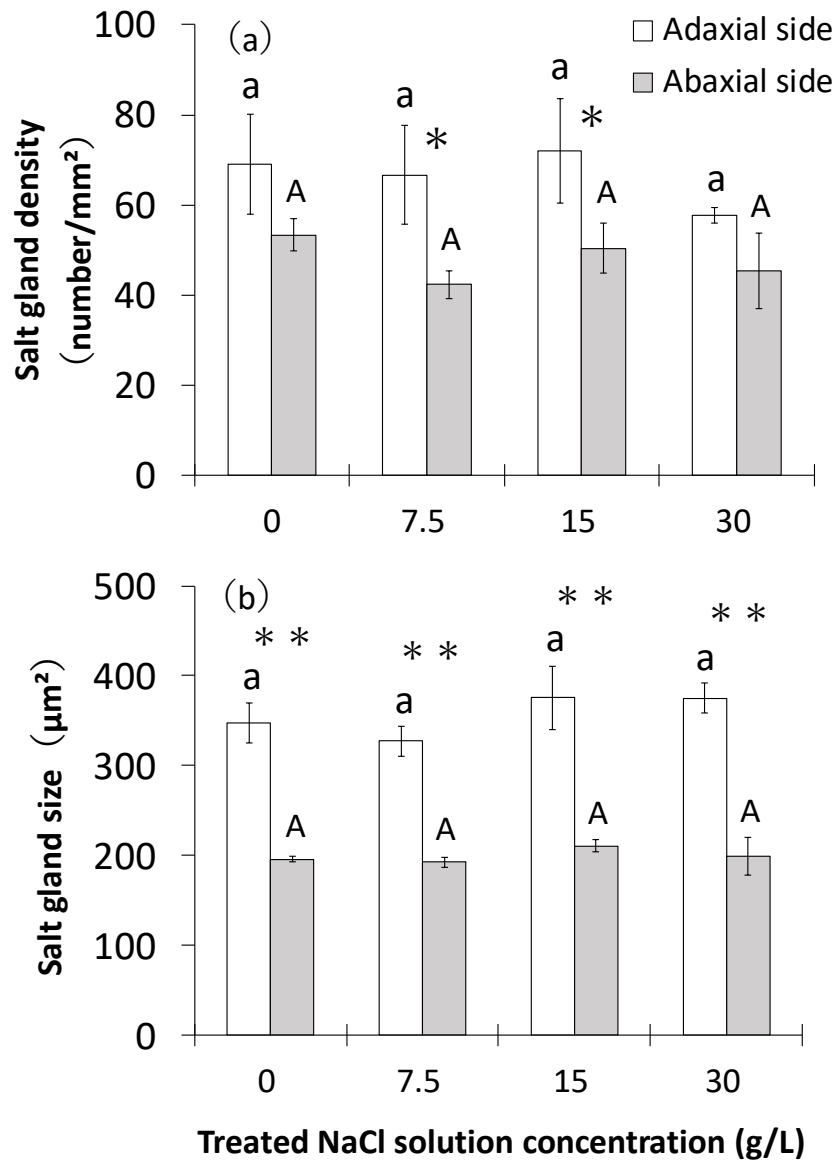


図 26 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部における塩類腺数および塩類腺面積

Salt gland density and size of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. Small letter indicates adaxial side and large letter indicates abaxial side in Tukey's test results. Significant differences between the adaxial side and abaxial side are indicated: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test. NaCl solution treatment period was 35 days. (a)Salt gland density, (b)Salt gland size. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

3-3. ラメット間の水分の移動特性

「ラメット間の水分の移動特性」(実験 B-1) では、3つの実験用ポット [Basal (基部)、Intermediate (中間部)、Apical (先端部)] を並べ、それぞれのポット間において匍匐茎を繋げたままコウライシバを生育させた (図 8)。その後、Intermediate を湿潤環境下 (300mL の水道水施用) に、Basal、Apical を水分制限環境下に置き (図 10)、各ラメットや SNTS (Intermediate から伸長した、まだ発根をしていないラメットになる前の匍匐茎) の乾燥重量 (成長量) や含水率を測定することで、本種のラメット間における水分の移動特性や、乾燥ストレス対応を明らかにすることとした。また、ラメット間の匍匐茎を切断して物質の移動が行われなかったようにした実験区 (Sever) と、ラメット間の匍匐茎を接続したままにしてラメット間の物質移動が行われるようにした実験区 (Intact) を設置し (図 9)、両者を比較することとした。以下に実験 B-1 により得られた結果を示す。

なお、実験 B-1 では、コウライシバ各部 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部) の乾燥重量、含水率、土壌含水比の結果について詳しく説明することとした。その他の測定項目の結果については「3-5. 水平方向の水分と塩分の移動 (補足データ)」で示す。

3-3-1. 土壌含水比

土壌含水比は、地表から 5cm、10cm の深さから採取した土壌の両者において水道水の施用を制限した、Basal、Apical より、水道水を与え続けた Intermediate で高い値であり、Intermediate は、Basal、Apical の 6 倍から 8 倍高い土壌含水比であった (図 27)。

また、地表から 5cm の深さの土壌における土壌含水比は、Intermediate において、Sever で 13.3%、Intact で 10.7% であり、Sever で有意に高い傾向を示した。Apical において有意な差は見られなかったが Sever で 1.9%、Intact で 4.5% であり、Intact で約 2 倍高い土壌含水比を示した。Basal では Sever と Intact に有意な差は見られなかった。

地表から 10cm の深さの土壌における土壌含水比は、Basal、Intermediate、Apical の全てで、Sever と Intact に有意な差は確認されなかった。

3-3-2. 各ラメットの乾燥重量

健全葉の乾燥重量は、Basal の Sever で 1.7g/Pot DW、Intact で 2.8g/Pot DW であった (図 28)。また、Apical では Sever で 0.9g/Pot DW、Intact で 1.9g/Pot DW であり、Basal、Apical とともに、Sever より Intact で 1.5~2 倍高い値であった。一方、Intermediate では Sever で 1.5g/Pot DW、Intact で 1.0g/Pot DW であり、Intact より Sever で高い値であった。しかし、Basal、Intermediate、Apical、SNTS、のいずれのラメットや匍匐茎部においても、Sever と Intact に有意な差は見られなかった。

枯死葉では、Apical の Sever において 1.2g/Pot DW、Intact で 0.5g/Pot DW であり、Intact より Sever で約 2 倍高い値であったが、有意な差は見られなかった。Basal、Intermediate、

SNTS も同様に、Sever と Intact に有意な差は見られなかった。

匍匐茎部では、Basal の Sever で 2.7g/Pot DW、Intact で 3.8g/Pot DW であり、Sever より Intact で有意に高い傾向であった。Apical では Sever で 4.5g/Pot DW、Intact で 6.2g/Pot DW であり、健全葉と同様に Sever より Intact で高い乾燥重量であったが、有意な差では無かった。

根系部では、Basal の Sever で 1.9g/Pot DW、Intact で 3.3g/Pot DW であり、Sever より Intact で有意に高い傾向であった。Intermediate、Apical では Sever と Intact に有意な差は無かった。

3-3-3. 各ラメットの含水率

葉身部（健全葉および枯死葉）の含水率は、Apical において、Sever で 21.5%、Intact で 58.2% であり、Sever より Intact で約 3 倍高く有意な差であった（図 29）。Basal では、Sever で 36.4%、Intact で 42.2% であり、Intact で高い値を示したが有意な差はなかった。Intermediate、SNTS ではいずれも、Sever と Intact に有意な差はなかった。

匍匐茎部では、Apical において Sever で 20.9%、Intact で 39.2% であり、Sever より Intact で約 2 倍高い値であり、有意な差であった。SNTS は約 5% 程度の差であったが、Intact より Sever で有意に高い値であった。Basal では、Sever で 28.9%、Intact で 32.8% であり、Intact で高い値であったが、有意な差はなかった。Intermediate では、Sever と Intact に有意な差は見られなかった。

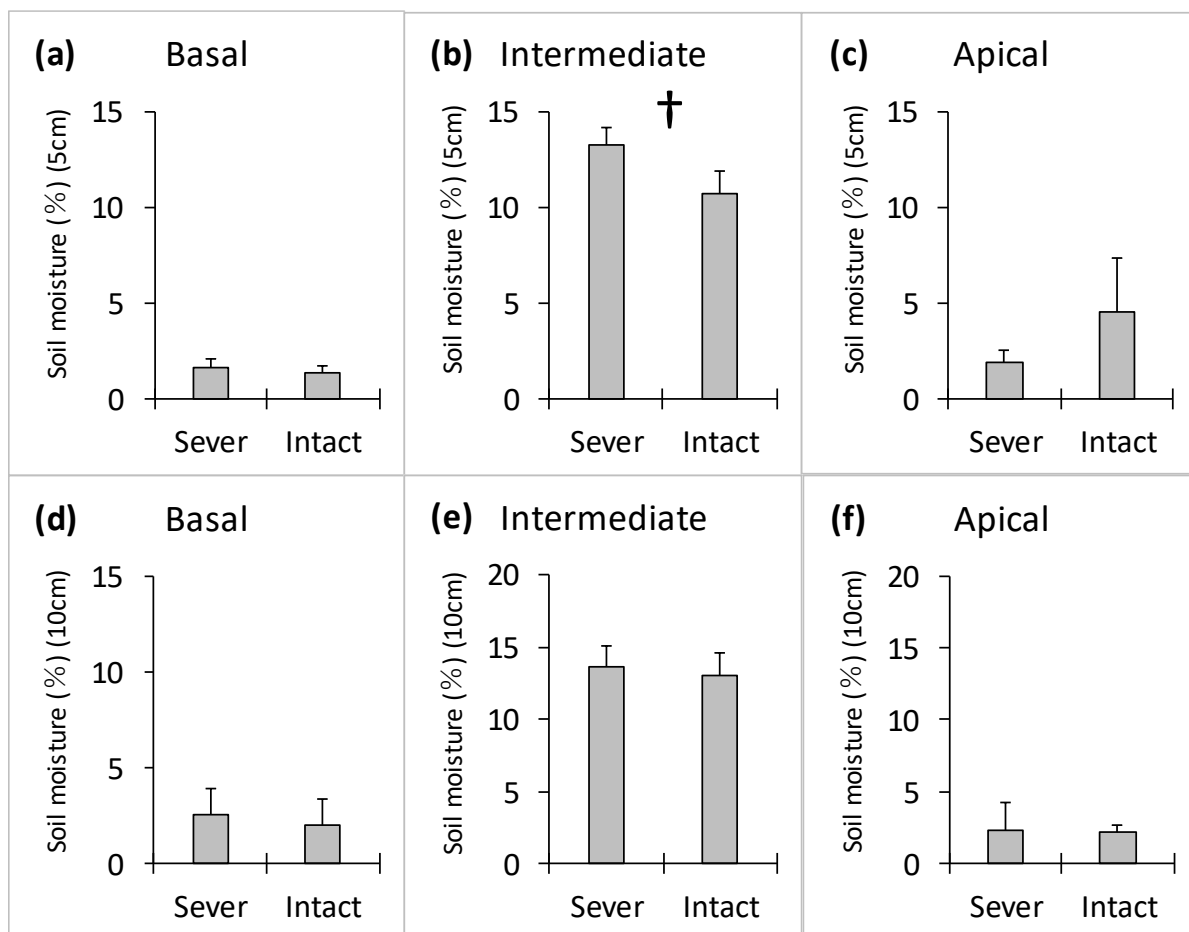


図 27 水分制限区の各実験ポットにおける土壌含水比

Soil moisture in the pot of limited water treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test.

Limited water treatment period was 49 days. (a)-(c) 5cm depth from soil surface, (d)-(f) 10cm depth from soil surface. For more details on experimental condition, see material and methods section.

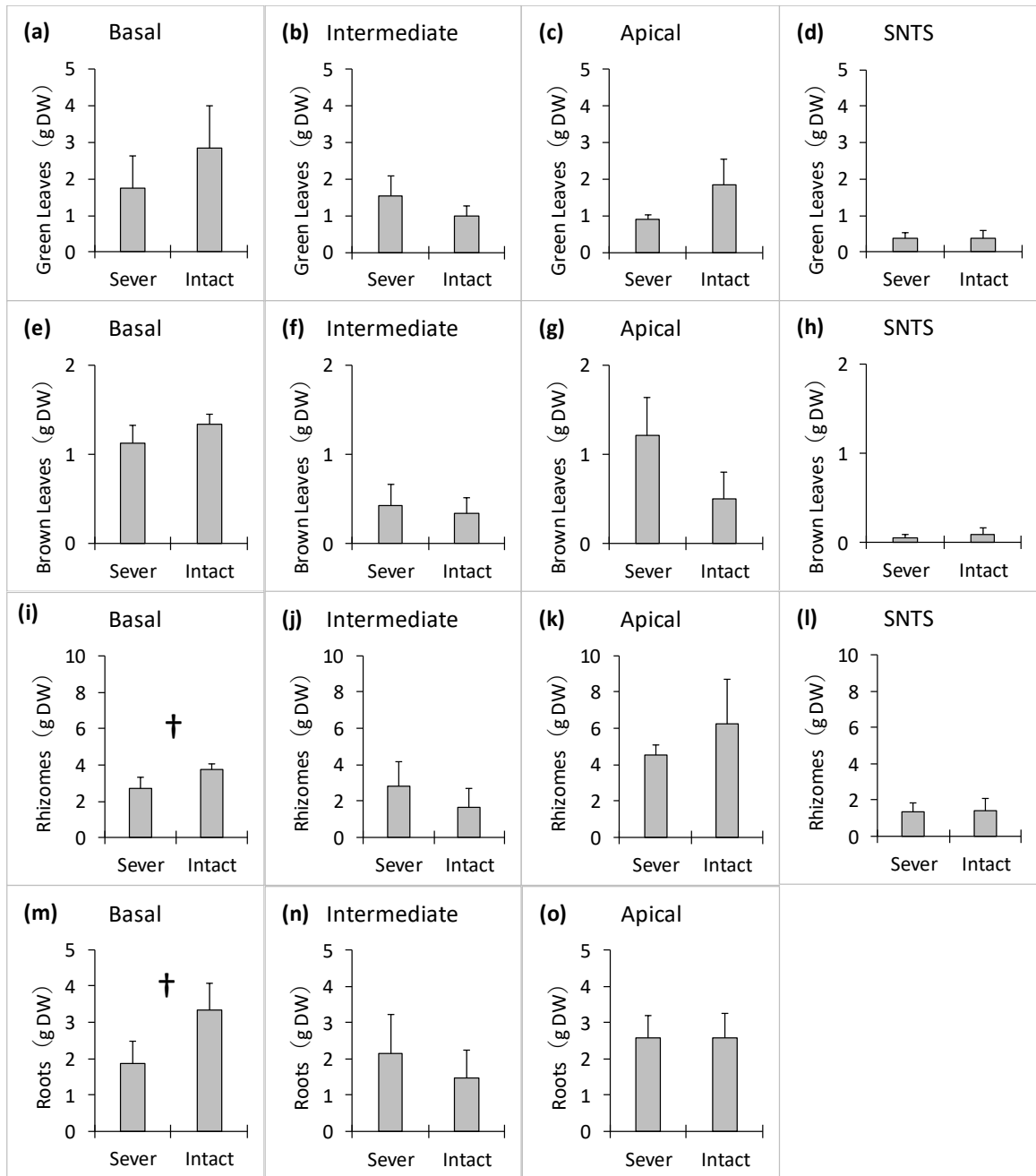


図 28 水分制限区の各ラメットの乾燥重量

Dry weight of each ramets with limited water treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test. Limited water treatment period was 49 days. (a)-(d) Green Leaves, (e)-(h) Brown Leaves, (i)-(l) Rhizomes, (m)-(o) Roots. For more details on experimental condition, see material and methods section.

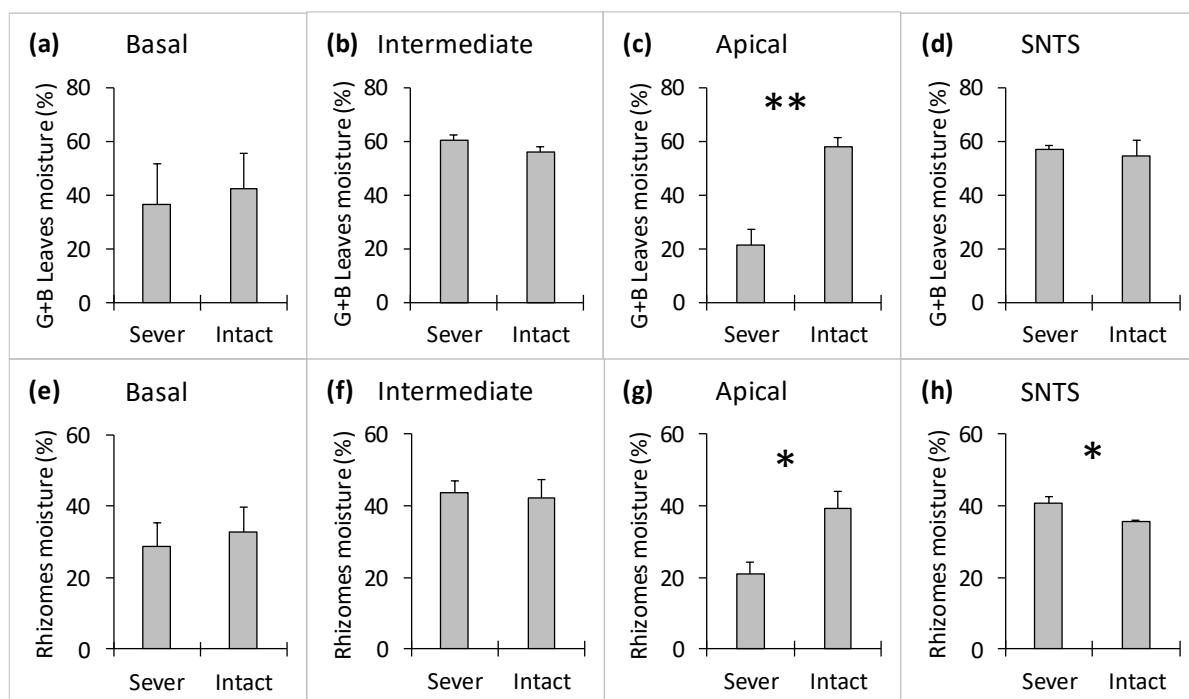


図 29 水分制限区の各ラメットの含水率

Plant moisture of each ramets with limited water treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test. Limited water treatment period was 49 days. (a)-(d) Green Leaves and Brown Leaves, (e)-(h) Rhizomes. For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-4. ラメット間の塩分の移動特性

「ラメット間の塩分の移動特性」(実験 B-2)では、3つの実験用ポット [Basal (基部)、Intermediate (中間部)、Apical (先端部)] を並べ、それぞれのポット間において匍匐茎を繋げたままコウライシバを生育させた (図 8)。その後、Intermediate を塩分環境下 (15g/L の濃度の NaCl 溶液を施用) に、Basal、Apical を水道水施用環境下に置き (図 10)、各ラメットや SNTS (Intermediate から伸長した、まだ発根をしていないラメットになる前の匍匐茎) の乾燥重量 (成長量) や体内塩分 (Na⁺、Cl⁻) 含有量を測定することで、本種のラメット間における塩分の移動特性や、塩ストレス対応を明らかにすることとした。また、ラメット間の匍匐茎を切断して物質の移動が行われなかったようにした実験区 (Sever) と、ラメット間の匍匐茎を接続したままにしてラメット間の物質移動が行われるようにした実験区 (Intact) を設置し (図 9)、両者を比較することとした。以下に実験 B-2 により得られた結果を示す。

なお、実験 B-2 では、コウライシバ各部 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部) の乾燥重量、Na⁺および Cl⁻含有量、土壌 EC 値、土壌 pH の結果について詳しく説明することとした。その他の測定項目の結果については「3-5. 水平方向の水分と塩分の移動 (補足データ)」で示す。

3-4-1. 土壌 EC 値

土壌 EC 値は、NaCl 溶液を施用した Intermediate の Sever で 669 μ S/cm、Intact で 524 μ S/cm であり、有意な差は見られなかったが Sever より Intact で約 150 μ S/cm 低い値であった (図 30)。NaCl 溶液の施用を行っていない、Basal、Apical では共に、Sever と Intact に有意な差はなかった。

3-4-2. 土壌 pH

土壌 pH は、Basal、Intermediate、Apical の全てのポットで、7 程度の値を示し、Sever と Intact に有意な差は見られなかった (図 31)。

3-4-3. 各ラメットの乾燥重量

健全葉の乾燥重量は、Basal において Sever で 3.0g/Pot DW、Intact で 2.2g/Pot DW であり、Intact より Sever で高い値であったが、有意な差では無かった (図 32)。他のラメットおよび匍匐茎では、Intermediate、Apical、SNTS において、Sever と Intact に大きな違いが見られず有意差はなかった。

枯死葉の乾燥重量は、Basal において Sever で 1.0g/Pot DW、Intact で 1.4g/Pot DW であった。また、Intermediate では、Sever で 0.2g/Pot DW、Intact で 0.6g/Pot DW であった。Apical では Sever で 0.3g/Pot DW、Intact で 0.7g/Pot DW であった。枯死葉の乾燥重量は、Basal、

Intermediate、Apical、SNTS の全てで、Sever より Intact で高い値が示された。Basal、Intermediate では、Sever より Intact で有意に高く、また、Apical では、Sever より Intact で有意に高い傾向を示した。

匍匐茎部の乾燥重量は、全てのラメット (Basal、Intermediate、Apical) および SNTS において、Sever、Intact の間に有意な差がなかった。また、根系部では、Intermediate において、Sever で 0.4g/Pot DW、Intact で 0.6g/Pot DW であり、Sever より Intact で有意に高い傾向であった。Apical では、Sever より Intact で約 1.5 g 高い値であったが、有意な差ではなかった。

3-4-4. 各ラメットの Na⁺含有量

健全葉の Na⁺含有量は、Intermediate において Sever で 8.2mg/g DW、Intact で 6.3mg/g DW であり、Intact より Sever で有意に高い傾向であった (図 33)。SNTS では、Sever で 7.3mg/g DW、Intact で 3.4mg/g DW であり、Intact より Sever で有意に高かった。一方、Basal、Apical では、Intact と Sever に有意な差は確認されなかった。

枯死葉の Na⁺含有量は、Intermediate において、Sever で 27.3mg/g DW、Intact で 17.8mg/g DW であり、Intact より Sever で有意に高い傾向であった (図 33)。SNTS では、Sever で 17.9mg/g DW、Intact で 10.3mg/g DW であり、Intact より Sever で高い値であったが、有意な差ではなかった。

健全葉と枯死葉の Na⁺含有量の比較では、Intermediate において、Intact、Sever ともに健全葉より枯死葉で約 3 倍の値であった。さらに、SNTS では、Intact、Sever 共に健全葉より枯死葉で約 2 倍から 3 倍高い値であった (図 33)。

匍匐茎部の Na⁺含有量は、Apical において僅かな差であったが、Sever より Intact で有意に高い値であった。Intermediate では、Sever より Intact で高い値であったが、有意な差は見られなかった。根系部では、全てのラメット (Basal、Intermediate、Apical) において、Intact と Sever に有意な差は見られなかった (図 33)。

3-4-5. 各ラメットの Cl⁻含有量

健全葉の Cl⁻含有量は、SNTS において Sever で 13.2mg/g DW、Intact で 11.0mg/g DW であり、Intact より Sever で有意に高い傾向であった (図 34)。その他の全てのラメット (Basal、Intermediate、Apical) では、Intact と Sever に有意な差は見られなかった。

枯死葉の Cl⁻含有量は、Apical において、僅かな差であったが、Intact より Sever で有意に高い値であった。Intermediate では、Sever で 43.2mg/g DW、Intact で 32.4mg/g DW であった。また、SNTS では Sever で 31.1mg/g DW、Intact で 20.6mg/g DW であり、Intermediate、SNTS ともに、Intact より Sever で高い値であったが、有意な差ではなかった (図 34)。

健全葉と枯死葉の比較では、枯死葉の Cl⁻含有量は、Intermediate、SNTS において、健全

葉より高い値が示され、健全葉の 2 倍から 3 倍高い値であった。

匍匐茎部では、Intermediate において Sever で 12.0mg/g DW、Intact で 17.2mg/g DW であり、Sever より Intact で高い値であったが、有意差はなかった。その他のラメット (Basal、Apical) および SNTS では、Sever と Intact の間に有意な差はみられなかった (図 34)。

根系部では、Intermediate において、Sever で 14.2mg/g DW、Intact で 17.2mg/g DW であり、Sever より Intact で有意に高い傾向であった。Basal、Apical では、Sever と Intact に有意な差はなかった (図 34)。

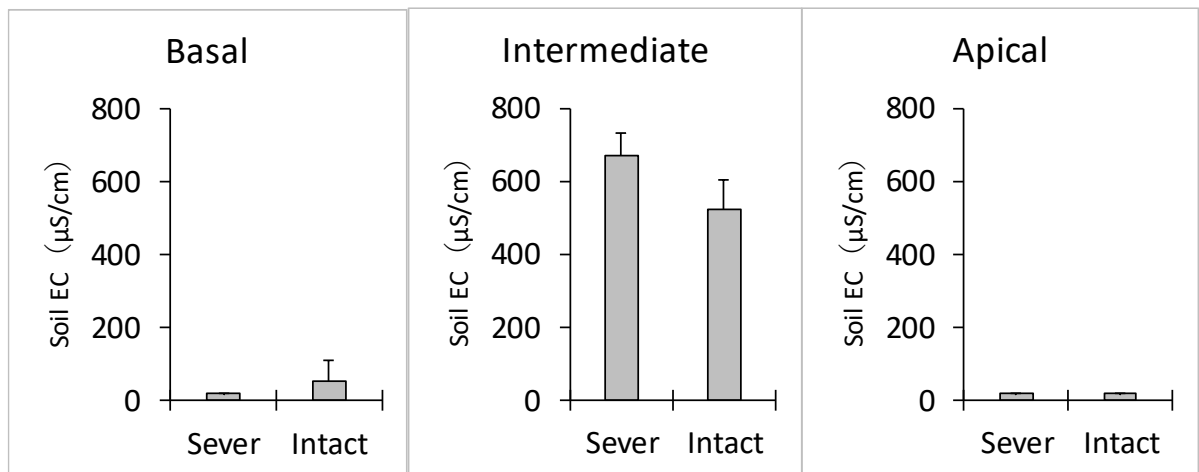


図 30 塩分施用区の各実験ポットにおける土壌 EC

Soil EC in the pot of NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test.

NaCl solution treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

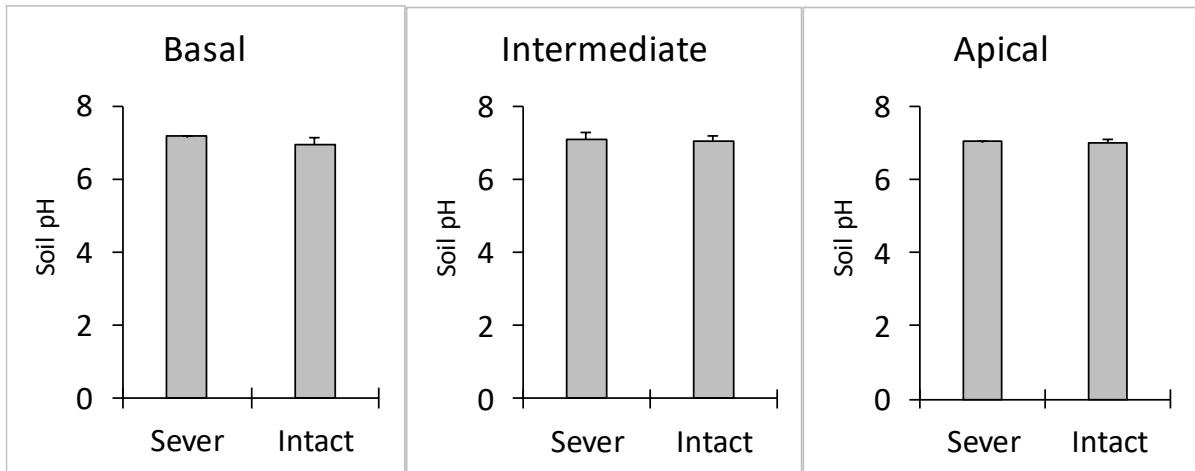


図 31 塩分施用区の各実験ポットにおける土壌 pH

Soil pH in the pot of NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

NaCl solution treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

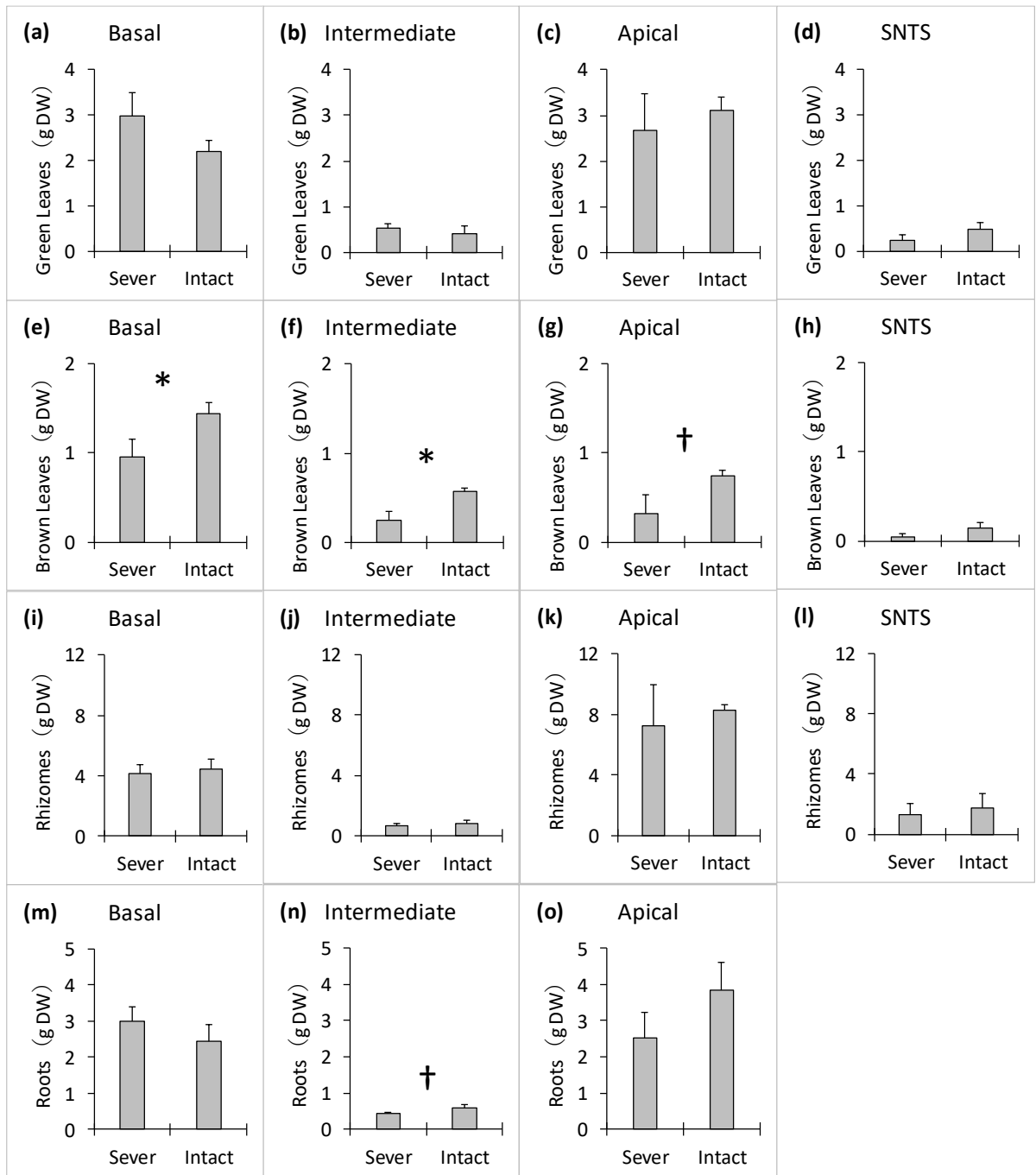


図 32 塩分施用区の各ラメットの乾燥重量

Dry weight of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent ±SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

NaCl solution treatment period was 49 days. (a)-(d) Green Leaves, (e)-(h) Brown Leaves, (i)-(l) Rhizomes, (m)-(o) Roots.

For more details on experimental condition, see material and methods section.

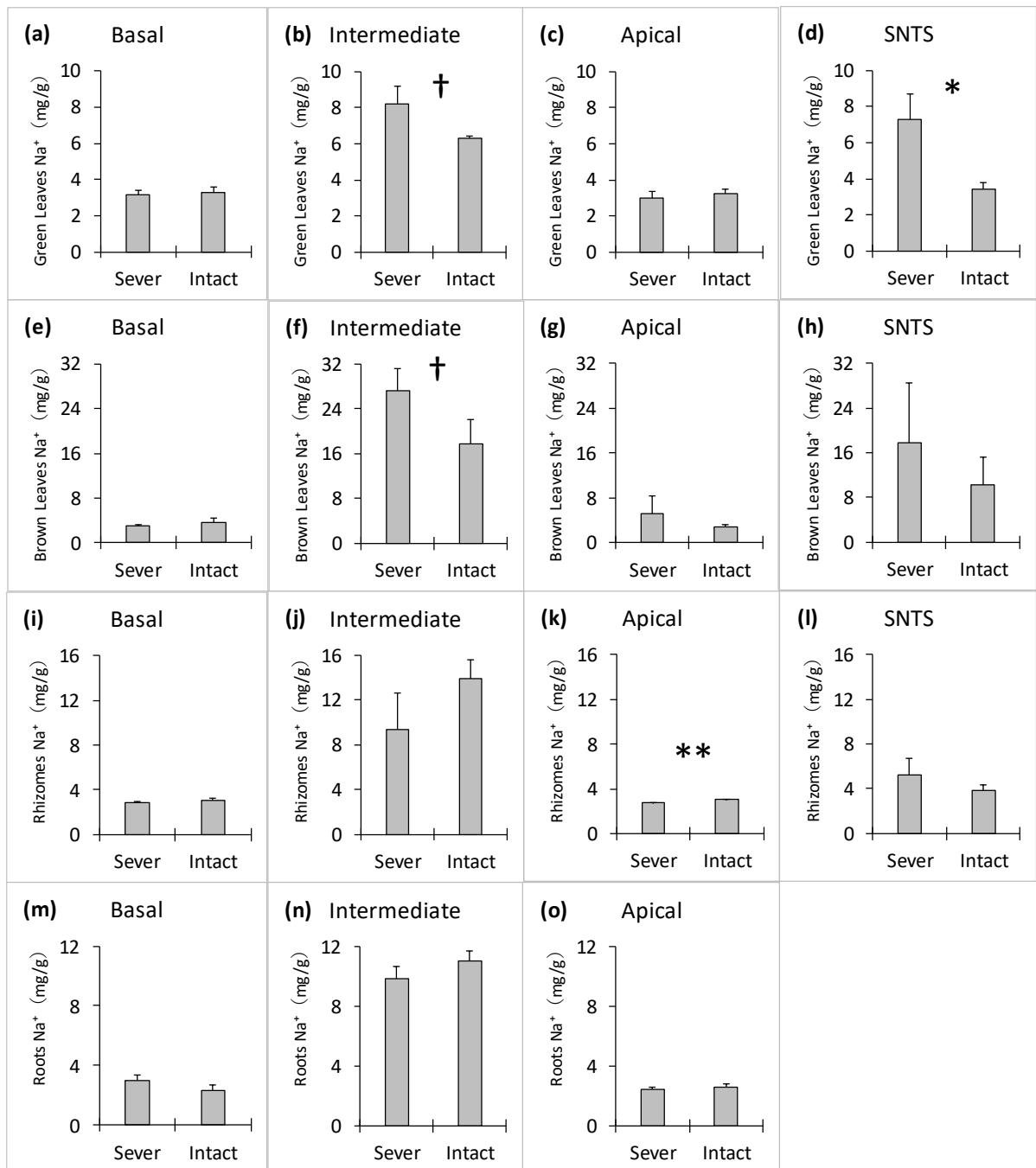


図 33 塩分施用区の各ラメットの Na⁺含有量

Na⁺ content of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

NaCl solution treatment period was 49 days. (a)-(d) Green Leaves, (e)-(h) Brown Leaves, (i)-(l) Rhizomes, (m)-(o) Roots.

For more details on experimental condition, see material and methods section.

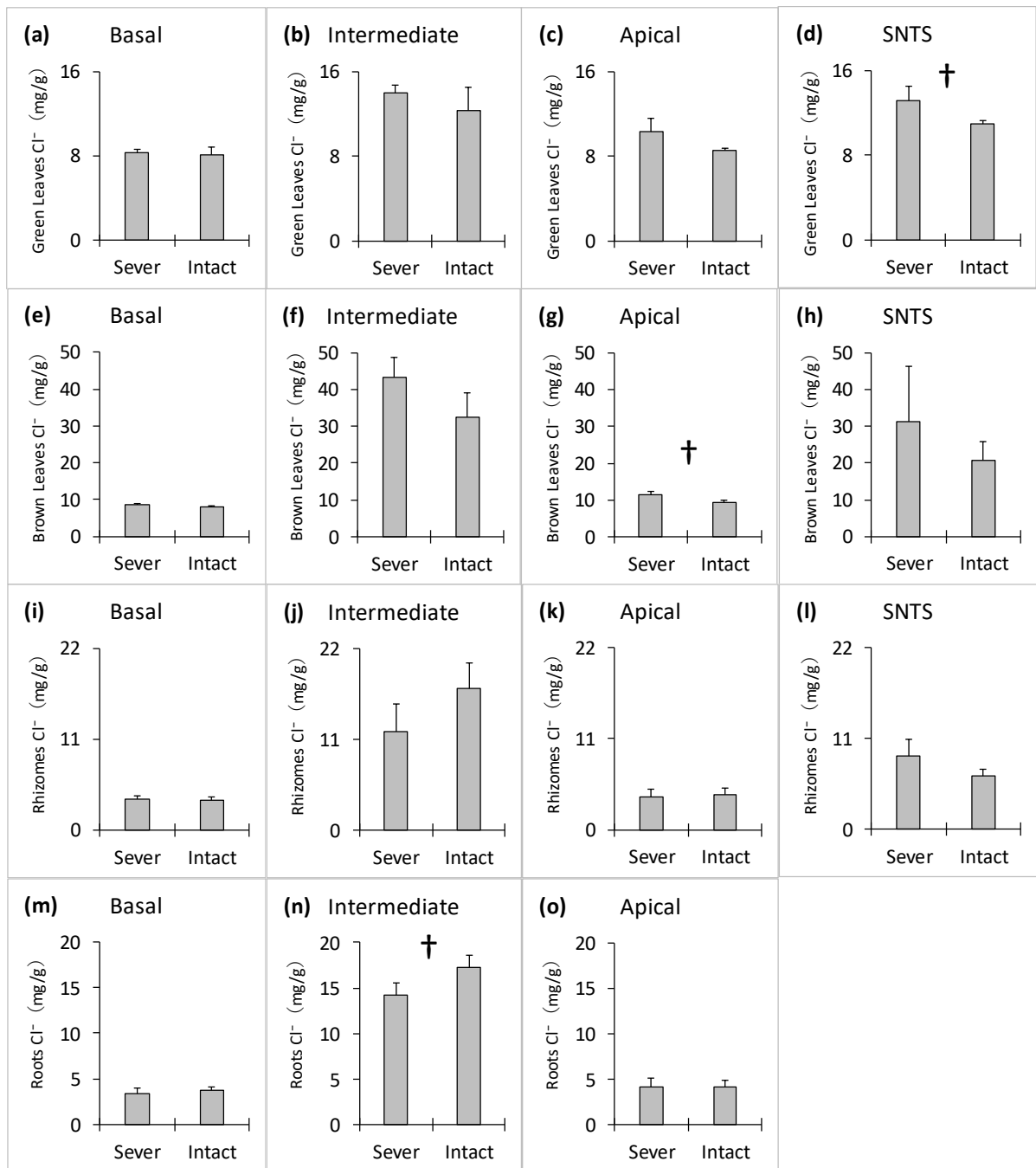


図 34 塩分施用区の各ラメットの Cl⁻含有量

Cl⁻ content of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

NaCl solution treatment period was 49 days. (a)-(d) Green Leaves, (e)-(h) Brown Leaves, (i)-(l) Rhizomes, (m)-(o) Roots.

For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-5. 水平方向の水分と塩分の移動（補足データ）

本研究では、コウライシバのラメット間の物質移動特性を明らかにするため、「Control 区」「水分制限区（実験 B-1）」「塩分施用区（実験 B-2）」の 3 項目について実験を行った。

「水分制限区（実験 B-1）」および「塩分施用区（実験 B-2）」に関しては、得られた結果の内、特に重要と思われた実験結果について既に説明した（3-3. ラメット間の水分の移動特性）、（3-4. ラメット間の塩分の移動特性）。

「Control 区」「水分制限区（実験 B-1）」「塩分施用区（実験 B-2）」において得られた他の測定項目の結果は補足データとして以下に示す順番で結果のみを示すこととした。

各ラメットの新鮮重量（Control 区、水分制限区、塩分施用区）（図 35、図 36、図 37）

各ラメットの乾燥重量（Control 区）（図 38）

各ラメットの含水率（Control 区、塩分施用区）（図 39、図 40）

各ラメットの草丈（Control 区、水分制限区、塩分施用区）（図 41、図 42、図 43）

各ラメットの Na⁺、Cl⁻含有量（Control 区）（図 44、図 45）

土壌の Na⁺、Cl⁻濃度（Control 区、塩分施用区）（図 46、図 47）

土壌の EC 値、pH（Control 区）（図 48）

土壌含水比（Control 区）（図 49）

3-5-1. 各ラメットの新鮮重量 (Control 区、水分制限区、塩分施用区)

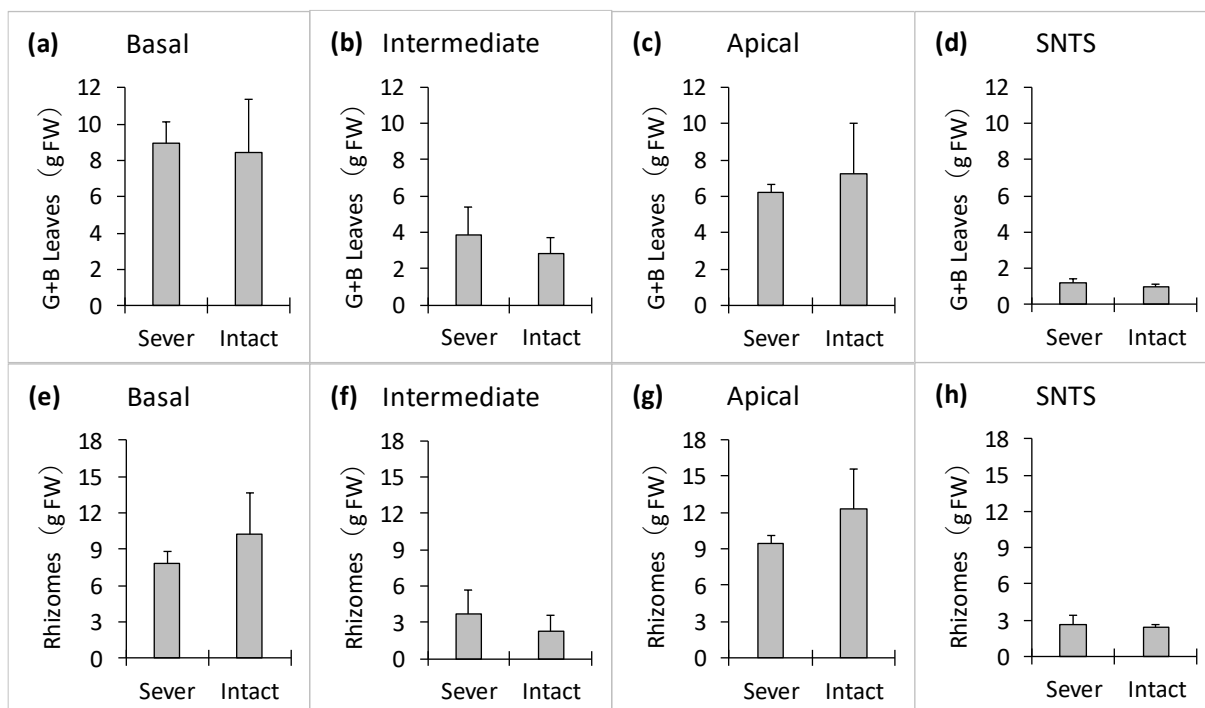


図 35 Control 区 of 各ラメットの新鮮重量

Fresh weight of each ramet with control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test. (a)-(d) Green Leaves and Brown Leaves, (e)-(h) Rhizomes. For more details on experimental condition, see material and methods section.

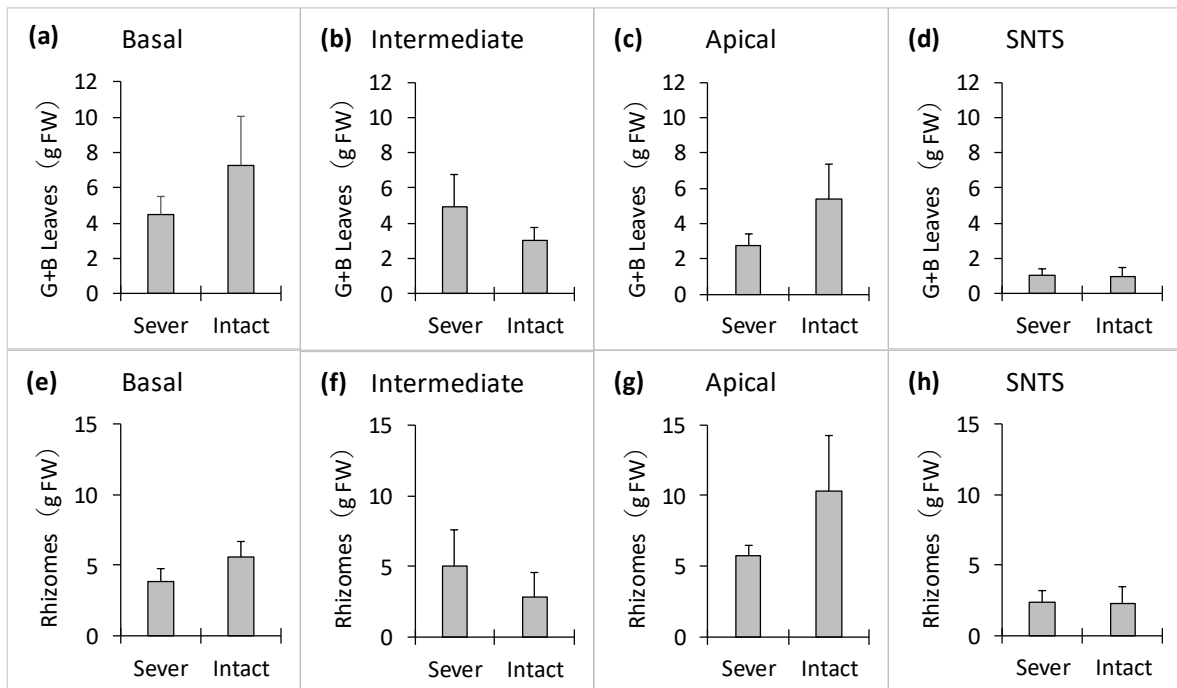


図 36 水分制限区の各ラメットの新鮮重量

Fresh weight of each ramets with limited water treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. Limited water treatment period was 49 days. (a)-(d) Green Leaves and Brown Leaves, (e)-(h) Rhizomes. For more details on experimental condition, see material and methods section.

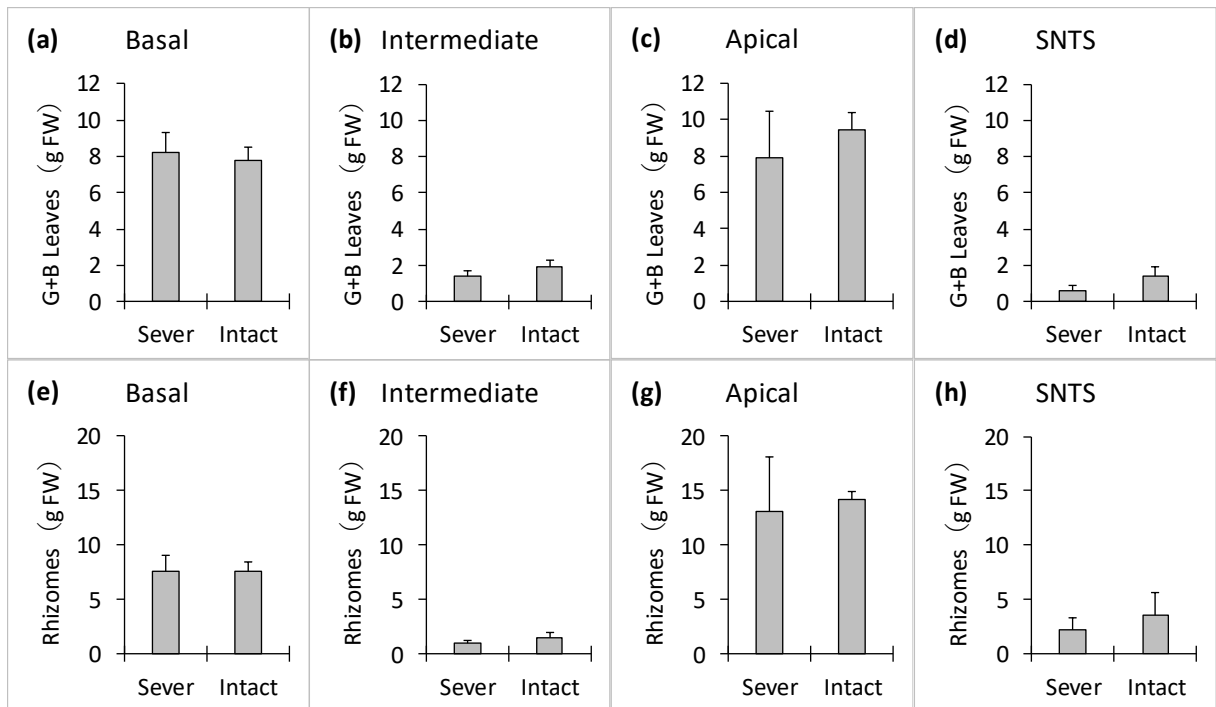


図 37 塩分施用区の各ラメットの新鮮重量

Fresh weight of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. NaCl solution treatment period was 49 days. (a)-(d) Green Leaves and Brown Leaves, (e)-(h) Rhizomes. For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-5-2. 各ラメットの乾燥重量 (Control 区)

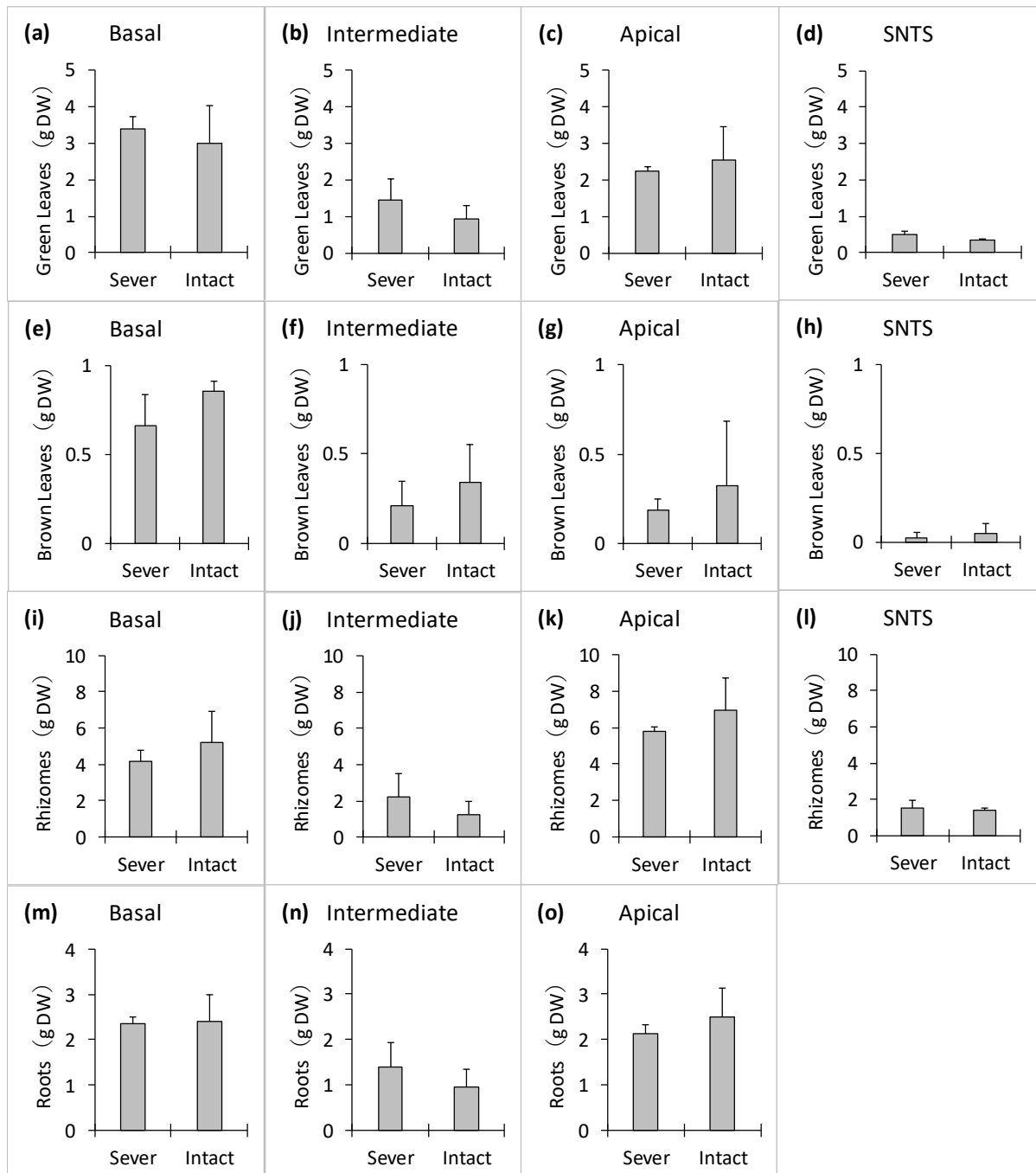


図 38 Control 区 of 各ラメットの乾燥重量

Dry weight of each ramet with control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test.

(a)-(d) Green Leaves, (e)-(h) Brown Leaves, (i)-(l) Rhizomes, (m)-(o) Roots. For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-5-3. 各ラメットの含水率（Control 区、塩分施用区）

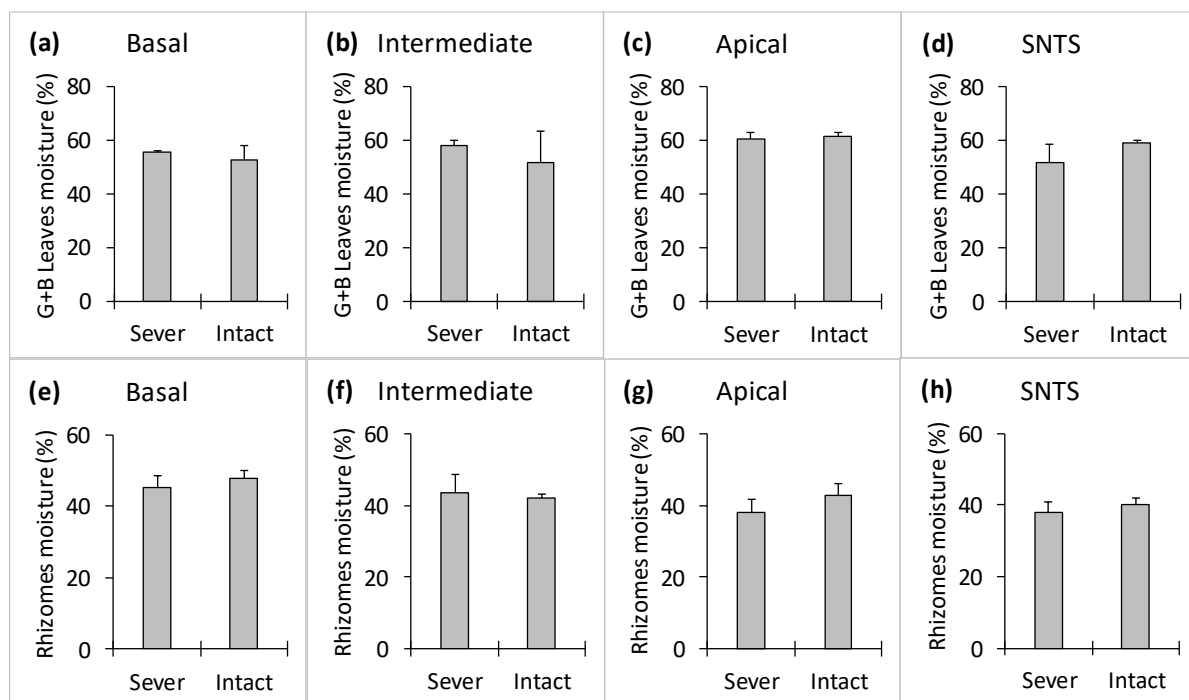


図 39 Control 区 of 各ラメットの含水率

Plant moisture of each ramets with control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

(a)-(d) Green Leaves and Brown Leaves, (e)-(h) Rhizomes. For more details on experimental condition, see material and methods section.

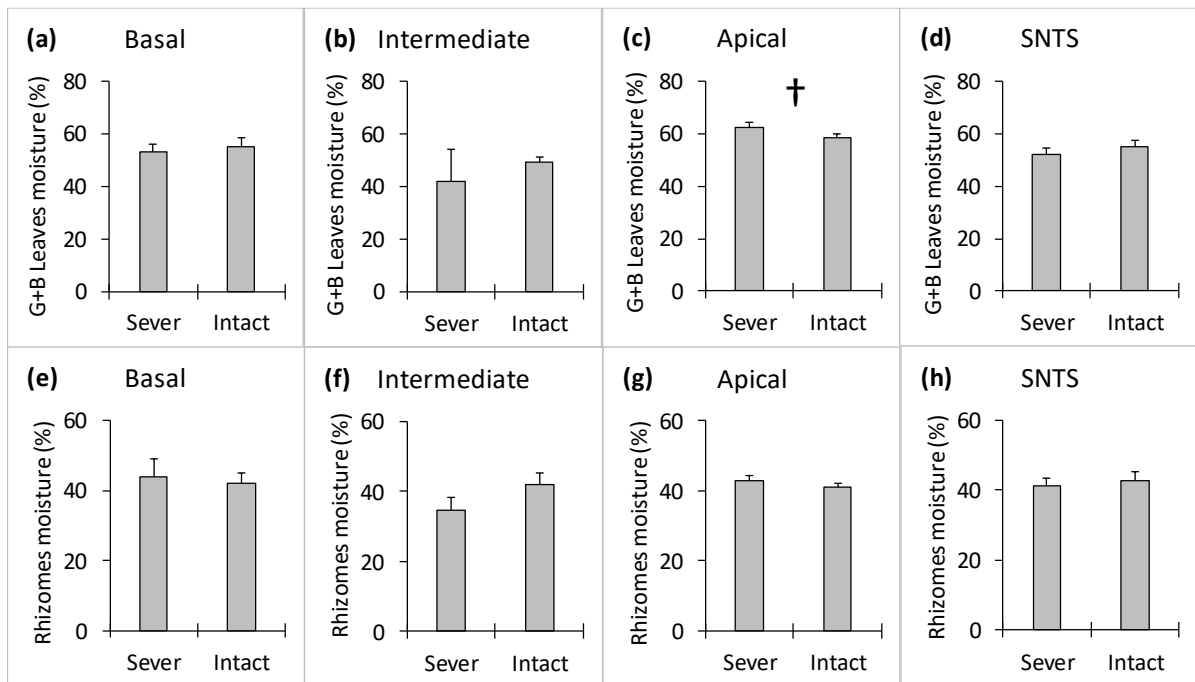


図 40 塩分施用区の各ラメットの含水率

Plant moisture of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. NaCl solution treatment period was 49 days. (a)-(d) Green Leaves and Brown Leaves, (e)-(h) Rhizomes. For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-5-4. 各ラメットの草丈 (Control 区、水分制限区、塩分施用区)

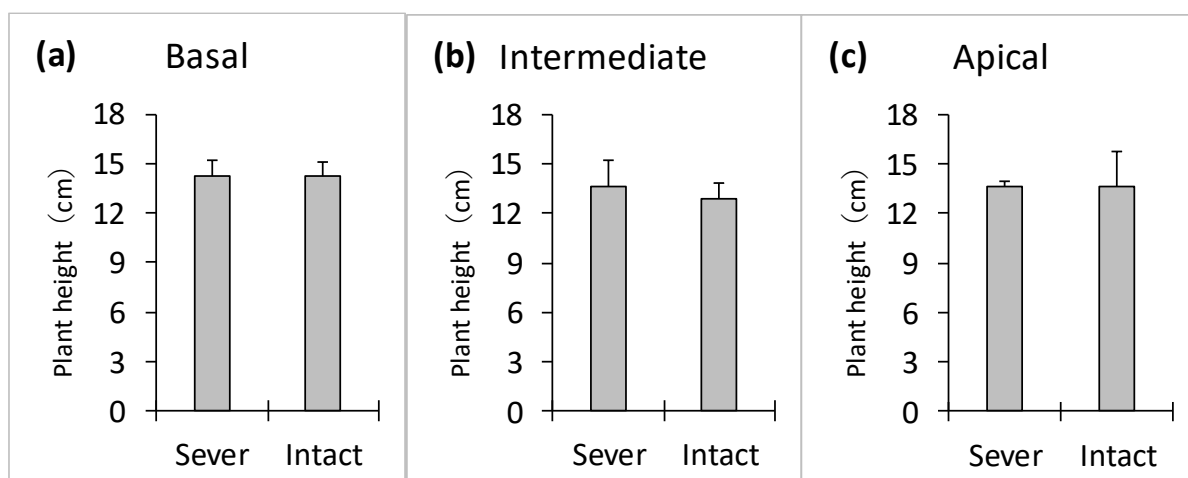


図 41 Control 区 of 各ラメットの草丈

Plant height of each ramets with control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test.

(a) Basal, (b) Intermediate, (c) Apical. For more details on experimental condition, see material and methods section.

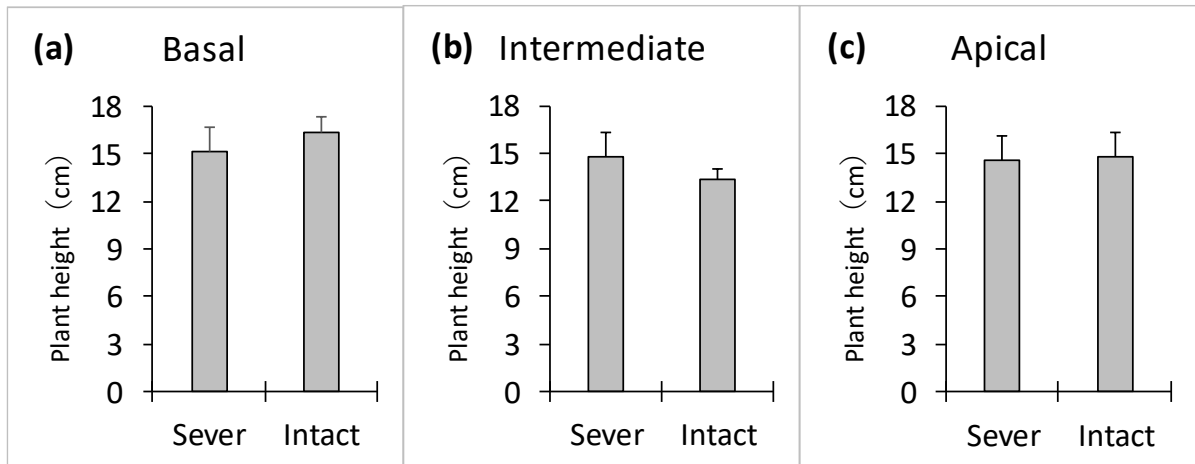


図 42 水分制限区の各ラメットの草丈

Plant height of each ramets with limited water treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test. Limited water treatment period was 49 days. (a) Basal, (b) Intermediate, (c) Apical. For more details on experimental condition, see material and methods section.

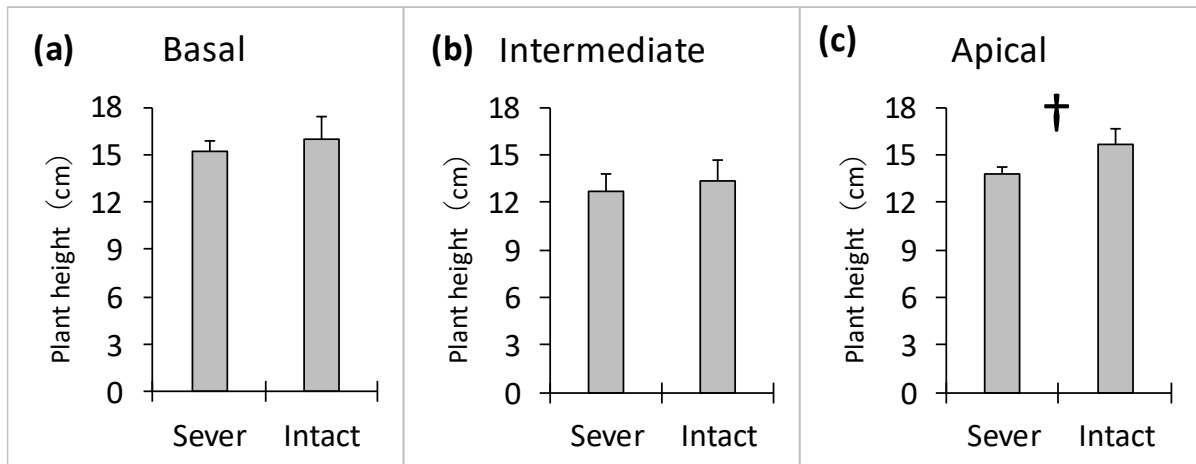


図 43 塩分施用区の各ラメットの草丈

Plant height of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. NaCl solution treatment period was 49 days. (a) Basal, (b) Intermediate, (c) Apical. For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-5-5. 各ラメットの Na⁺、Cl⁻含有量 (Control 区)

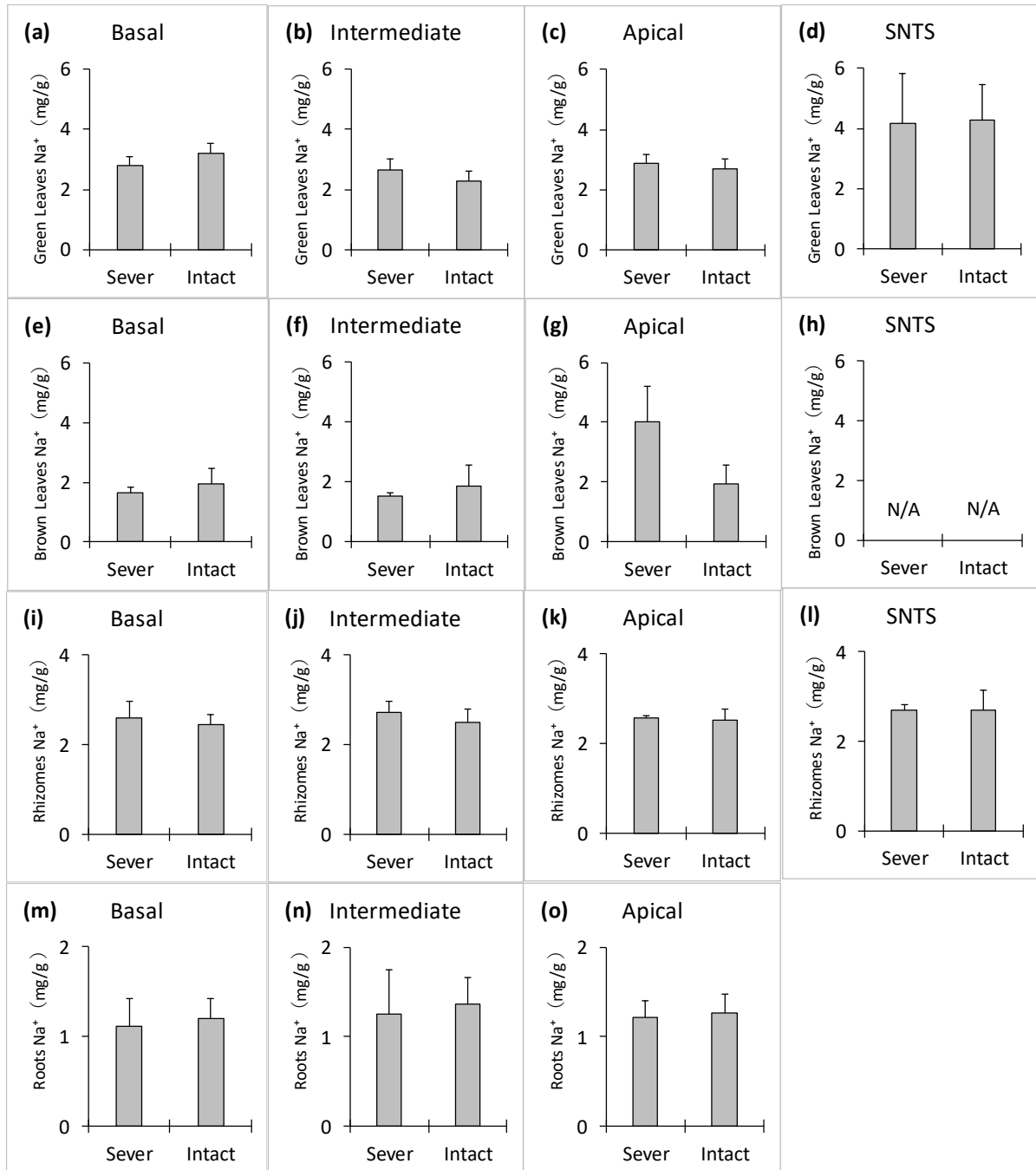


図 44 Control 区 of 各ラメットの Na⁺含有量

Na⁺ content of each ramets with control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

(a)-(d) Green Leaves, (e)-(h) Brown Leaves, (i)-(l) Rhizomes, (m)-(o) Roots. For more details on experimental condition, see material and methods section.

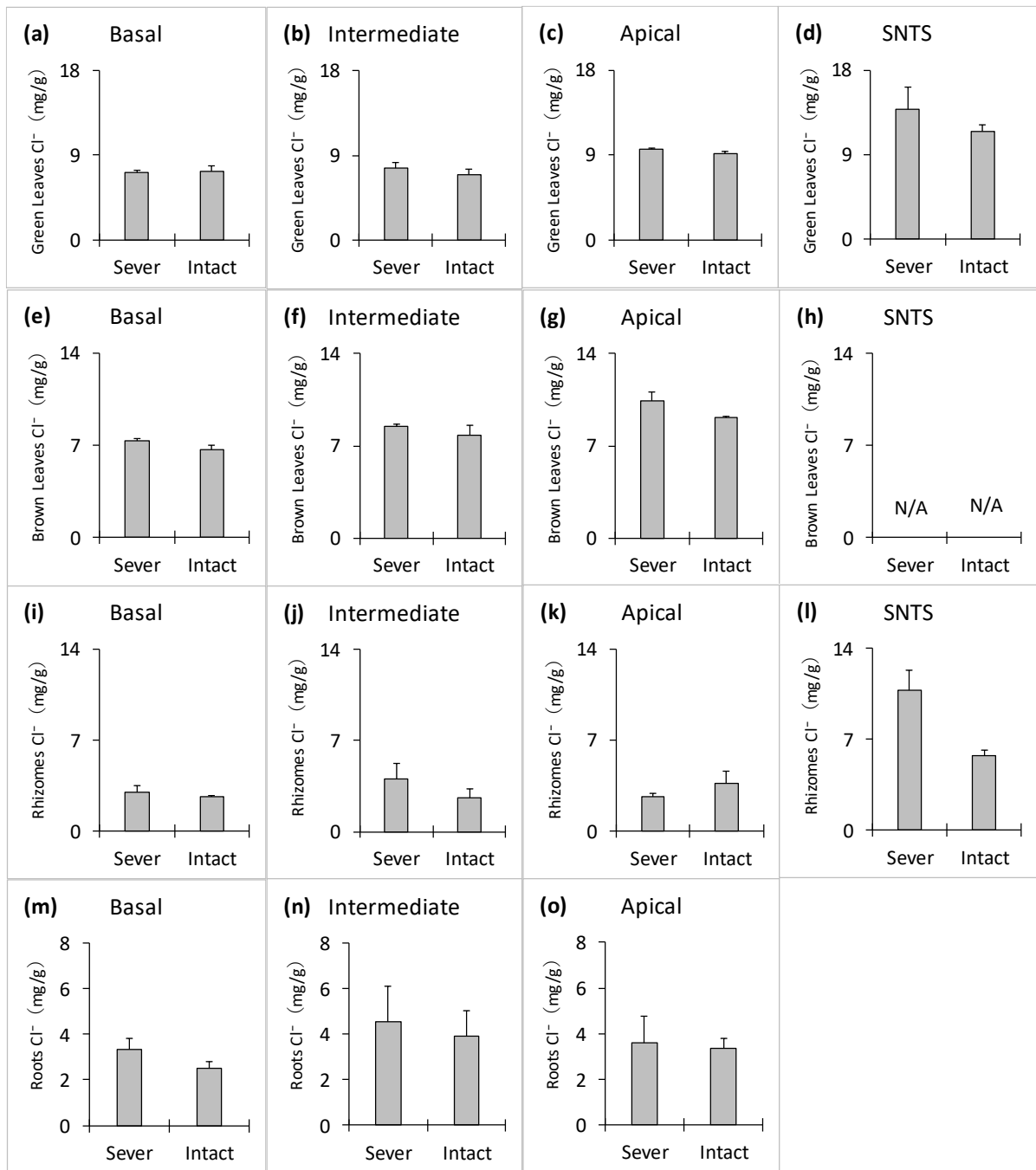


図 45 Control 区 of 各ラメットの Cl⁻含有量

Cl⁻ content of each ramets with control experiment

Data are the means. Vertical bars represent ±SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. (a)-(d) Green Leaves, (e)-(h) Brown Leaves, (i)-(l) Rhizomes, (m)-(o) Roots. For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-5-6. 土壌の Na⁺、Cl⁻濃度 (Control 区、塩分施用区)

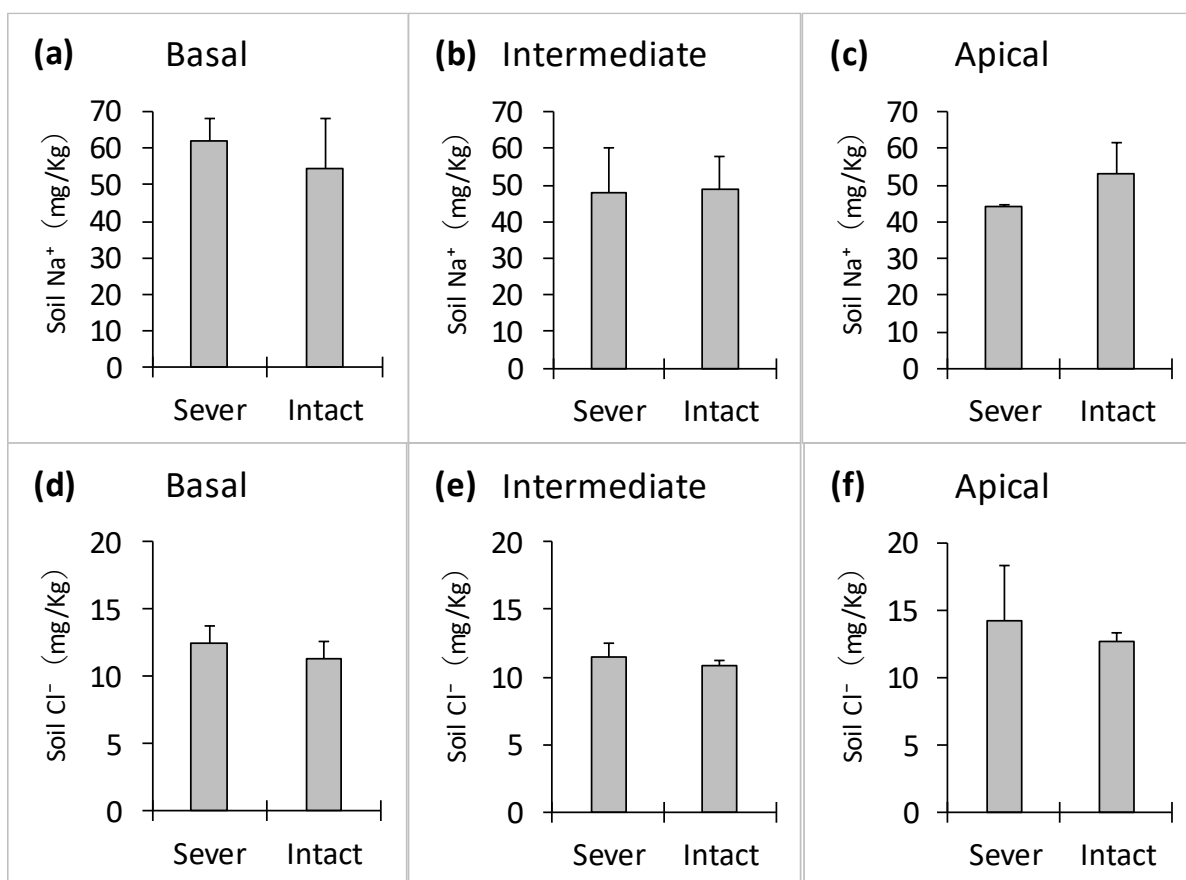


図 46 Control 区 of 各実験ポットにおける土壌 Na⁺、Cl⁻濃度

Soil Na⁺, Cl⁻ content in the pot of control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

(a)-(c) Soil Na⁺, (d)-(f) Soil Cl⁻. For more details on experimental condition, see material and methods section.

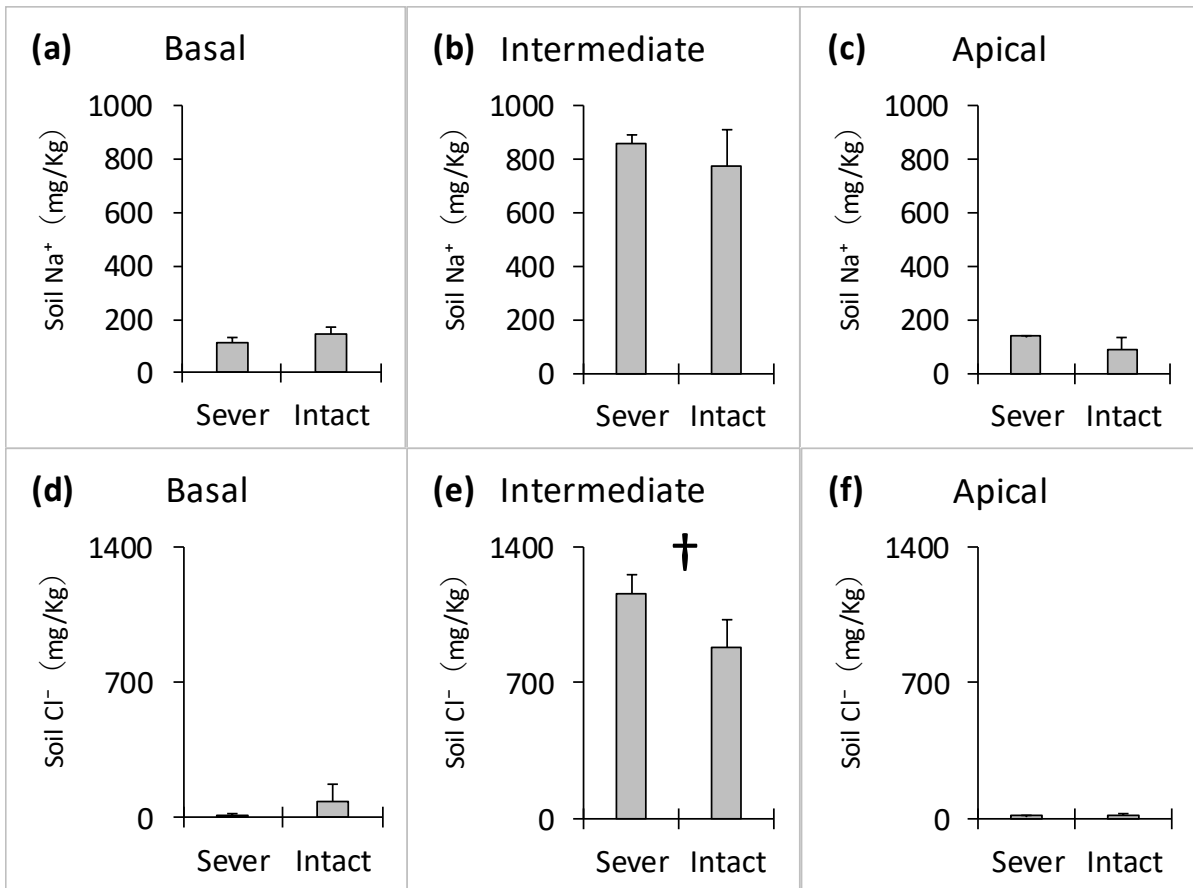


図 47 塩分施用区の各実験ポットにおける土壌 Na⁺、Cl⁻濃度

Soil Na⁺, Cl⁻ content in the pot of NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

NaCl solution treatment period was 49 days. (a)-(c) Soil Na⁺, (d)-(f) Soil Cl⁻. For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-5-7. 土壌の EC 値、pH (Control 区)

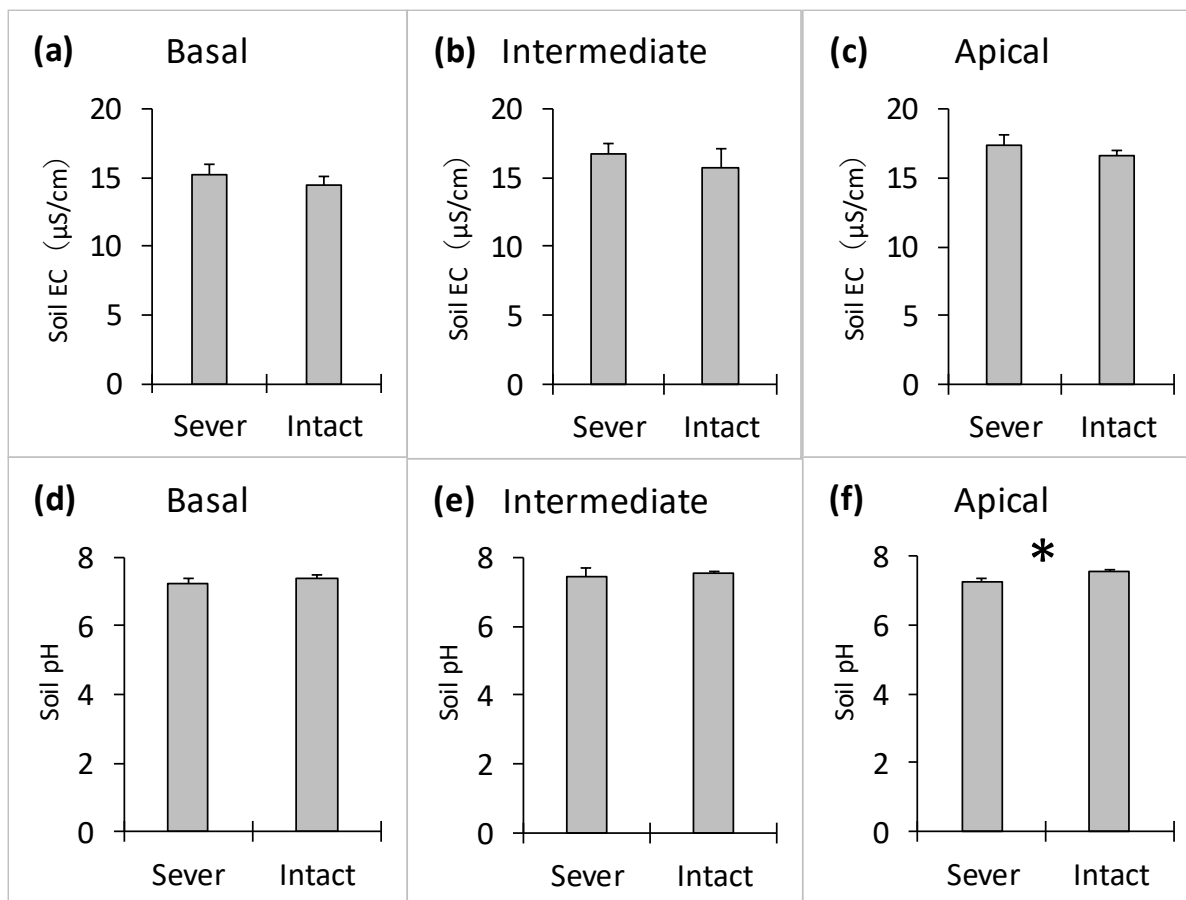


図 48 Control 区の実験ポットにおける土壌 EC、pH

Soil EC and pH in the pot of control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test.

(a)-(c) Soil EC, (d)-(f) Soil pH. For more details on experimental condition, see material and methods section.

3-5-8. 土壌含水比 (Control 区)

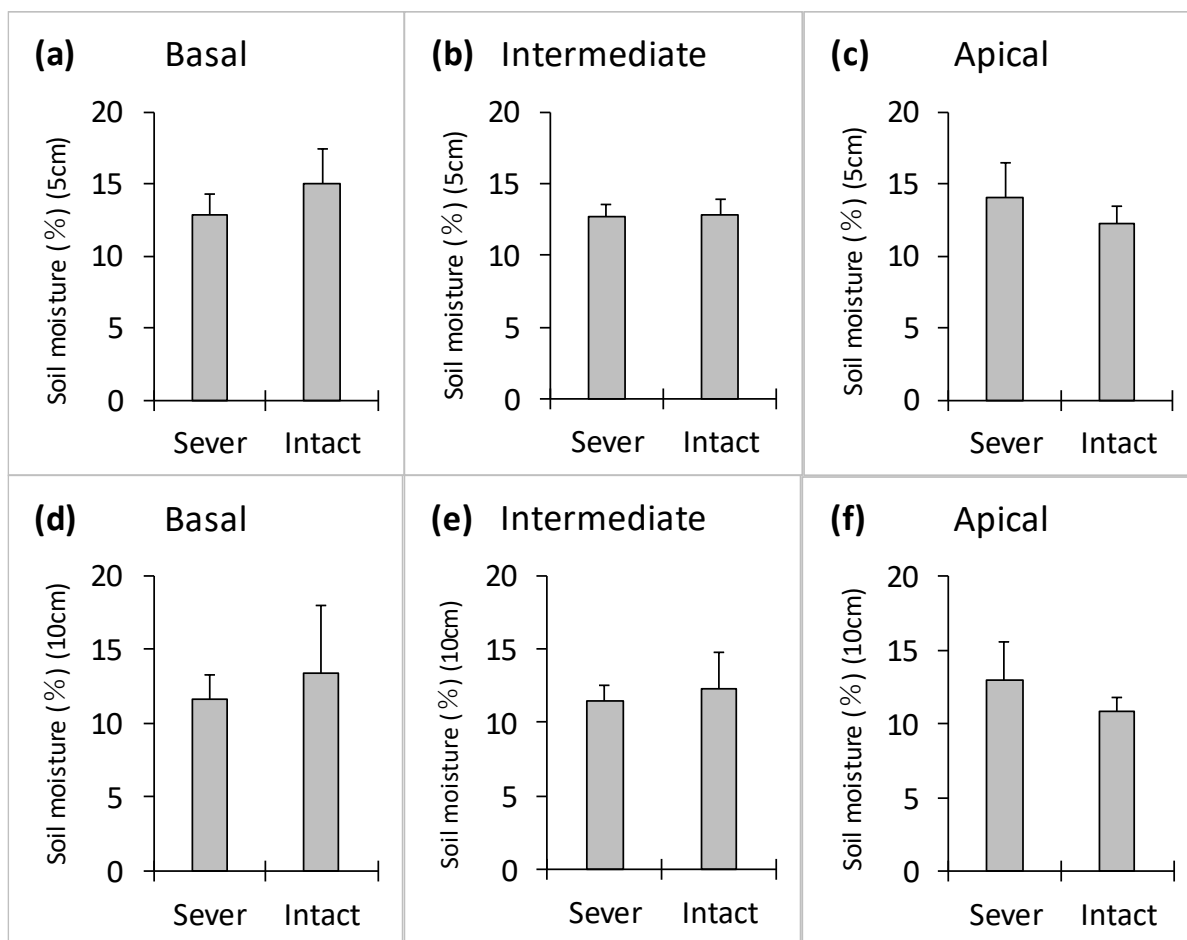


図 49 Control 区 of 各実験ポットにおける土壌含水比

Soil moisture in the pot of control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

(a)-(c) 5cm depth from soil surface, (d)-(f) 10cm depth from soil surface. For more details on experimental condition, see material and methods section.

4. 考察

本研究では、コウライシバの垂直方向の塩分の移動特性を明らかにする「垂直方向の塩分の移動」(実験 A) と、ラメット間の水分や塩分の移動の特性を明らかにする「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B) の 2 項目の実験を行うことで、「体内物質移動特性」から見た本種の塩ストレス対応を明らかにすることを目的とした。ここでは、実験 A および実験 B により得られた結果から、本種の体内物質移動特性や、塩ストレス対応について考察する。

4-1. 長期間の塩ストレスに対する反応

「長期間の塩ストレスに対する反応」(実験 A-1) では、長期間にわたりコウライシバに 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液を施用して、各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)の Na⁺、Cl⁻含有量や、成長量を測定することで、長期間の塩ストレス環境下における本種の垂直方向への塩分移動特性と塩ストレス反応を把握することとした。以下に、実験 A-1 により得られた結果から、長期間の塩ストレス環境下における本種の垂直方向への物質移動特性や、塩ストレス反応について考察する。

4-1-1. 重力水の EC 値

NaCl 溶液の施用開始前(5月)、NaCl 溶液の施用途中(8月)、NaCl 溶液施用終了時(12月)の重力水の EC 値を表 6 に示す。最後に施用した NaCl 溶液[2014年12月5日(NaCl 溶液施用期間 175 日間)]について、施用後ポット下部から排出された重力水の EC 値は、0g/L 区(Control)から順に、0.29、19.54、31.10、52.17 mS/cm であり(表 6)、施用した NaCl 溶液の濃度[0g/L 区(Control)、7.5g/L 区(12mS/cm 相当)、15g/L 区(24mS/cm 相当)、30g/L 区(48mS/cm 相当)]より高い値を示した。これは、ポット内において塩類集積が発生していたためであると考えられた。

NaCl 溶液の施用開始前(5月)、NaCl 溶液の施用途中(8月)、NaCl 溶液施用終了時(12月)の重力水の EC 値の比較では、NaCl 溶液施用開始から約 3 か月後の 8 月において、0g/L 区(Control)から順に、0.26、22.05、33.00、51.67 mS/cm であった。この結果は、12 月の重力水の EC 値と比べてほとんど差がないことから、8 月以降は、ポット内の塩分濃度が施用塩分濃度より高い値で推移していたと考えられた(表 6)。

4-1-2. 各部の乾燥重量

コウライシバの掘り取り時[2014年12月21日(NaCl 溶液施用開始から 191 日間)]のコウライシバの各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)の乾燥重量は、施用した NaCl 溶液濃度が高くなるにつれて低下したが、4 段階のすべての塩分濃度間で有意な差は無かった(表 3)。さらに、15g/L 区、および 30g/L 区における全乾燥重量(葉身部、匍匐茎部、根系部の

合計値)は、0g/L区(Control)のそれぞれ80.9%、76.6%であり、全乾燥重量の著しい低下は見られなかった(表3)。特に、30g/L区では、海水と同程度の非常に高い塩分濃度¹⁰⁵⁾のNaCl溶液を長期間施用したが、0g/L区(Control)と比べて全乾燥重量に有意差が確認されなかった(表3)。

これらの結果から、コウライシバは長期間(191日間以上)にわたる塩ストレス環境下でも生育を維持することが可能であり、さらに、海水と同程度の高塩分環境下においても、地下部の匍匐茎部や根系部を健全な状態に保ち、完全に枯死することがなく生存が可能であると考えられた。また、7.5g/L区(12mS/cm相当)の全乾燥重量は、0g/L区(Control)と比較してほとんど差が見られなかった(表3)。この結果から、7.5g/L程度の塩分濃度の灌水であれば、コウライシバは塩ストレスに耐えて、長期間にわたり成長し良好な状態を維持することが可能であると考えられた。

塩ストレスを与えたコウライシバの成長量やターフクオリティー(Turf quality)を報じた既往研究では、9か月間にわたり、コウライシバに異なる濃度の塩水施用(0、90、180、360、540mM NaCl)を行っており、その結果、Percent green leaf canopy area(GLCA)は0、90、180、360mM NaClの塩水施用環境下において100%を維持し、長期間の塩ストレス環境下でも葉身部の成育やターフクオリティーを維持することができると報告されている¹⁰⁾(360mM \approx 21g/L NaCl)。これらの結果からも、コウライシバが長期間の塩ストレス環境下において生育を維持できる可能性が示唆された。

次に、塩ストレスが、地上部(葉身部)と、地下部(匍匐茎部および根系部)のどちらに影響を及ぼしているのかを把握するため、本研究から得られた結果より、4段階の塩分濃度における地上部、地下部の乾燥重量をまとめた(図50)。

地上部(葉身部)では、0g/L区(Control)から順に、26.4、25.3、21.7、18.4 g/Pot DW、地下部(匍匐茎部、根系部の合計値)では順に、22.6、23.3、17.9、19.1 g/Pot DWであった。地上部、地下部ともに、施用塩分濃度が高くなるにつれて、乾燥重量が低下する傾向が見られたが、4段階の塩分濃度間の比較において、地上部、地下部ともに有意な差は見られなかった(図50)。

既往研究では、4週間にわたり、コウライシバにNaCl溶液の施用を行い、施用塩分濃度が高くなるにつれて、地上部、地下部ともにバイオマス量が低下する結果を示しており、本研究の結果と同様の傾向を示している⁹⁵⁾。

但し、本研究の結果では、30g/L区において、地上部では0g/L区(Control)の70%、地下部では0g/L区の85%の乾燥重量であり、地下部より地上部で乾燥重量の低下が大きかった(図50)。この結果から、本種への長期間の塩分施用は、全乾燥重量(葉身部、匍匐茎部、根系部の合計値)を大きく低下させることはないが(表3)、地上部、地下部の両者の成長量(乾燥重量)に与える塩ストレスの影響は、地下部より地上部で大きいと考えられた。

4-1-3. 各部の Na⁺、Cl⁻含有量

4 回目の地上部の刈取り時 [2014 年 12 月 2 日 (NaCl 溶液施用開始から 172 日間)] およびコウライシバの掘り取り時 [2014 年 12 月 21 日 (NaCl 溶液施用開始から 191 日間)] のコウライシバの Na⁺、Cl⁻含有量はともに、15g/L 区の根系部の Na⁺含有量を除く各部 (葉身部、匍匐茎部、根系部) において、施用塩分濃度が高くなるにつれて高くなった (図 15、図 16)。

葉身部、匍匐茎部、根系部における施用塩分濃度と、各部の塩分含有量 (Na⁺、Cl⁻の合計値) の関係を表した散布図を図 51 に示す。相関係数は、葉身部で R²=0.83、匍匐茎部で R²=0.93、根系部で R²=0.93 であり、各部において、施用塩分濃度と各部 (葉身部、匍匐茎部、根系部) の塩分 (Na⁺、Cl⁻) 含有量に高い相関が認められた。

一方、各部における Na⁺、Cl⁻含有量の比較では、他の部位と比較して葉身部で特に高い値であった (図 51)。コウライシバの各部 (葉身部、匍匐茎部、根系部) の塩分 (Na⁺、Cl⁻) 含有量は、15g/L 区において、葉身部で 134.2mg/g DW、匍匐茎部では 26.1mg/g DW、根系部では 30.8mg/g DW であり、葉身部の Na⁺、Cl⁻含有量は匍匐茎部と比較し約 5 倍、根系部と比較して約 4 倍の値であり、匍匐茎部や根系部より葉身部で有意に高かった (図 17)。

コウライシバへの塩分施用を行った既往研究では、地下部より地上部で塩分含有量が高いことを報告しており^{10) 99)}、本研究と同様の結果を示している。しかし、先行研究では地上部の塩分含有量は地下部の 2 倍程度が最大であり、本研究の結果で示したように、地上部 (葉身部) の塩分含有量が地下部の 4~5 倍にまで高くなる結果は報告されていない。

本研究では、4 回目の地上部の刈取り時 [2014 年 12 月 2 日 (NaCl 溶液施用開始から 172 日間)] において、15g/L 区の葉身部の Na⁺含有量は 57mg/g DW であった (図 15)。一方、コウライシバに塩ストレスを与えた類似研究の結果では、葉身部の Na⁺含有量は、約 19mg/g DW (1 週間にわたり、200mM の塩水を施用)⁵⁴⁾ や、12.53mg/g DW (4 週間にわたり、48mS/cm の塩水を施用)⁹⁶⁾ 程度であり、本研究の結果より低い Na⁺含有量であることが報告されている。

また、芝草 4 種 (*Andropogon greenwayi*, *Sporobolus ioclados*, *Sporobolus kentrophyllus*, *Sporobolus spicatus*) に塩分を施用して、24 時間後と 96 時間後の体内塩分含有量を比較したところ、400mM 施用区で、葉身部の Na⁺含有量が、24 時間後と比べ 96 時間後で、約 2 倍の値 (4 種全て) を示したとの報告がある²³⁾。このことから、コウライシバは、長期間の塩分環境下では、葉身部への塩分蓄積量を増加させる特徴を有すると考えられた。

地下部 (匍匐茎部や根系部) は養水分の吸収や栄養繁殖など、コウライシバの生存にとって不可欠な部位である。一方、葉身部は匍匐茎部が存在する限り再び成長させることが可能である。つまり、コウライシバは塩分環境下において、主に葉身部に塩分を転流、蓄積させることにより、生存のために不可欠である匍匐茎部や根系部の塩分濃度の増加を抑え、地下部の塩ストレスを緩和していると考えられた。さらに、塩ストレスが長期間に及

ぶ場合は、葉身部の塩分蓄積量を増加させることで、長期間の塩ストレスにも対応していると考えられた。匍匐茎部や根系部では、15g/L区や、30g/L区のような高塩分環境下において、体内のNa⁺、Cl⁻含有量は葉身部のような急激な増加が見られないことから(図 51)この考察を裏付けるものとして推測した。

4-1-4. 各部のグルコース含有量およびNa⁺含有量の関係

耐塩性の向上のために遺伝子組み換えを行ったタバコ (*Nicotiana tabacum*) では、塩分施用後、体内のグルコース量が施用前に比べて大幅に増加し、浸透圧調整に関わっていることが示唆されている²¹⁾。本研究では、塩分環境下のコウライシバの体内浸透圧調整対応の一端を明らかにすべく、各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)のグルコース含有量を測定した。

その結果、4回目の地上部の刈取り時[2014年12月2日(NaCl溶液施用開始から172日間)]およびコウライシバの掘り取り時[2014年12月21日(NaCl溶液施用開始から191日間)]におけるコウライシバの各部のグルコース含有量は、地上部(葉身部)において施用NaCl溶液の濃度が高くなるにつれて高くなり、地下部(匍匐茎部、根系部)では低くなった(図 18)。

体内Na⁺含有量と体内グルコース含有量の関係を表す散布図を図 52 に示す。葉身部では、弱い相関ではあるが体内のNa⁺含有量が高くなるにつれて、グルコース含有量が増加する相関が得られた($R^2=0.34$)。これは、グルコースを蓄積することで細胞質の浸透圧を高めて、液胞内に隔離されたNa⁺により増加した浸透圧に対応していると考えられた。

根から吸収されたNa⁺は導管を通り、最終的には葉に到達することが知られている²⁴⁾⁴⁰⁾。コウライシバの塩ストレス対応として、葉身部では細胞内の液胞へNa⁺を隔離して、細胞質内の塩ストレスを緩和していることが既に報告されている。また、液胞への塩分の隔離は、液胞の生体膜に存在する、Na⁺/H⁺アンチポーター(Na⁺/H⁺ antiporter)が関係していると言われている¹⁶⁾¹¹⁾。さらに、植物は塩ストレスに対して、適合溶質と呼ばれる、毒性が低い浸透圧調整物質(グリシンベタイン、プロリン、ショ糖、ソルビトール、マニトールなど)を細胞質内に作り出すことで対応していることが明らかになっている²⁷⁾⁵²⁾⁹²⁾¹⁰⁵⁾。細胞質内では、特にプロリン、グリシンベタインの濃度を高くすることで、浸透圧を高め、液胞内のNa⁺濃度とのバランスを取っていることが既に報告されている⁴⁵⁾³⁹⁾⁹⁵⁾。

先行研究では、塩分を施用したコウライシバの葉身部では、プロリンの含有量がControlの50倍以上であるとの結果を報告している⁴⁾。

本研究では、葉身部のグルコース含有量は、0g/L区(Control)と比較して15g/L区で約1.3倍高くなる程度であった(図 18)。このことから、塩ストレス環境下のコウライシバは葉身部において塩ストレスに適応するためにグルコース濃度を増加させるが、主にプロリン等の浸透圧調整物質を増加させることによって、浸透圧を調整していると考えられた。

4-1-5. 長期間の塩ストレスに対する反応(実験 A-1)により得られた主な結果および考察

4段階の濃度の NaCl 溶液施用環境下(191日間)における、コウライシバの全乾燥重量(葉身部、匍匐茎部、根系部の合計値)は、4段階の全ての塩分濃度間で有意な差が無かったことから(図 50)、コウライシバは長期間にわたる塩ストレス環境下でも生育を維持することが可能であり、さらに、海水と同程度の高塩分環境下においても地下部の匍匐茎部や根系部を健全な状態に保ち、完全に枯死することが無く生存が可能であると考えられた。

コウライシバの塩分(Na^+ 、 Cl^-)含有量は、各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)において、施用塩分濃度が高くなるにつれて直線的に高くなった(図 15、図 16)。また、4段階の濃度の NaCl 溶液を施用した実験ポットの重力水の EC 値と各部(葉身部、匍匐茎部、根系部)の塩分(Na^+ 、 Cl^-)含有量の相関係数は、全部位において $R^2=0.8$ を超えており、土壌中の塩分濃度(重力水の EC 値)と各部の Na^+ 、 Cl^- 含有量に高い相関が認められた(図 51)。

葉身部の塩分(Na^+ 、 Cl^-)含有量は、匍匐茎部と比較して約 5 倍、根系部と比較して約 4 倍の値であり、匍匐茎部や根系部より葉身部で有意に高かったことから(図 17)、コウライシバは、塩分環境下において主に葉身部に塩分を転流、蓄積することにより、生存のために特に重要な役割を担っている、匍匐茎部や根系部の塩分含有量の増加を抑えるようにして塩ストレスに対応していると考えられた。

30g/L 区における、地上部(葉身部)と地下部(匍匐茎部、根系部)の乾燥重量の比較では、地上部では 0g/L 区(Control)の 70%、地下部では 0g/L 区の 85%の乾燥重量であり、地下部より地上部で乾燥重量の低下が大きかった(図 50)。この結果から、本種への長期間の塩分施用は、全乾燥重量(葉身部、匍匐茎部、根系部の合計値)を大きく低下させることはないが(表 3)、地上部、地下部の両者の成長量(乾燥重量)に与える塩ストレスの影響は、地下部より地上部で大きいと考えられた。

短期間の NaCl 溶液処理を行った既往研究の結果^{54) 96)}と比べ、長期間の NaCl 溶液の施用を行った本研究では、葉身部の Na^+ 含有量は高い値を示し、コウライシバは塩分環境下における生育期間に応じて葉身部への塩分含有量を増加させる特徴を有すると推察された。

表 6 4段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用の実験ポットにおける重力水の EC 値
**Electric conductivity (EC) of gravity water from the pot under four different concentration
of NaCl solution treatment.**

Data are the means \pm SD of triplicates analyses. Electric conductivity (EC) unit is mS/cm.

	Concentration of treated NaCl solution (g/L)			
	0	7.5	15	30
May	0.23 \pm 0.05	0.29 \pm 0.07	0.31 \pm 0.04	0.27 \pm 0.05
August	0.26 \pm 0.05	22.05 \pm 4.67	33.00 \pm 3.33	51.67 \pm 1.65
December	0.29 \pm 0.06	19.54 \pm 1.34	31.10 \pm 0.45	52.17 \pm 1.46

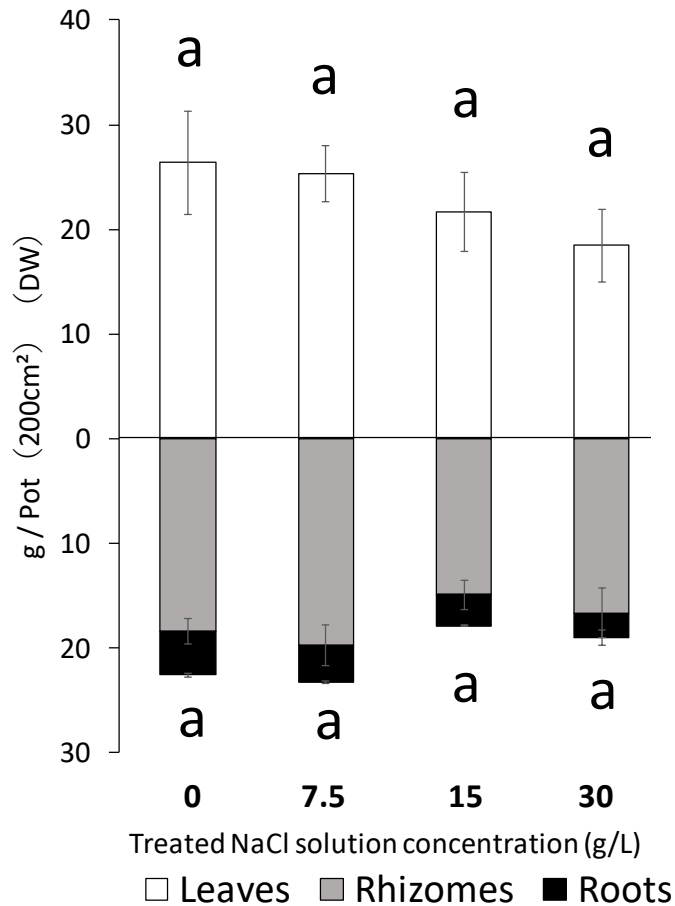


図 50 長期間にわたる 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの地上部（葉身部）、地下部（匍匐茎部、根系部）における乾燥重量

Dry weight of *Zoyzia matrella* under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Values sharing the same letters are not significantly different ($p = 0.05$) using Tukey's test. Cultivation period were August 6, 2013 to December 21, 2014 (502 days). NaCl solution treatment period was 191 days. Leaves data are total biomass of several times trimmed leaves. For more details on experimental condition, see material and methods section. Combined data (Rhizomes and Roots) was used for Tukey's test. EC of gravity water after 175 days NaCl solution treatment were 0.3mS/cm (Control), 19.5mS/cm [7.5g/L (12mS/cm) treated], 31.1mS/cm [15g/L (24mS/cm) treated], 52.1mS/cm [30g/L (48mS/cm) treated].

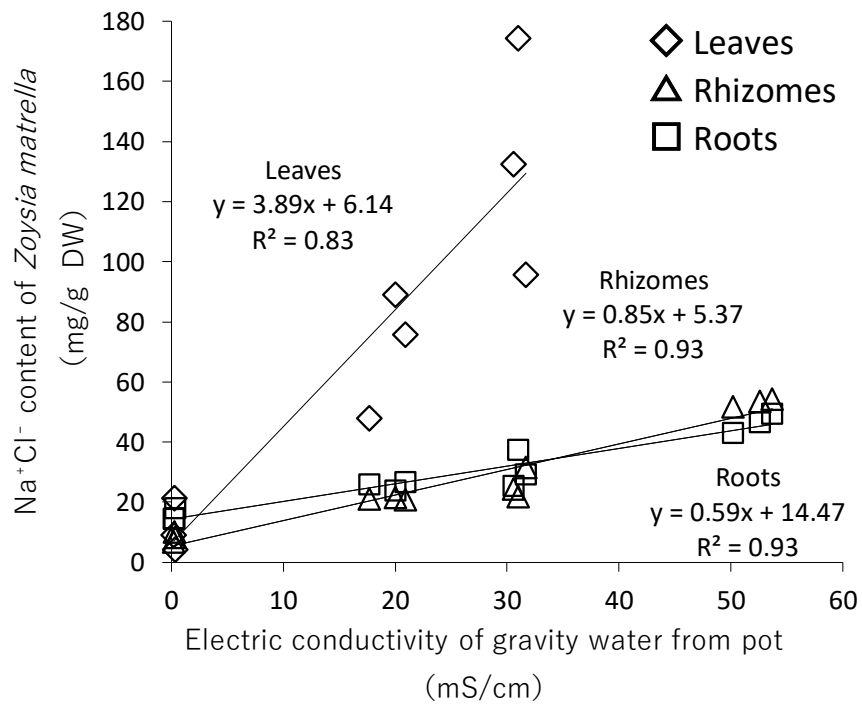


図 51 長期間にわたる 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部、匍匐基部、根系部における Na⁺、Cl⁻含有量と実験ポットにおける重力水の EC 値の関係

Relationship between electric conductivity of gravity water from the pot and Na⁺, Cl⁻ content of *Zoysia matrella* under four different concentration of NaCl solution treatment

NaCl solution treatment period was 191 days for rhizomes and roots. NaCl solution treatment period was 172 days for leaves. Data for Leaves (30g/L NaCl treated) were not available due to all leaves withered. n=9 (Leaves), n=12 (Rhizomes), n=12 (Roots).

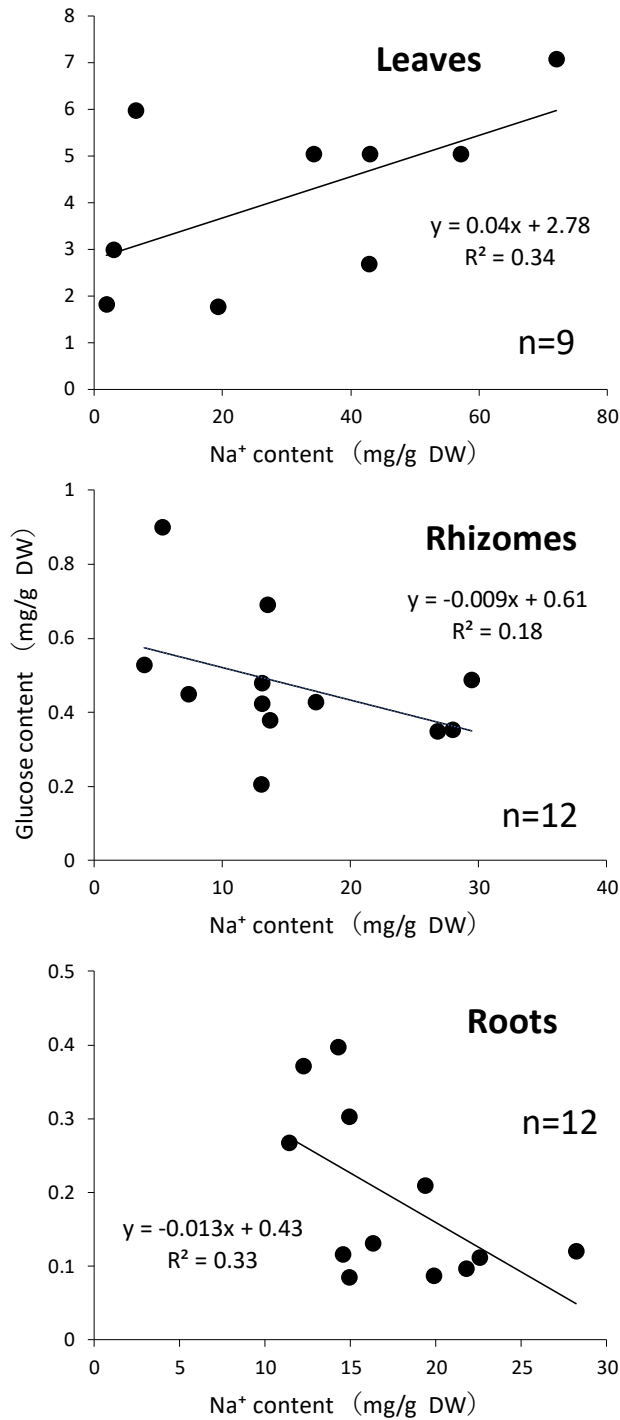


図 52 長期間にわたる 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部、匍匐茎部、根系部における Na⁺含有量とグルコース含有量の関係

Relationship between Glucose content and Na⁺ content of *Zoysia matrella* under four different concentration of NaCl solution treatment

NaCl solution treatment period was 191 days for rhizomes and roots. NaCl solution treatment period was 172 days for leaves. Data for Leaves (30g/L NaCl treated) were not available due to all leaves withered.

4-2. 塩類腺からの塩分排出特性

「塩類腺からの塩分排出特性」(実験 A-2)では、コウライシバに4段階の異なる濃度のNaCl溶液の施用(土壌表面に乾きが見られた時に施用)を行い、葉身部における塩類腺数、塩類腺面積や各イオン(Na^+ 、 Cl^- 、 K^+)の排出量および含有量を測定した。以下に実験 A-2により得られた結果から、異なる濃度の塩ストレス環境下における本種の垂直方向への塩分移動特性、塩類腺数や大きさの変化、塩分排出特性について考察する。

4-2-1. 重力水の塩分濃度

9月5日(NaCl溶液施用3回目)のポット下部より排出された重力水の推定NaCl濃度は、施用したNaCl溶液の濃度より高くなり、Control区から順に0.23、9.86、15.08、31.45g/Lを示した。また、9月12日(NaCl溶液施用4回目)では、重力水の推定NaCl濃度が実験期間中で最大となり、Control区から順に0.21、12.6、22.5、38.9g/Lを示した(図19)。これらの値は、施用したNaCl溶液の濃度[0g/L(Control)、7.5g/L、15g/L、30g/L]より高いことから、9月5日(NaCl溶液施用3回目)では既にポット内において、塩類集積が発生していたと考えられた。

4-2-2. 葉身部の乾燥重量および枯死率

健全葉の乾燥重量は、0g/L区(Control)から順に、3.40、2.37、2.65、2.67 g/pot DWであった。また、枯死葉の乾燥重量は、0g/L区(Control)から順に、0.82、0.52、0.65、0.68 g/pot DWであった。健全葉、枯死葉ともに、乾燥重量は4段階のNaCl溶液濃度間で有意な差は見られなかった(図20)。

また、地上部の枯死率は、4段階の塩分濃度間にほとんど違いが見られず、有意差がなかった(表4)。この結果から、コウライシバは短期間(35日間)であれば、海水と同程度¹⁰⁵⁾の非常に高い塩分濃度(30g/L NaCl)を施用した場合でも、健全葉の成育に影響が少なく良好な状態を維持できると考えられた。

一方、「4-1. 長期間の塩ストレスに対する反応」で既に述べた通り、長期間の塩分環境下では地上部、地下部ともに生育が低下することから、塩分環境下のコウライシバの成長量は塩分環境下における成育期間により影響が異なると考えられた。

4-2-3. 葉身部におけるイオン含有量およびイオン排出量とイオン排出率

葉身部のイオン含有量に関して、 Na^+ 含有量は0g/L区(Control)から順に、4.34、12.16、19.31、25.22 mg/g DWであった。また、 Cl^- 含有量は、0g/L区(Control)から順に、6.67、16.24、24.52、35.51 mg/g DWであり、両者ともに、施用塩分濃度が高くなるにつれて有意に高い値を示した(図21)。

葉身部のイオン排出量について、 Na^+ の排出量は0g/L区(Control)から順に、1.71、4.38、

5.48、7.30 mg/g DW であり、0g/L 区と比較して 7.5g/L、15g/L、30 g/L 区で有意に高かった。また、Cl⁻の排出量は、0g/L 区 (Control) から順に、1.31、3.72、3.45、2.91 mg/g DW であり、4 段階の塩分濃度間に有意な差は見られなかった (図 22)。

既往研究では、コウライシバの塩類腺からの Na⁺排出量は 8mg/g DW (23g/L 相当の NaCl 溶液施用) である報告がある⁵⁸⁾。また、高い耐塩性を有する他のイネ科植物では、ローズグラス (*Chloris gayana* Kunth.) の Na⁺排出量が 15mg/g DW (3g/L 相当の NaCl 溶液施用)³⁸⁾、イネ科スパルティナ属の *Spartina townsendii* の Na⁺排出量が 32mg/g FW (14g/L 相当の NaCl 溶液施用)⁴¹⁾ との報告がある。

耐塩性を有する植物の特徴として、葉身部に存在する塩類腺が多いほど多くの塩分を排出することが可能であり、塩類腺数と塩分の排出量が植物の耐塩性に関係していると言われている^{55) 53) 52)}。本研究における 4 段階の塩分濃度環境下の葉身部の Na⁺、Cl⁻、K⁺の含有量、排出量、および排出率をまとめたグラフを図 53 に示す。本研究では、葉身部における、Na⁺および Cl⁻含有量は、4 段階の塩分濃度の全てで、排出量より高かった。また、施用した NaCl 溶液の濃度が高くなるにつれて、Na⁺および Cl⁻含有量が有意に高くなった (図 23)。

一方、Na⁺および Cl⁻のイオン排出率は、施用塩分濃度が高くなるにつれて低下する傾向であった (図 53)。これらの結果から、Na⁺および Cl⁻に関して、コウライシバは土壌中の塩分濃度が高くなるにつれて、イオン排出量よりもイオン含有量を増加させる傾向を有することが明らかとなった。

通常、植物は土壌塩分濃度が高い場合、浸透圧の関係で吸水が妨げられる⁶⁶⁾。また、塩類腺からのイオンの排出は水とともに排出されるため、イオン排出の際は水を消費する¹⁰⁸⁾。これらのことから、塩分環境下において、コウライシバは土壌中からの吸水が困難となり、また、塩類腺からのイオンの排出に必要な水分も不足することから、葉身部において塩分 (Na⁺、Cl⁻) の排出量よりも、含有量が増加したと考えられた。

さらに、コウライシバの塩類腺からの塩分排出特性は、土壌塩分濃度とともに、土壌水分量によっても大きく影響を受けると考えられた (土壌水分量と塩分排出量に関する考察は、「4-2-6. 土壌水分量と塩類腺からの Na⁺排出特性」で詳しく述べる)。

イオン排出率は、Na⁺や Cl⁻と比べ K⁺で著しく低く、30g/L 区では Na⁺と比較して K⁺の排出率は約 19 倍低かった (表 5)。この結果から、コウライシバは塩類腺から排出するイオンを選択していると考えられた。

塩類腺を有する植物は土壌環境に応じて塩類腺から排出するイオンを選択していると考えられている³⁶⁾。塩分環境下のイネ科のローズグラス (*Chloris gayana* Kunth.) およびシオギリソウ属の *Aeluropus littoralis* (Wild) Parl は、塩類腺からの Na⁺の排出量が K⁺の排出量よりも高く、塩類腺から選択的に Na⁺が排出されていることが報告されている^{37) 9)}。また、コウライシバに塩分処理を行った既往研究では、塩類腺からの K⁺の排出はほとんど行われ

ないことを報告しており⁵⁴⁾、本研究と同様の結果を示している。

本研究の結果および既往研究の結果から、塩ストレス環境下のコウライシバは塩類腺から排出するイオンを選択しており、特に体内において様々な害を及ぼす Na^+ を多く排出し、逆に浸透圧の調整などに利用できる K^+ を排出させずに体内に留めて、塩ストレスに対応していると推察された。

4-2-4. 葉身部の K^+ と Na^+ の関係

コウライシバの各部（葉身部、匍匐茎部、根系部）における Na^+ 含有量と、 K^+ 含有量の関係性を表す散布図を図 54 に示す。

葉身部における Na^+ と K^+ 含有量の相関係数は、葉身部で $R^2=0.002$ 、匍匐茎部で、 $R^2=0.14$ 、根系部で、 $R^2=0.15$ であり、全ての部位で $R^2=2.0$ を下回り、 Na^+ と K^+ の両者に相関性が確認されなかった（図 54）。

通常、体内の Na^+ 含有量が高くなると植物は恒常性を保とうとするため、 K^+ が拮抗的に排除されると言われている^{52) 92)}。一方、耐塩性を有する植物は、塩分環境下において体内（細胞内）の K^+ が排除されることがなく、逆に K^+ の濃度を高めることで体内の Na^+ に対応しているとの報告がある^{93) 52)}。

本研究の結果および上記の知見から、コウライシバは、塩ストレス環境下において浸透圧の調整に重要な働きを持つ K^+ を体内に維持できる特徴を有すると考えられた。さらに、既に述べた通り、塩類腺から K^+ がほとんど排出されないことから、本種は塩分環境下において、体内の K^+ が失われないようにするメカニズムを備えており、それが耐塩性の向上に寄与していると示唆された。

4-2-5. 葉身部の塩類腺数および塩類腺面積

4 段階の塩分濃度間において、葉身部の向軸面および背軸面の塩類腺数、塩類腺面積にほとんど変化が見られず、有意な差がなかった（図 26）。この結果から、土壌の塩分濃度の違いは、向軸面、背軸面ともに塩類腺数や塩類腺面積に影響しないことが明らかとなった。コウライシバの塩類腺数に関しては、遺伝子で決められており土壌の塩分濃度によっては、塩類腺数に変化を及ぼさないとされており⁵⁶⁾、本研究の結果を裏付ける重要な知見であると考えられた。

向軸面と背軸面の比較では、塩類腺数および塩類腺面積に違いが見られ、塩類腺数および塩類腺面積は、両者ともに背軸面より向軸面で高い値であった（図 26）。

既往研究では、コウライシバの塩類腺数は背軸面より向軸面で多いことが既に報告されており、本研究の結果と一致する^{67) 102)}。さらに、本研究では塩類腺面積を測定しており、背軸面より向軸面で塩類腺面積が有意に大きいことが明らかとなった。

葉身部の塩類腺はその数が多ければより多くの塩分の排出が可能となり、それが植物の

耐塩性と関係していることは既に説明した⁵⁵⁾⁵³⁾⁵²⁾。既往研究では、イソマツ属の *Limonium bicolor* (Bag.) Kuntze と、イネ科シオギリソウ属の *Aeluropus littoralis* (Wild) Parl に塩分を処理する実験を行っており、その結果、葉身部の塩類腺数が増加し、さらに塩分排出量が多くなったことを報告している⁹⁸⁾³⁶⁾。

図 55 に、本研究で得られた、背軸面、向軸面の塩類腺数、塩類腺面積、および Na⁺排出量の結果をまとめた。既に報告した通り、本研究の結果では、背軸面、向軸面ともに施用した NaCl 溶液の濃度が、塩類腺数および塩類腺面積に影響しなかった。一方、Na⁺排出量は、施用 NaCl 溶液濃度が高くなるにつれて、高くなる結果を示した (図 55)。

この結果から、塩分環境下のコウライシバは、施用した NaCl 溶液の濃度によっては塩類腺数、塩類腺面積に影響しないが、施用 NaCl 溶液の濃度に応じて塩類腺からの Na⁺排出量が増加する特徴を有することが明らかとなった。つまり本種は、土壤塩分濃度に応じて塩類腺 1 つあたりからの Na⁺排出量を増やし、塩分排出量を増加させることで、塩ストレスに対応していると考えられた。

4-2-6. 土壤水分量と塩類腺からの Na⁺排出特性

コウライシバの塩分排出に関する既往研究 2 報および本研究における実験環境と Na⁺排出率の結果を表 7 にまとめた。

既往研究では、水耕栽培環境における実験や、毎日の NaCl 溶液の施用など、高水分環境下で実験が行われた⁵⁴⁾¹⁰²⁾。本研究では、土壤に乾きが見られた時のみ NaCl 溶液の施用を行った。既往研究の結果では、12g/L の濃度の NaCl 溶液を使用した水耕栽培環境で 7 日間処理したコウライシバの Na⁺の排出率は 77.4%であった⁵⁴⁾。また、35g/L の濃度の NaCl 溶液を 5 日間毎日施用したコウライシバの Na⁺排出率は 68.5%であった¹⁰²⁾。一方、30g/L の濃度の NaCl 溶液を 35 日間施用した、本研究の結果では既往研究と比較して極めて低い Na⁺排出率であり、22.5%であった (表 7)。

これらの結果や、土壤塩分濃度の違いが、塩類腺数や塩類腺面積に影響しないことを示した本研究の結果 (4-2-5. 葉身部の塩類腺数および塩類腺面積) から、塩類腺からの塩分排出特性は、塩類腺数や塩類腺面積より、土壤水分量が大きく影響していると考えられた。

塩類腺からのイオン排出特性は、植物の生育環境に大きく影響されると言われている³⁶⁾。イネ科の Saltgrass (*Distichlis spicata*) は、日中より夜中の方が塩類腺の活動が活発になるとの報告がある²⁵⁾。また、イネ科の Kallar grass (*Leptochloa fusca* L. Kunth) は、気温が高い状況において、より多くのイオンを塩類腺から排出すると報告されている²²⁾。イネ科スパルティナ属の *Spartina anglica* は、土壤の酸化還元電位 (Redox potential) が高い場合、塩類腺からイオンを多く排出するとの報告がある⁷⁶⁾。

また、塩類腺からのイオンの排出は水とともに排出されるため、イオンの排出の際は水

を消費すると言われている¹⁰⁸⁾。これらのことから、コウライシバは、土壤水分量が低い場合（乾燥環境）では、体内の貴重な水分を消費しないように塩類腺からの塩分の排出量を抑え、葉身部に塩分を蓄積する特徴を有すると考えられた。また、逆に土壤水分量が豊富な場合（湿潤環境）であれば、塩分の蓄積量よりも塩分の排出量を増加させることで、過剰な塩分を排出して塩ストレスを緩和していると考えられた。

植物の根は根圧（浸透圧）により、土壤中から水を吸収しており、これが植物の土壤からの吸水メカニズムの1つである⁶⁵⁾。根では、土壤よりも根の浸透圧を高くすることで吸水を行っているが、塩類集積が発生すると、植物の根よりも土壤の浸透圧が高くなり、植物の吸水が阻害される¹⁰⁵⁾。

つまり、コウライシバは、土壤塩分濃度が高いほど、吸水阻害により体内の水分量が低下し、それが塩分排出量の低下に影響したと考えられた。これは、土壤中の塩分濃度が高くなるにつれて、塩分 (Na^+ 、 Cl^-) 排出量よりも、塩分含有量が高くなる（排出率が低下する）本研究の結果とも一致する（図 53）。このことから、土壤水分量のみならず、土壤塩分濃度もコウライシバの塩類腺からの塩分排出量に影響していると考えられた。

以上から、コウライシバは土壤環境（塩分濃度や水分量）に応じて、葉身部の塩類腺からの塩分排出量を調節して塩ストレスに対応していると考えられた。

4-2-7. 塩類腺からの塩分排出特性（実験 A-2）により得られた主な結果および考察

施用した塩分濃度が高くなるにつれて、葉身部の塩類腺からの塩分 (Na^+ 、 Cl^-) 排出率が低下する傾向であった（表 5）。これらの結果から、コウライシバは土壤中の塩分濃度が高くなるにつれて、塩分 (Na^+ 、 Cl^-) 排出量よりも、塩分含有量を増加させる特徴を有すると考えられた。

イオン排出率は、 Na^+ や Cl^- と比べ、 K^+ で著しく低く、30g/L 区では Na^+ と比較して K^+ のイオン排出率は、約 19 倍低かった（表 5）。この結果から、塩ストレス環境下のコウライシバは塩類腺から排出するイオンを選択しており、特に体内において様々な害を及ぼす Na^+ を多く排出し、逆に浸透圧の調整などに利用できる K^+ を排出しないようにして塩類腺において排出するイオンを選択していると考えられた。

4 段階の塩分濃度間の比較では、葉身部の向軸面および背軸面の塩類腺数、塩類腺面積にほとんど違いが見られず、有意な差が見られなかった（図 24、図 25）。この結果から、土壤の塩分濃度の違いは、向軸面、背軸面ともに、塩類腺数や塩類腺面積に影響しないと考えられた。

施用 NaCl 溶液濃度が高くなるにつれて塩類腺からの Na^+ 排出量が高くなった（図 55）。しかし、土壤中の塩分濃度の違いが、向軸面、背軸面ともに、塩類腺数や塩類腺面積に影響しないことから、コウライシバは土壤塩分濃度が高くなるにつれて、塩類腺 1 つあたりからの Na^+ 排出量を増加させていると考えられた。

土壤に乾きが見られた時のみに NaCl 溶液の施用を行った本研究の Na⁺排出率の結果は、水耕栽培等の高湿潤環境下で実験を行った既往研究と比較して、極めて低い Na⁺排出率であった（葉身部の Na⁺含有量が、Na⁺排出量よりも高い）（表 7）。この結果から、コウライシバは、土壤水分量が低い場合（乾燥環境）では、体内の水分を消費しないように塩類腺からの塩分の排出量を抑え、葉身部に蓄積する特徴を有すると考えられた。また、逆に土壤水分量が豊富な場合（湿潤環境）であれば、塩分の蓄積量よりも、排出量を増加させることで、過剰な塩分を排出して塩ストレスを緩和していると考えられた。

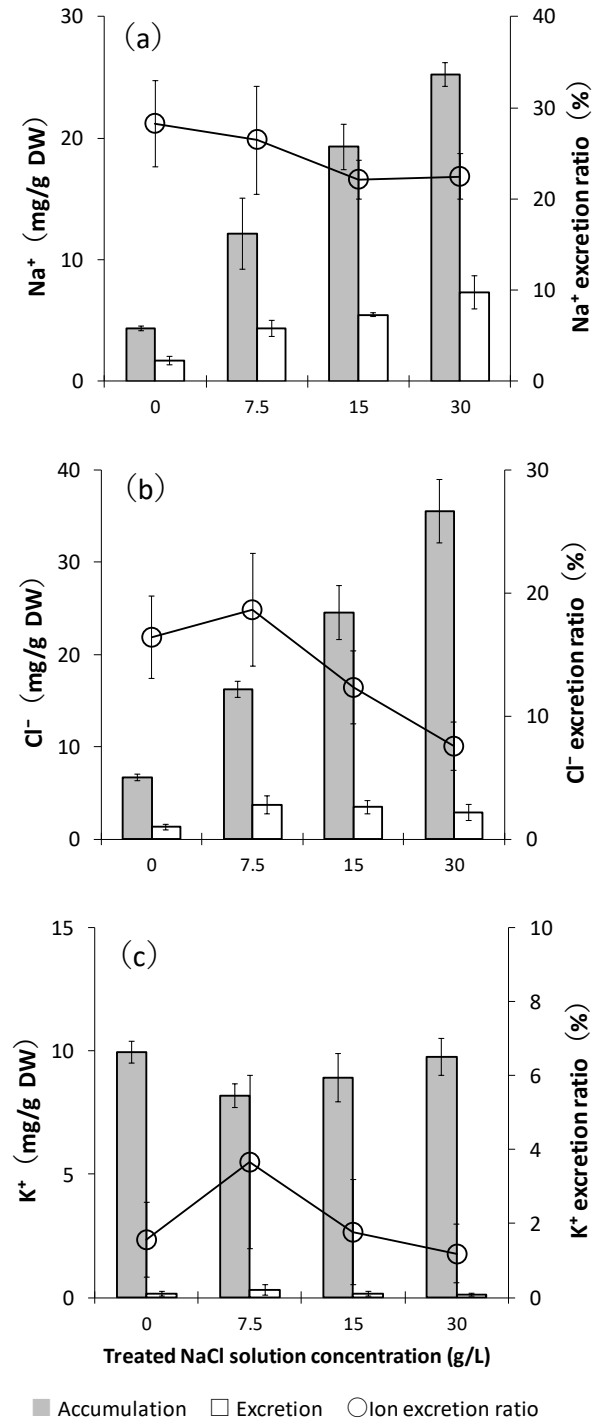


図 53 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部におけるイオン含有量およびイオン排出量とイオン排出率の関係

Ion content and ion excretion amount of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. NaCl solution treatment period was 35 days. (a) Na⁺, (b) Cl⁻, (c) K⁺. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

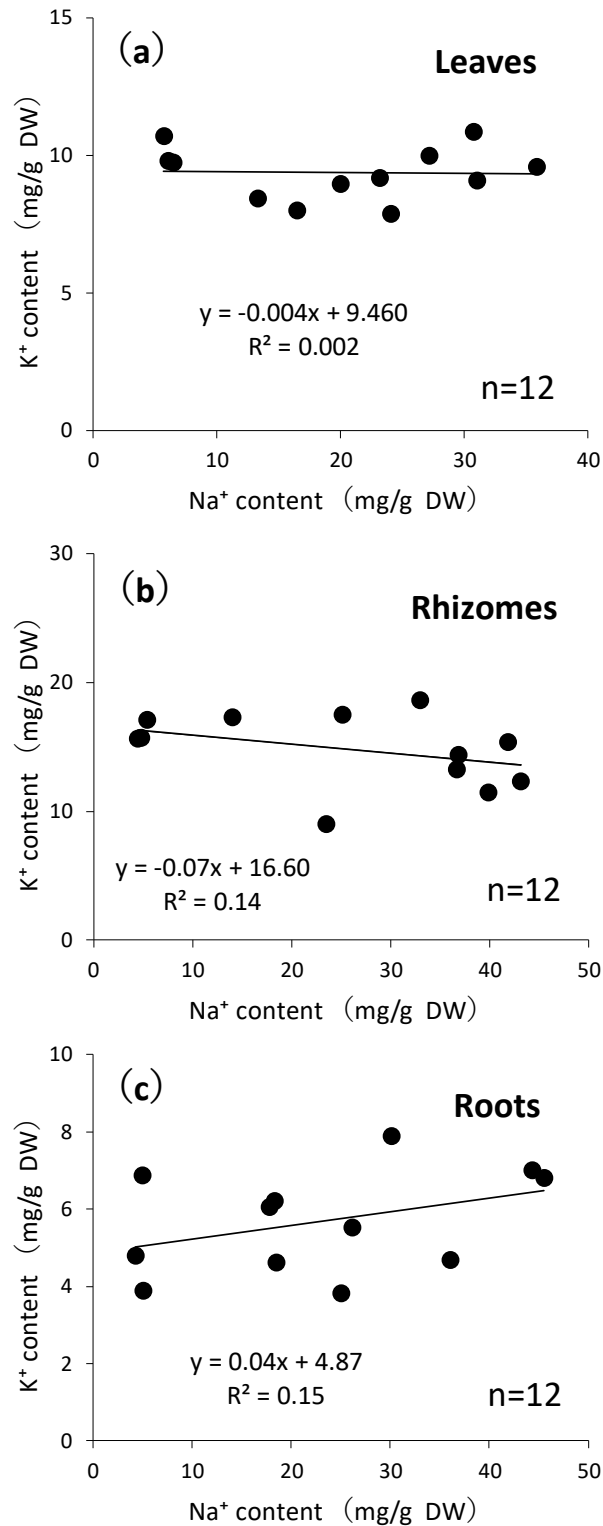


図 54 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部、匍匐茎部、根系部における Na^+ 含有量と K^+ 含有量の関係

Relationship between Na^+ content and K^+ content of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

NaCl solution treatment period was 35 days. (a) Leaves, (b) Rhizomes, (c) Roots.

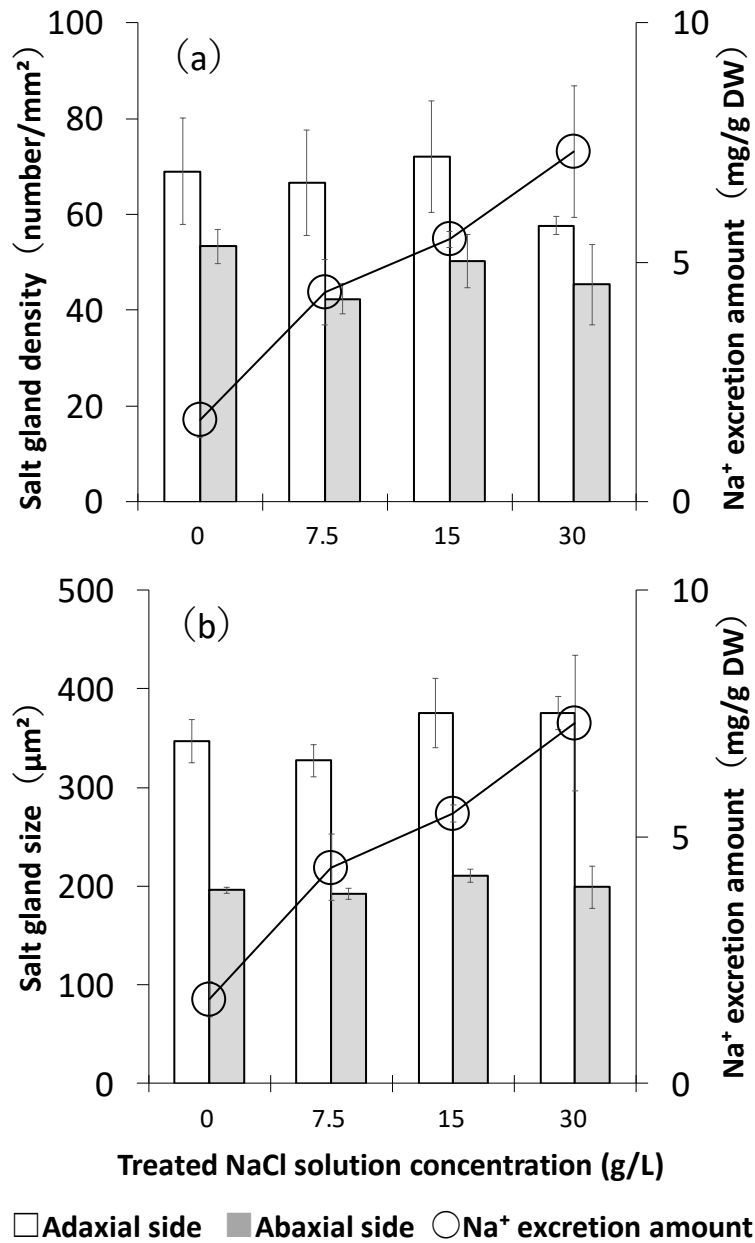


図 55 4 段階の異なる濃度の NaCl 溶液施用のコウライシバの葉身部の向軸面および背軸面における塩類腺数、塩類腺面積と Na⁺排出量の関係

Salt gland density, size and Na⁺ excretion amount of *Zoysia matrella* leaves under four different concentration of NaCl solution treatment

Data are the means. Vertical bars represent ±SD of triplicates analyses. NaCl solution treatment period was 35 days. (a)Salt gland density, (b)Salt gland size. Estimated NaCl concentration of gravity water after 28 days NaCl solution treatment were 0.2g/L (Control), 11.9g/L (7.5g/L treated), 20.7g/L (15g/L treated), 36.6g/L (30g/L treated).

表 7 コウライシバの塩分排出に関する既往研究と本研究における実験環境と Na⁺排出率
Experimental conditions and Na⁺ excretion ratio of *Zoysia matrella* in two previous studies and the present study

*1: NaCl solution was treated only when the pot soil surface was dry.

*2: A total of five treatments was performed every 24 h for 300, 450, 600, and 600 mmol/L NaCl (600 mmol/L ≒ 35 g/L NaCl).

*3: The plants were grown in nutrient solutions containing 200 mmol/L NaCl (200 mmol/L ≒ 12 g/L NaCl).

Cultivation conditions	Experimental conditions						Leaf Na ⁺ amount (mg/g DW)		References
	Treated NaCl Solution Concentration (g/L)	Number of NaCl solution treatment	Frequency of NaCl solution treatment	Period of NaCl solution treatment	Accumulation	Excretion	Total	Na ⁺ excretion ratio (%)	
Sand culture	30	5 Times	Every 4-10 days *1	35 Days	25.2	7.3	32.5	22.5	The present study
Sand culture	35 *2	5 Times *2	Daily	5 Days	3.9	8.5	12.4	68.5	Yamamoto et al. (2016)
Hydroponic culture *3	12 *3	— *3	— *3	7 Days	7.6	16.8	22.4	77.4	Marcum et al. (1990)

4-3. ラメット間の水分の移動特性

「ラメット間の水分の移動特性」(実験 B-1) では、3つの実験用ポット [Basal (基部)、Intermediate (中間部)、Apical (先端部)] を並べ、それぞれのポット間において匍匐茎を繋げたままコウライシバを生育させた (図 8)。その後、Intermediate を湿潤環境下 (300mL の水道水施用) に、Basal、Apical を水分制限環境下に置き (図 10)、各ラメットの乾燥重量 (成長量) や含水率を測定することで、本種のラメット間における水分の移動特性や、乾燥ストレス対応を明らかにすることとした。また、ラメット間の匍匐茎を切断して物質の移動が行われないようにした実験区 (Sever) と、ラメット間の匍匐茎を接続したままにしてラメット間の物質移動が行われるようにした実験区 (Intact) を設置し (図 9)、両者を比較することとした。以下に実験 B-1 により得られた結果から、本種のラメット間の水分の移動特性について考察する。

4-3-1. 土壌含水比

土壌含水比は、地表から 5cm、10cm の深さの土壌とともに水道水の施用を制限した Basal、Apical より、水道水を与え続けた Intermediate で高い値であり、Intermediate は Basal、Apical の約 6 倍から 8 倍高い値であった (図 27)。

全てのポット (Basal、Intermediate、Apical) に水道水を施用した Control 区の土壌含水比 (地表から 5cm の深さの土壌) の結果を併せて示す (図 56)。

水分制限区の Basal、Apical の土壌では、Sever、Intact の土壌含水比が 1.4~4.5% であった。一方、Control 区の土壌含水比は、Basal で 13~15%、Apical で 12~14% であり、水分制限区より高い値であった。この結果から、水分制限区では土壌の水分量が低下し著しく乾燥した土壌環境であったと判断された。

水分制限区の Intermediate では、Sever より Intact で土壌含水比が低く、有意な傾向であった (図 27)。これは、Intermediate のコウライシバが匍匐茎を介して他のラメットに水を送ったため、Sever よりも多くの水を土壌から吸収したためであると考えられた (ラメット間の水の移動は「4-3-3. 各ラメットの含水率」で詳しく説明する)。

さらに Apical では、有意差は見られなかったが、Sever より Intact で約 2 倍高い土壌含水比であった。これは、ハイドロリック・リディストリビューション (Hydraulic Redistribution : HR) が行われた可能性が示唆された。植物の根や匍匐茎を介して、水分が湿潤な土壌環境から乾燥した土壌に分配される現象を HR と言う¹⁰⁵⁾。これは水ポテンシャルの勾配の結果起こる受動的な水の移動であると考えられている。HR は、夜間に行われ、日中に葉身部の気孔が開く時に、HR により送られた土壌の水が利用されることで、乾燥ストレスの軽減に寄与していると言われている¹⁰⁵⁾。コウライシバの HR は報告例がなく、本研究により本種が HR を行う可能性が示唆された。

4-3-2. 各ラメットの乾燥重量

健全葉の乾燥重量は、Basal、Apical ともに、Sever より Intact で 1.5~2 倍高い値であった。匍匐茎部、根系部は Basal において、Sever より Intact で有意に高い傾向であり、Apical では、匍匐茎部において、Sever で 4.5g/Pot、Intact で 6.2g/Pot であり、Sever より Intact で高い乾燥重量であった（図 28）。

以上の結果より、Intermediate と匍匐茎で接続されている Intact では、匍匐茎を切断した Sever より、Basal、Apical ともに高い乾燥重量であったことが明らかとなった。このことから、Intact では、Intermediate から、Basal、Apical の両方向に水を送ることで、Basal、Apical の乾燥ストレスを軽減し、乾燥重量の増加に影響したと考えられた。また、Basal の Intact では、Sever と比べ、匍匐茎部、根系部において乾燥重量が有意に高い傾向であったことから、水分は、地下部（匍匐茎部、根系部）にも送られたと推察された。

Sever では、Apical において葉のまき⁶⁹⁾や枯死葉が目立ち、地上部（葉身部）では著しい乾燥ストレスが見られた。これは、Apical における枯死葉の乾燥重量が、Intact と比べ 2 倍以上である結果からも明らかである（図 28）。

一方、Intermediate では有意な差は見られなかったが、健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の全ての部位において、乾燥重量が、Sever より、Intact で低い値であった。図 57 に、全乾燥重量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値）を示す。

全乾燥重量は、Intermediate において、Sever と比べ Intact で 1.5 倍低い値が確認された。一方、Basal、Apical では逆の結果が示され、全乾燥重量は Sever より Intact で高かった（図 57）。これは、Oversharing が影響したと考えられた。

イネ科クローナル植物であるバッファローグラス (*Buchloe dactyloides*) のラメット間の水分移動を検証した実験では、湿潤環境下のラメットから、乾燥環境下のラメットに水が多く送られており、その結果、湿潤環境のラメットの成長量が低下したとの報告があり、これを Oversharing と呼んでいる⁹⁰⁾。この報告から、コウライシバも Oversharing が行われており、Intact の Intermediate では、Basal や Apical に多くの水を送りすぎたことが原因となり、乾燥重量の低下に繋がったと考えられた。

一方、Sever と比べ Intact において Basal で 1.5 倍、Apical で 1.2 倍の全乾燥重量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値）の増加が見られたことから（図 57）、Intermediate からの水の移動が Basal、Apical の両ラメットの乾燥ストレスの緩和に影響したと考えられた。

SNTS の全乾燥重量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部の合計値）は、Sever と Intact に有意な違いはなかった（図 57）。このことから、SNTS に関しては、Sever、Intact ともに、湿潤環境下の Intermediate から伸長した匍匐茎であることから、Basal、Apical 間の匍匐茎切断の有無は、SNTS の乾燥重量に影響しないと考えられた。

4-3-3. 各ラメットの含水率

植物体内の含水率は、地上部（健全葉および枯死葉）の Apical において、Sever より Intact で有意に高く、約 3 倍高い値であった。また、匍匐茎部では、Apical において Sever より Intact で有意に高く、約 2 倍高い値であった。Basal では、有意差は見られなかったが、地上部（健全葉および枯死葉）、地下部（匍匐茎部）ともに、Sever より Intact で高い値であった（図 29）。

この結果から、Intact では Intermediate から Basal、Apical の両方向に水の移動があったことが明らかとなった。また、水は主に Apical 方向に移動すると考えられた。既往研究では、ヤナギ科のバルサムポプラ (*Populus balsamifera* L.)²⁾ や、ハマミズナ科の *Carpobrotus edulis*⁴⁴⁾、ヒユ科のナガエツルノゲイトウ (*Alternanthera philoxeroides*)¹⁰⁶⁾ など、他のクローナル植物でも、ラメット間で水の移動が報告されている。

ラメット間の水の移動は蒸散作用により行われる。つまり導管を利用する根から葉への水の移動であることから、水の移動は主に Apical 方向に移動すると考えられている⁷⁷⁾。一方、師管でも水の移動が行われているとの報告がある⁴⁷⁾。師管では、物質移動の方向性は特に決まっておらず、シンクとソースの関係で物質の移動方向が決まる⁴⁷⁾。

既往研究では、クワ科 (*Ficus tikoua*) や、ヒユ科のナガエツルノゲイトウ (*Alternanthera philoxeroides*) では、Basal から、Apical 方向に主に水が送られていると報告している⁴⁸⁾¹⁰⁶⁾。一方、カヤツリグサ科スゲ属の *Carex hirta* や、イネ科のバッファローグラス (*Buchloe dactyloides*) では、水分が Basal 方向、Apical 方向の両方向に移動することが報じられている¹²⁾⁹⁰⁾。

全乾燥重量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値）は、Basal において Sever と比べ Intact で 1.5 倍高い結果を示し（図 57）、また、Basal の地上部（健全葉および枯死葉）と匍匐茎部の含水率は、Sever と比べ Intact で高い値を示した（図 29）。

セリ科チドメグサ属の *Hydrocotyle bonariensis* は、Basal 方向に、水、窒素、光合成産物を移動することが報告されている¹⁷⁾。また、光合成産物の移動は師管を用いることから⁷⁷⁾、コウライシバにおいても、Basal 方向への水を含めた物質の移動は、師管を用いて行われた可能性が示唆された。また、Intermediate から Basal 方向への物質の移動は、水とともに光合成産物や他の物質が移動することで、Basal の乾燥ストレスの緩和や、成長量の増加に寄与したと推察された。

4-3-4. ラメット間の水分の移動特性（実験 B-1）により得られた主な結果および考察

Apical では、Sever より Intact で約 2 倍高い土壌含水比であった（図 27）。これは、植物の根や匍匐茎を介して、湿潤な環境の土壌 (Intermediate) の水分が、乾燥した土壌 (Apical) に分配される現象、ハイドロリック・リディストリビューション (Hydraulic Redistribution : HR) が行われたためであると示唆された。

植物体内の含水率は、地上部（健全葉および枯死葉）では Apical において、Sever より Intact で有意に高く、約 3 倍高い値であった。また、地下部（匍匐茎部）では Apical において Sever より Intact で有意に高く、約 2 倍高い値であった。Basal では有意差は見られなかったが、地上部、地下部ともに、Sever より Intact で高い値であった（図 29）。これらの結果から、Intermediate から Basal、Apical の両方向に水の移動が行われたと考えられた。また、水は主に Apical 方向に移動すると考えられた。

健全葉の乾燥重量は、Basal、Apical ともに Sever より Intact で 1.5～2 倍高い値であった。匍匐茎部、根系部は Basal において、Sever より Intact で有意に高い傾向であり、Apical では匍匐茎部において、Sever で 4.5g/Pot、Intact で 6.2g/Pot であり、Sever より Intact で高い乾燥重量であった（図 28）。このことから、Intact では Intermediate から Basal、Apical の両方向に水が送られ、乾燥ストレスを軽減したと考えられた。

Intermediate では、Sever と比べ Intact で 1.5 倍低い全乾燥重量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合算値）が確認された。一方、Basal、Apical では逆の結果が示され、全乾燥重量は、Sever より Intact で高かった（図 57）。これは、Oversharing が影響したと考えられた。つまり、湿潤環境下の Intermediate から乾燥環境下の Basal や Apical に水を送りすぎたことが原因となり、Intermediate の乾燥重量の低下に影響したと考えられた。

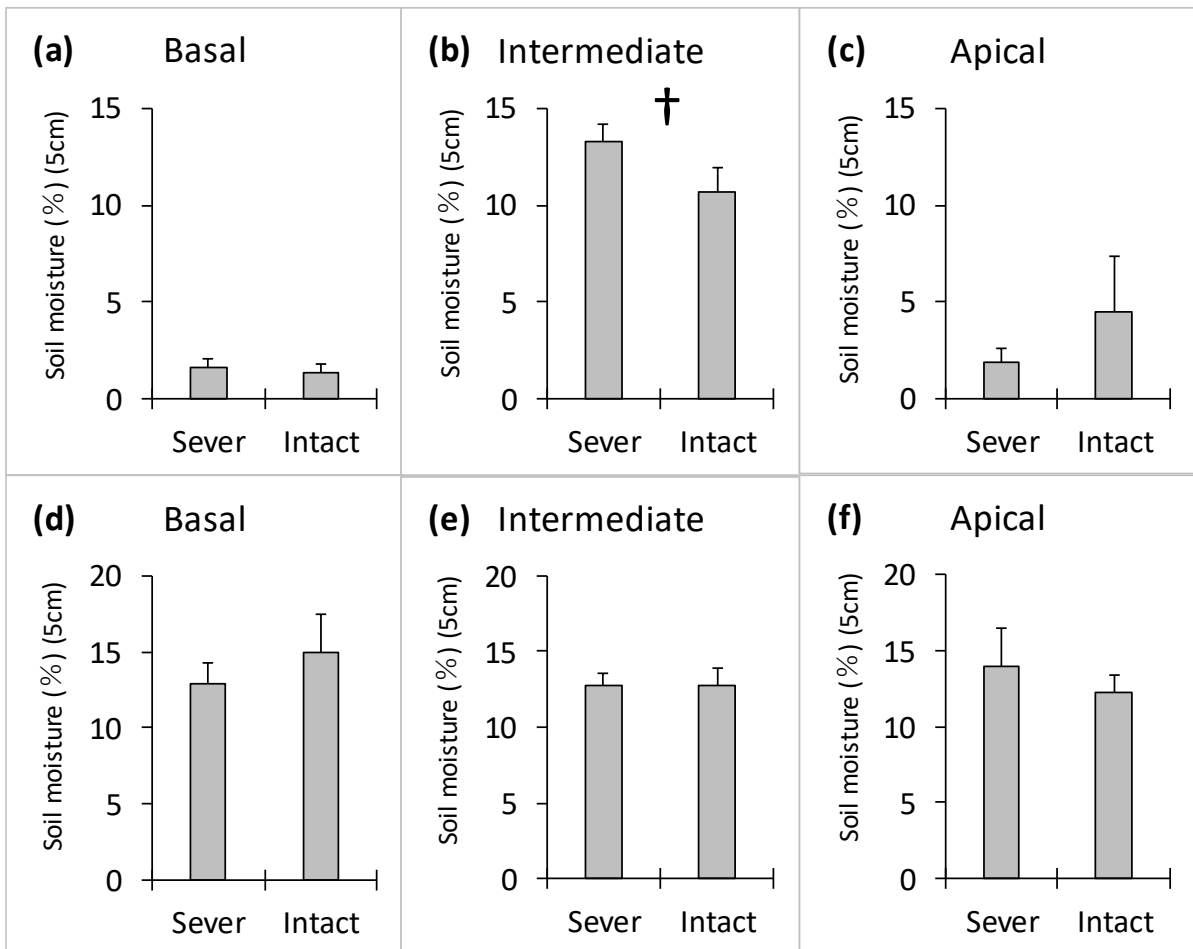


図 56 水分制限区および Control 区の実験ポットにおける土壌含水比

Soil moisture in the pot of limited water treatment and control experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test.

Limited water treatment period was 49 days. (a)-(c) Limited water treatment plots, (d)-(f) Control plots. Data of 5cm depth from soil surface are shown. For more details on experimental condition, see material and methods section.

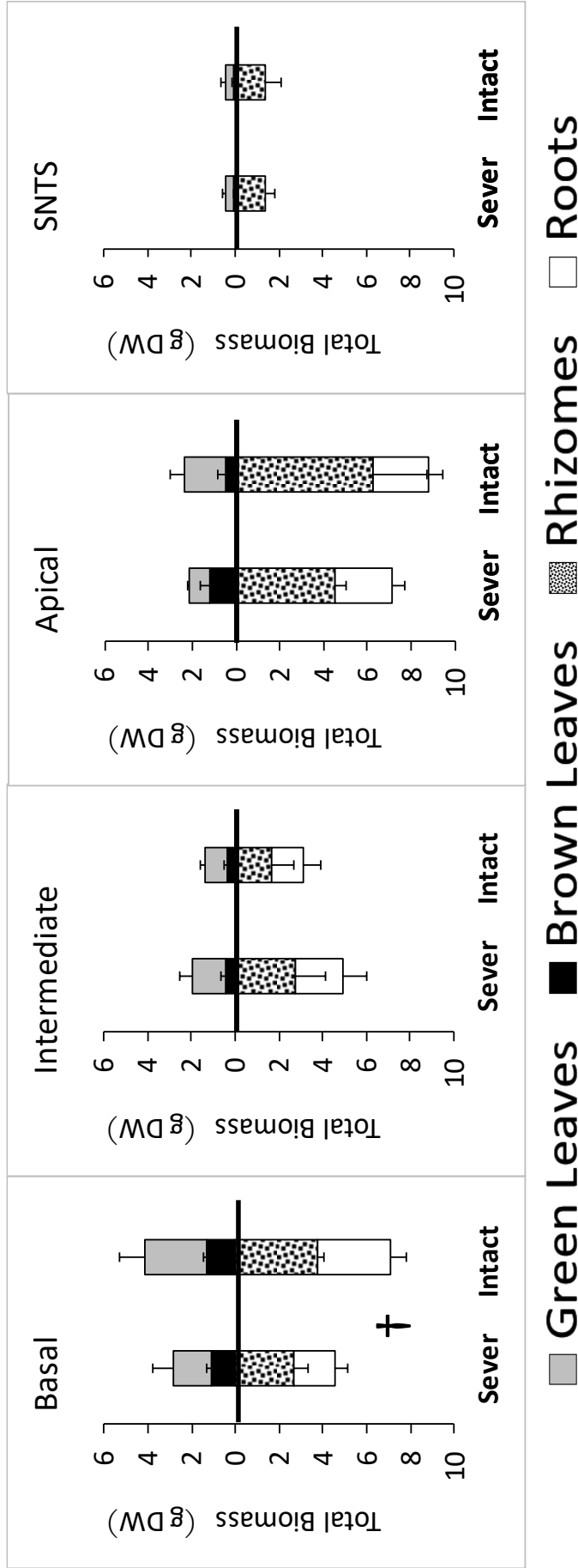


図 57 水分制限区の各ラメットの全乾燥重量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部)

Total biomass of each ramets with limited water treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. Combined data (Green Leaves and Brown Leaves, Rhizomes and Roots) was used for Student's *t*-test. Limited water treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

4-4. ラメット間の塩分の移動特性

「ラメット間の塩分の移動特性」(実験 B-2) では、3つの実験用ポット [Basal (基部)、Intermediate (中間部)、Apical (先端部)] を並べ、それぞれのポット間において匍匐茎を繋げたままコウライシバを生育させた(図 8)。その後、Intermediate を塩分環境下(15g/L の濃度の NaCl 溶液を施用)に、Basal、Apical を水道水施用環境下に置き(図 10)、各ラメットの乾燥重量(成長量)や体内塩分(Na⁺、Cl⁻)含有量を測定することで、本種のラメット間における塩分の移動特性や、塩ストレス対応を明らかにすることとした。また、ラメット間の匍匐茎を切断して物質の移動が行われなかった実験区(Sever)と、ラメット間の匍匐茎を接続したままにしてラメット間の物質移動が行われるようにした実験区(Intact)を設置し(図 9)、両者を比較することとした。以下に実験 B-2 により得られた結果から、本種のラメット間の塩分の移動特性や塩ストレス対応について考察する。

4-4-1. 土壌 EC 値

NaCl 溶液を施用した Intermediate の土壌 EC 値は、Sever で 669 μ S/cm、Intact で 524 μ S/cm であり、有意な差は見られなかったが、Sever と比べ Intact で約 150 μ S/cm 低い値であった(図 30)。土壌 EC 値の低下の原因として、コウライシバの塩分吸収や葉身部への塩分の転流が考えられたが、Intermediate の地上部(健全葉、枯死葉)では、体内の塩分(Na⁺、Cl⁻)含有量が Na⁺、Cl⁻ともに、Sever より Intact で低い(図 33、図 34)ことから、コウライシバの塩分吸収による影響ではないと推察された。

土壌 EC 値の低下について考えられる要因の 1 つとして、ハイドロリック・リディストリビューション(Hydraulic Redistribution : HR)が考えられた¹⁰⁵⁾。つまり、匍匐茎を介して Basal から Intermediate に送られた水が HR により、土壌にまで移動したと推察された(Basal から Intermediate へのラメット間の水分の移動は、「4-4-4. 各ラメットの Na⁺、Cl⁻含有量」で詳しく報じる)。Intermediate では、NaCl 溶液を施用していることもあり、土壌の浸透圧が高く、コウライシバの根系部における水分が浸透圧の影響を受けて土壌中に移動したことも推察された。

「4-3-1. 土壌含水比」でも既に説明した通り、コウライシバの HR は報告例がなく、本種の耐乾性や耐塩性を向上させるメカニズムの一つとして大変興味深いと思われた。

4-4-2. 土壌 pH

土壌 pH は、Basal、Intermediate、Apical の全てで、Sever と Intact に有意な差は見られず、全てのポットにおいて、7 程度の値を示した(図 31)。この結果から、NaCl 溶液の施用は、砂耕栽培環境下において、土壌の pH に影響を与えないと考えられた。

4-4-3. 各ラメットの乾燥重量

枯死葉の乾燥重量は、Basal、Intermediate において、Sever より Intact で有意に高く、また、Apical では、Sever より Intact で有意に高い傾向を示し、SNTS では有意差はなかったが、Sever より Intact で約 3 倍高い乾燥重量であった (図 32)。つまり、Basal、Intermediate、Apical の全てのラメットおよび SNTS において、Sever より Intact で枯死葉の乾燥重量が高い結果が示された。

この結果から、Intact では NaCl 溶液を施用した Intermediate から、各ラメットへの塩分の移動や塩ストレスが影響したと考えられたが、各ラメットの枯死葉の Na^+ 、 Cl^- 含有量は Sever と Intact の間に有意差はなく (図 33、図 34)、ラメット間の塩分の移動や、葉身部への塩分の蓄積が枯死葉の乾燥重量増加に影響しているとは言えず、他の要因が関係していると考えられた。

図 58 に、全乾燥重量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) を示す。また、図 59 に、Intermediate および SNTS のみに焦点を当てた、全乾燥重量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) を示す。その結果、有意な差ではなかったが、全乾燥重量は、Sever と比べ Intact において高い値であり、Intermediate で 1.3 倍、SNTS で 1.5 倍高かった (図 59)。

全 Na^+ 含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) および、全 Cl^- 含有量を図 60、図 61 に示す。この結果から、コウライシバの全部位における塩分 (Na^+ および Cl^-) 含有量は、Intermediate、SNTS において、いずれも Sever より Intact で低い値が確認された。

つまり、Intact の Intermediate および SNTS では、体内の塩分 (Na^+ 、 Cl^-) 含有量の低下が、全乾燥重量の増加に影響したと考えられた。Intermediate、SNTS の体内塩分含有量の低下は、Basal からの水の移動が影響したと考えられた。これは、本研究で既に考察した通り、ラメット間において水分の移動が行われた結果からも裏付けられる (4-3-3. 各ラメットの含水率)。この考察に関しては次の「4-4-4. 各ラメットの Na^+ 、 Cl^- 含有量」で詳しく述べる。

4-4-4. 各ラメットの Na^+ 、 Cl^- 含有量

Basal、Apical において Na^+ および Cl^- の含有量は一部を除き、全ての部位 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部) で Sever と Intact の間に有意な差は見られなかった (図 33、図 34)。また、全 Na^+ 含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) および、全 Cl^- 含有量は、Basal、Apical において、Sever と Intact の値にほとんど差がなく、有意差も見られなかった (Apical の Cl^- 含有量を除く) (図 60、図 61)。

これらの結果から、匍匐茎をラメット間において接続したままにした Intact では、塩分を施用した Intermediate から、Basal や Apical の両方向に塩分 (Na^+ 、 Cl^-) が移動していな

いことが明らかとなった。

筆者が以前行った実験でも同様の結果を示しており、Intermediate に塩分を施用したコウライシバにおいて、Intermediate から Basal、Apical のどちらの方向にも塩分が移動しない結果を報告している⁸⁹⁾。また、イネ科スパルティナ属の *Spartina patens* では、ラメット間において塩分の移動は行われていないとの報告がある²⁶⁾。

これらの報告から、コウライシバは、生育に影響を及ぼす塩分 (Na^+ や Cl^-) を他のラメットに拡散、移動させないようにして塩ストレスに対応していると考えられた。また、「4-3. ラメット間の水分の移動特性」でも考察した通り、コウライシバのラメット間において水分の移動が行われることから、コウライシバのラメット間では、移動させる物質の選択を行っている可能性も示唆された。

Intermediate では枯死葉の Na^+ 含有量が Sever より Intact で有意に低い傾向であった (図 33)。また、SNTS では、健全葉の Na^+ 含有量が、Sever より Intact で有意に低く、健全葉の Cl^- 含有量は Sever より Intact で有意に低い傾向であった (図 34)。また、全 Na^+ 含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) および、全 Cl^- 含有量は、塩分を施用した、Intermediate、そして Intermediate から伸長した SNTS において、いずれも Sever より Intact で低い値を示した (図 60、図 61)。これらの結果から、水道水を与えた Basal から NaCl 溶液を与えた Intermediate (SNTS も含む) へ水が送られることで、体内塩分濃度が低下したと考えられた。

ラメットの一部分に塩分施用を行った既往研究では、塩分施用を行っていないラメットから、塩分施用を行ったラメットへ水が送られ、塩分環境下のラメットの塩ストレスを軽減したとの報告がある⁴⁹⁾。

セリ科チドメグサ属の *hydrocotyle bonariensis* では、塩分施用環境のラメットに水が送られて塩ストレスが緩和されたとの報告¹⁸⁾ や、塩性湿地に生息するイネ科スパルティナ属の *Spartina patens* とイネ科の Saltgrass (*Distichlis spicata*) では、Basal (塩分無施用) から、Apical (塩分施用) 方向へ水が送られて、塩分環境下のラメットの塩ストレスが緩和されたとの報告がある⁸⁶⁾。さらに、キク科植物の *Ambrosia psilostachya* は、塩分無施用のラメットから、塩分環境下のラメットに水が送られ、その結果、塩分環境下のラメットの塩ストレスが緩和されて成長量が増加したことが報告されている⁸⁰⁾。

植物の根は根圧 (浸透圧) により、土壤中から水を吸収しており、これが植物の土壤からの吸水メカニズムの 1 つである⁶⁵⁾。根では、土壤よりも根の浸透圧を高くすることで吸水を行っているが、塩類集積が発生すると、植物の根よりも土壤の浸透圧が高くなり、植物の吸水が阻害される¹⁰⁵⁾。このことから、NaCl 溶液を与えた Intermediate の土壤では浸透圧が高くなっており、吸水阻害が発生していたと考えられた。

本研究の結果では、全 Na^+ 含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) および、全 Cl^- 含有量は、塩分を施用した、Intermediate、そして Intermediate から伸長した SNTS

において、いずれも Sever より Intact で塩分 (Na^+ 、 Cl^-) 含有量が低かったことを既に述べた (図 60、図 61)。

これらの結果から、Basal から Intermediate へ水分を送ることで Intermediate の体内塩分濃度を低下させる (薄める) とともに、Basal から水分が供給された Intermediate では根からの吸水量が少なくなり、その分土壌からの塩分の吸収量が少なくなったと推察された。つまり、Basal からの水分の供給と、土壌中からの塩分の吸収量の低下が、Intact における Intermediate の体内の塩分濃度の低下 (図 60、図 61) や乾燥重量の増加 (図 59) に寄与したのではないかと考えられた。また、SNTS も Intermediate から伸長しており、Intermediate の一部として扱われ、体内塩分濃度の低下、乾燥重量の増加に影響したと考えられた。

Na^+ および Cl^- 含有量は、Intermediate、SNTS において健全葉より枯死葉で高く、Sever、Intact とともに、健全葉の 2~3 倍高い値であった (図 60、図 61)。このことから、コウライシバは、枯死葉に塩分を蓄積させ、最終的に脱落させることで、個体からの塩分の切り離しを行っていると考えられた。

根から水とともに吸収された塩分は導管を通り、葉に到達すると言われている^{24) 40)}。植物の耐塩性メカニズムの 1 つに、細胞内の液胞に塩分を隔離する機能が知られている⁹³⁾。多くの塩分を蓄積した葉身部は、最終的に枯死して落葉するが、この落葉した葉身部 (枯死葉) に多くの塩分が含まれていることが報告されている。つまり、大量の塩分が蓄積した枯死葉を落葉、脱落させることで、個体から塩分を切り離し、体内の塩分濃度を低下させて塩ストレスに対応していると考えられている^{83) 105)}。

芝草の葉身部では、枯死 (老化とも呼ぶ) の過程において、加水分解酵素の働きにより、細胞内のたんぱく質、炭水化物、核酸を分解して生産される、アミノ酸、糖、ミネラルなどを植物体の他の部分に転流して再利用していると言われている¹⁾。また、耐塩性を有する植物では、枯死葉となる古い葉は、液胞が大きく発達してより多くの塩分を蓄積することが分かっている⁹³⁾。このことから、コウライシバは、役割を終えた古い葉に積極的に塩分を蓄積して、最終的に枯死葉を脱落させることで、個体からの塩分の切り離しを行っており、塩ストレスに対応していると考えられた。

以上から、塩分環境下のコウライシバの枯死葉は体内の物質循環において極めて重要な役割を担っていると考えられた。必要な物質を植物体の他の部分に転流させることで新しく体を構成する細胞へのサポートを行い¹⁾、逆に成育を阻害する塩分を積極的に葉身部に蓄積して、最終的に脱落させることで個体からの塩分の切り離し (塩分の排除) を行っていると考えられた。

4-4-5. SNTS の Na^+ 、 Cl^- 含有量

SNTS においては、Sever、Intact とともに NaCl 溶液の施用を行った Intermediate と接続している。つまり、SNTS への塩分移動特性を明らかにするためには、全てのポットに水道水

を施用した Control 区と比較する必要がある。

図 62、図 63 に塩分施用区と、Control 区における SNTS の Na⁺および Cl⁻含有量を示す。Sever の Na⁺含有量は、健全葉において、Control 区で 4.2mg/g DW、塩分施用区で 7.3mg/g DW であり、有意差はなかったが、塩分施用区で 3.1mg/g DW 高かった。Cl⁻では両者にほとんど差がなく、有意差が見られなかった (図 62)。

匍匐茎部の Na⁺含有量は、Control 区で 2.7mg/g DW、塩分施用区で 5.2mg/g DW であり、塩分施用区で有意に高い傾向であった。Cl⁻では両者にほとんど差がなく、有意差が確認されなかった。

Intact では、健全葉において、Na⁺および Cl⁻の含有量ともに Control 区と塩分施用区に有意な差はなかった (図 63)。

匍匐茎の Na⁺含有量は Control 区で 2.7mg/g DW、塩分施用区で 3.8mg/g DW であり、塩分施用区で有意に高い傾向であった。また、Cl⁻濃度は、Control 区で 4.7mg/g DW、塩分施用区で 6.5mg/g DW であり、有意差はなかったが、Control 区と比較して塩分施用区で 1.8mg/g DW 高い値であった。

これらの結果から、Na⁺、Cl⁻ともに、Intermediate から SNTS に移動していると考えられた。筆者の以前行った実験でも同様の結果を示しており、Intermediate と接続している SNTS の塩分 (Na⁺、Cl⁻) は、葉身部において Intermediate から 15cm の距離まで移動していることが確認され、また、匍匐茎部では Intermediate から 30cm の距離まで移動したことが明らかとなっている⁸⁹⁾。

これらの結果から、まだ土壤に接地しておらず、発根をしていない SNTS は、Intermediate の一部 (Intermediate の匍匐茎) として扱われ、全ての物質 (水やイオン) が Intermediate から移動して共有されると考えられた。さらに、塩分を施用した Intermediate から、Basal や Apical の両方向に塩分 (Na⁺、Cl⁻) が移動していない結果から (図 60、図 61)、SNTS がラメットとして成育した段階において、Intermediate からの塩分の移動は行われなくなると推察された。

4-4-6. ラメット間の塩分の移動特性 (実験 B-2) により得られた主な結果および考察

土壤 EC 値は、NaCl 溶液を施用した Intermediate において、Sever と比べ Intact で約 150 μ S/cm 低い値であった (図 30)。これは、ハイドロリック・リディストリビューション (Hydraulic Redistribution : HR) が影響したと考えられた。匍匐茎を介して Basal から Intermediate に送られた水分がコウライシバの根まで移動し、さらに、土壤にまで移動して土壤塩分濃度の低下に寄与したと推察された。

全 Na⁺含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合算値) および全 Cl⁻含有量は、Basal、Apical とともに、Sever と Intact を比較したところ、値にほとんど差がなく、有意差も見られなかった (Apical の Cl⁻含有量を除く) (図 60、図 61)。これらの結果から、NaCl 溶液を

施用した *Intermediate* から匍匐茎を介して、*Basal* や *Apical* へ、塩分 (Na^+ 、 Cl^-) の移動が行われていないことが明らかとなった。また、*Intermediate* は、成育阻害に影響する塩分をラメット間で拡散しないようにしていると考えられた。

全 Na^+ 含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合算値) および全 Cl^- 含有量は、塩分を施用した、*Intermediate* および *Intermediate* から伸長した *SNTS* において、*Sever* より *Intact* で低かった (図 60、図 61)。これらの結果から、水道水のみを与えた *Basal* から、 NaCl 溶液を与えた *Intermediate* (*SNTS* も含む) へ水分が送られることにより、植物体内の塩分濃度が低下したと考えられた。

Na^+ および Cl^- 含有量は、*Intermediate*、*SNTS* において健全葉より枯死葉で高く、*Sever*、*Intact* ともに、健全葉の 2~3 倍高い値であった (図 60、図 61)。このことから、コウライシバは、枯死葉になるような古い葉に塩分を転流、蓄積させて、最終的に枯死葉を脱落させることで、塩分を個体から切り離して、塩ストレスに対応していると考えられた。

SNTS において、匍匐茎部の Na^+ 含有量は、*Sever*、*Intact* ともに *Control* 区 (全てのラメットに水道水を施用) より塩分施用区で有意に高い傾向であった (図 62、図 63)。これらの結果から、まだ土壤に接地しておらず、発根をしていない *SNTS* は、*Intermediate* の一部として扱われ、全ての物質 (水やイオン) が *Intermediate* から移動して共有されると考えられた。さらに、塩分を施用した *Intermediate* から、*Basal* や *Apical* の両方向に塩分 (Na^+ 、 Cl^-) が移動していない結果から (図 60、図 61)、*SNTS* がラメットとして成育した段階において、*Intermediate* からの塩分の移動は行われなくなると推察された。

全乾燥重量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) は、*Sever* と比べ *Intact* で高い値であり、*Intermediate* で 1.3 倍、*SNTS* で 1.5 倍高かった (図 59)。これらの結果から、*Intermediate*、*SNTS* では、水道水を施用した *Basal* から、塩分環境下の *Intermediate* に水分が送られることで体内の塩分濃度が低下し、全乾燥重量の増加に寄与したと考えられた。

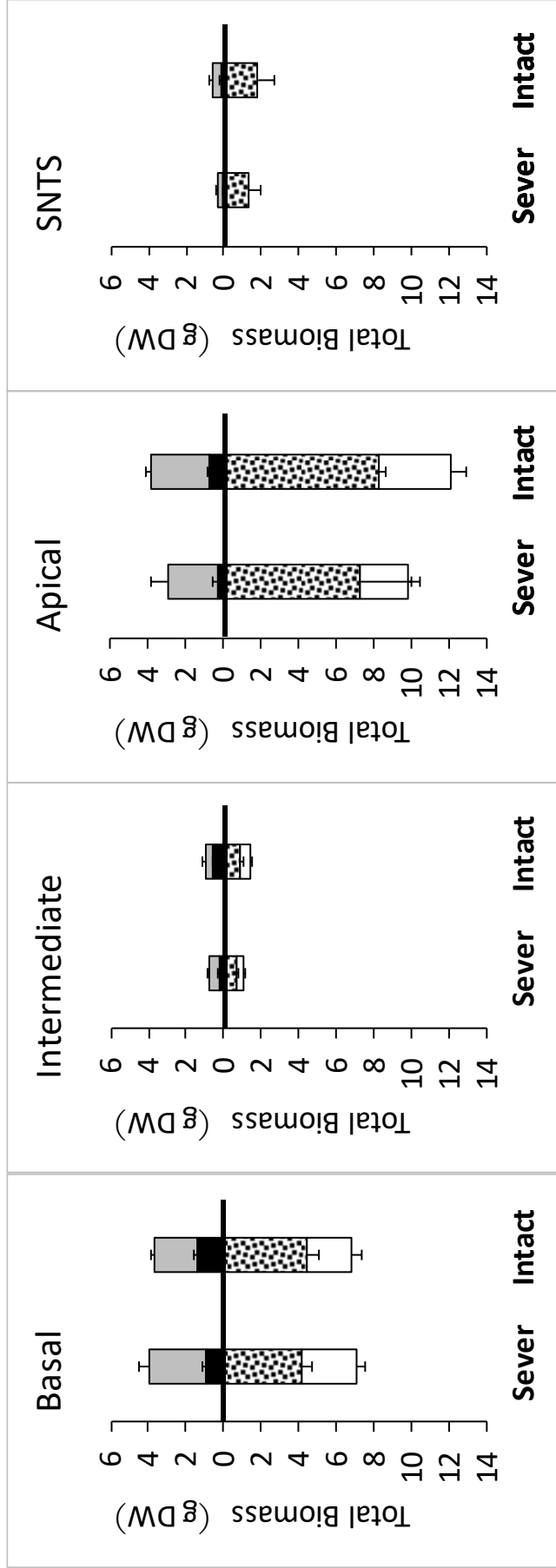


図 58 塩分施用区の各ラメットの全乾燥重量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部)

Total biomass of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. Combined data (Green Leaves and Brown Leaves, Rhizomes and Roots) was used for Student's *t*-test. NaCl solution treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

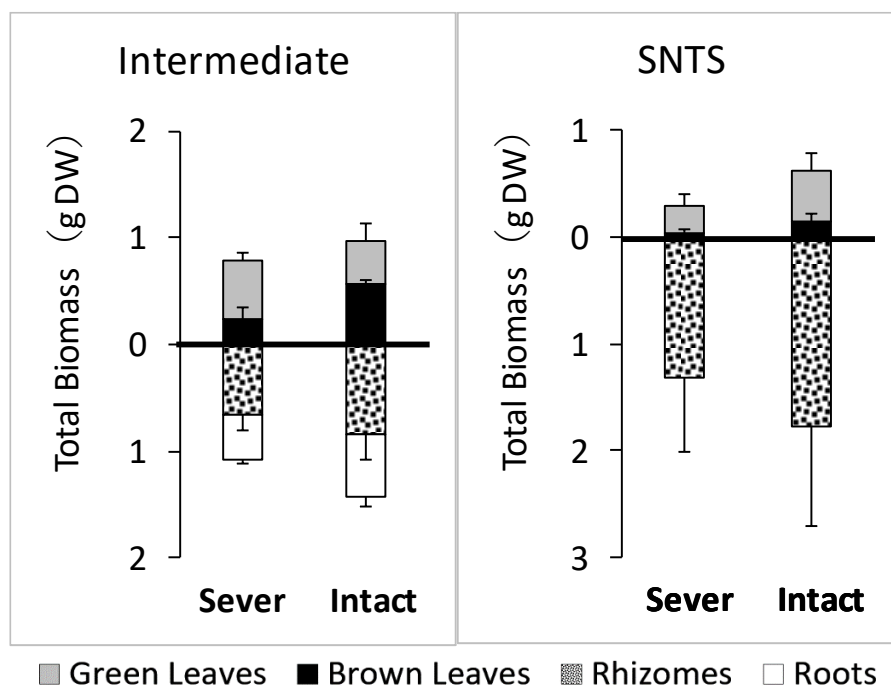


図 59 塩分施用区における Intermediate および SNTS の全乾燥重量（健全葉、枯死葉、匍匐基部、根系部）

Total biomass of Intermediate and SNTS ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's t -test.

Combined data (Green Leaves and Brown Leaves, Rhizomes and Roots) was used for Student's t -test. NaCl solution treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

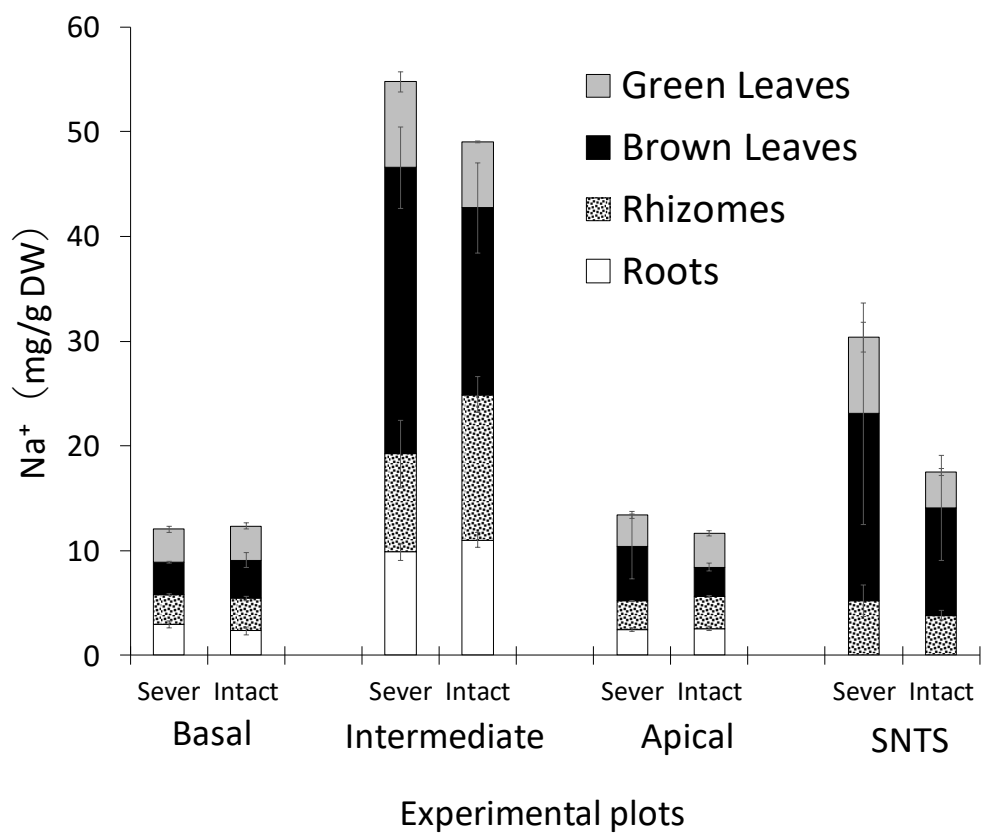


図 60 塩分施用区の各ラメットにおける各部の全 Na⁺含有量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部）

Total Na⁺ content of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. Combined data (Green Leaves, Brown Leaves, Rhizomes, Roots) was used for Student's *t*-test. NaCl solution treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

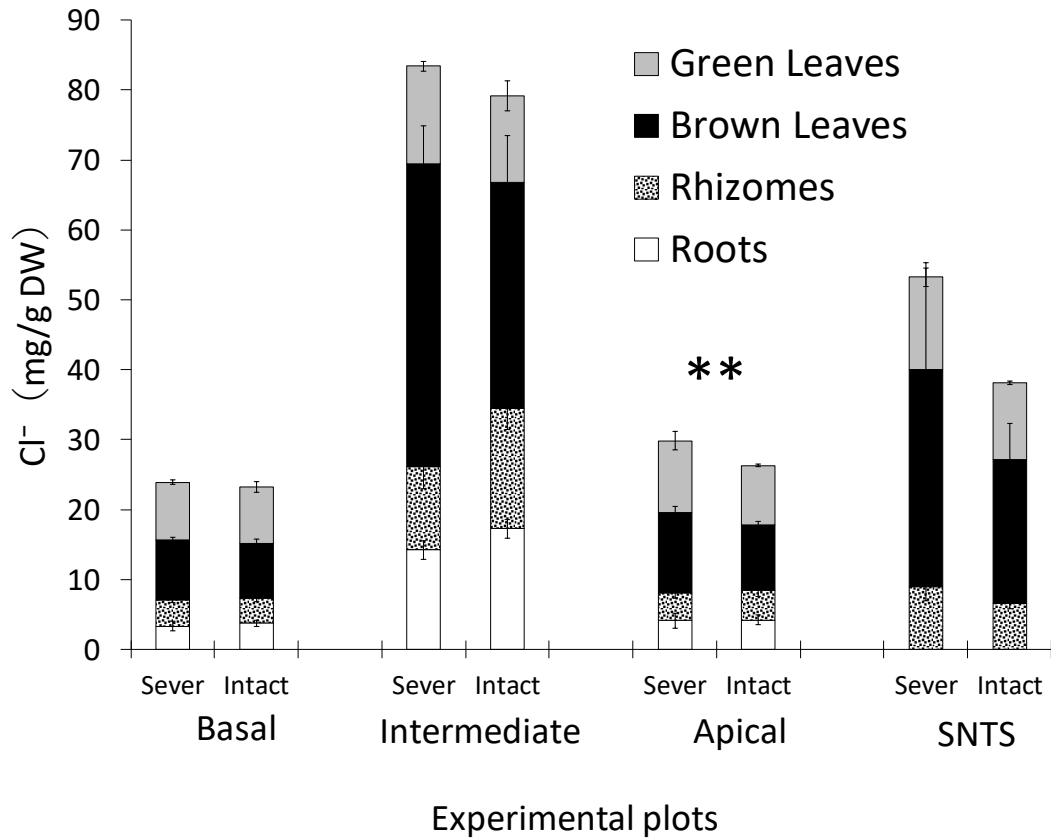


図 61 塩分施用区各ラメットにおける各部の全 Cl 含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部)

Total Cl⁻ content of each ramets with NaCl solution treatment experiment

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Sever and Intact are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. Combined data (Green Leaves, Brown Leaves, Rhizomes, Roots) was used for Student's *t*-test. NaCl solution treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

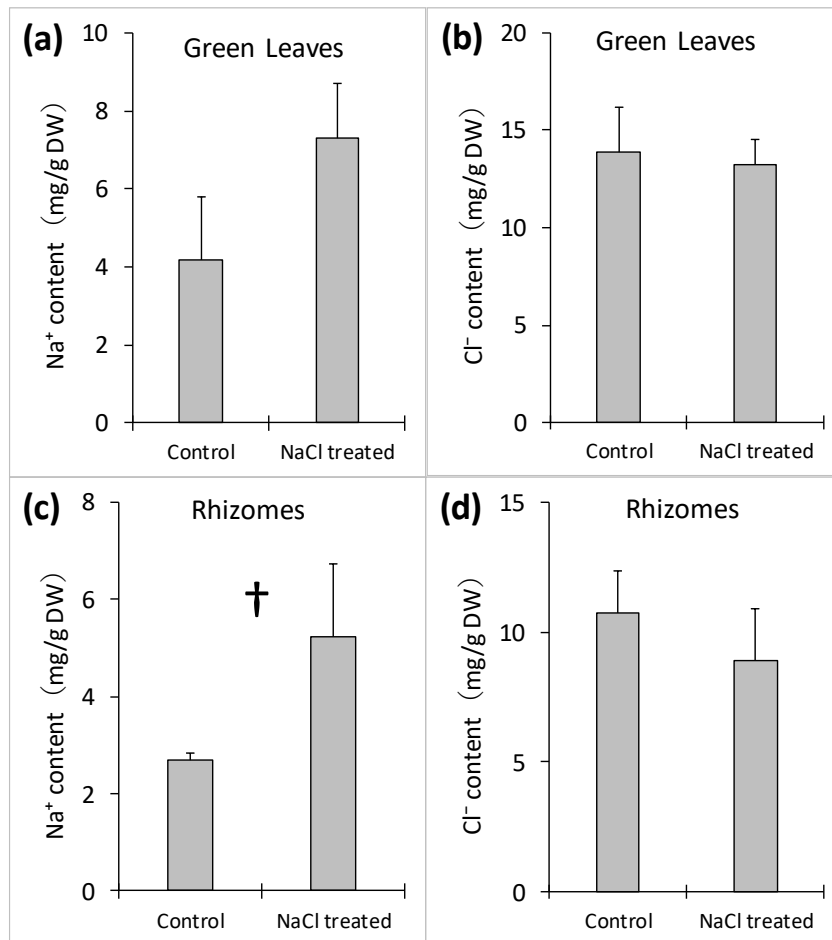


図 62 Intact の塩分施用区および Control 区の SNTS における健全葉と匍匐基部の Na⁺、Cl⁻含有量

Na⁺, Cl⁻ content of SNTS Green leaves and Rhizomes with NaCl solution treatment and control experiment in Intact

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Control plots and NaCl treatment plots are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. (a)-(b) Green Leaves, (c)-(d) Rhizomes. NaCl solution treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

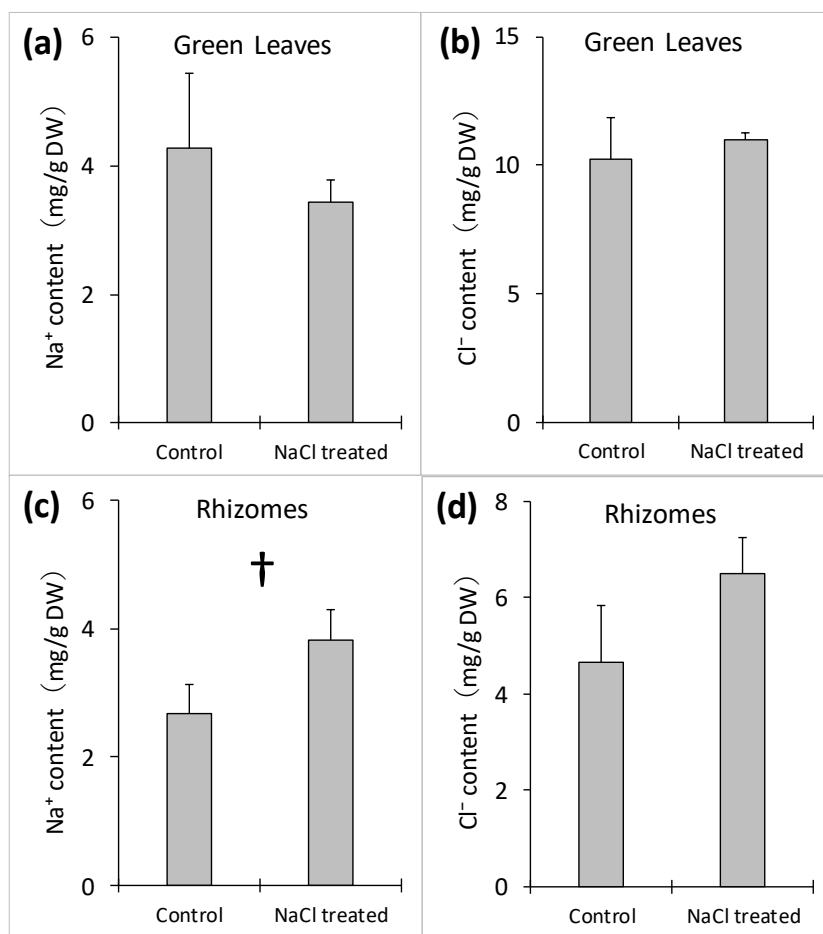


図 63 Sever の塩分施用区および Control 区の SNTS における健全葉と匍匐茎部の Na⁺、Cl⁻含有量

Na⁺, Cl⁻ content of SNTS Green leaves and Rhizomes with NaCl solution treatment and control experiment in Sever

Data are the means. Vertical bars represent \pm SD of triplicates analyses. Significant differences between Control plots and NaCl treatment plots are indicated: †, $p < 0.1$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$, no mark indicates no significant difference according to Student's *t*-test. (a)-(b) Green Leaves, (c)-(d) Rhizomes. NaCl solution treatment period was 49 days. For more details on experimental condition, see material and methods section.

5. 総合考察

「垂直方向の塩分の移動」(実験 A) および「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B) より得られた結果から、コウライシバの垂直方向(根系部から葉身部)と、水平方向(ラメット間)の水分や塩分等の物質移動特性の一端を明らかにした。また、それぞれの実験から得られた結果から、体内の物質移動から見たコウライシバの塩ストレス対応について考察した。

ここでは、「垂直方向の塩分の移動」(実験 A) および「水平方向の水分と塩分の移動」(実験 B) で得られた両者の結果および考察より、垂直方向および水平方向の体内物質移動特性から見た本種の塩ストレス対応について総合的に考察する。

5-1. コウライシバ体内の塩分の移動と塩ストレス対応

コウライシバの根系部より植物体内に吸収された塩分(Na^+)は、体内のどの部位にどれだけの量が移動しているのであろうか。

「ラメット間の塩分の移動特性」(実験 B-2)では、49日間にわたりコウライシバに NaCl 溶液を施用して、本種の各部(健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部)の塩分(Na^+)含有量を測定した。また、「塩類腺からの塩分排出特性」(実験 A-2)では、35日間にわたり本種に NaCl 溶液を施用して、塩類腺からの塩分排出量を測定した。

垂直方向のコウライシバの塩分移動特性(塩分収支)を把握するため、「ラメット間の塩分の移動特性」(実験 B-2)より得られた、健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の Na^+ 含有量の結果(15g/Lの濃度の NaCl 溶液を施用した Sever、Intermediate)と「塩類腺からの塩分排出特性」(実験 A-2)の実験より得られた Na^+ の排出量の結果(15g/L区)を統合して、塩類腺から排出された塩分量も含めたコウライシバ体内の全ての塩分(Na^+)量をまとめた(図 64)。

その結果、 Na^+ 含有量は、健全葉で 8.2mg/g DW、枯死葉で 27.3mg/g DW、匍匐茎部で 9.4mg/g DW、根系部で 9.9mg/g DW、健全葉からの Na^+ 排出量は 5.5mg/g DW であり、全体の Na^+ 量の合計は 60.3mg/g DW であった。各部の Na^+ 含有量および Na^+ 排出量の合計値を 100%とした割合は、健全葉で 13.6%、枯死葉で 45.3%、匍匐茎部で 15.6%、根系部で 16.4%、排出量は 9.1%であった(図 64)。

これらの結果から、塩分環境下のコウライシバは、土壤中から吸収した塩分を主に地上部、特に枯死葉に転流、蓄積させていると考えられた。「3-1. 長期間の塩ストレスに対する反応」(実験 A-1)では、長期間の塩分施用環境下において、コウライシバの地下部(匍匐茎部、根系部)に比べて、地上部(葉身部)で 4~5 倍の塩分(Na^+ 、 Cl^-)含有量(図 17)であった結果からも、本考察が裏付けられると考えた。

また、ラメット間において、塩分環境下の Intermediate から、Basal、Apical の両方向へ塩分の移動が行われなかったとの結果(図 60、図 61)からも、土壌から吸収した塩分は主に

垂直方向に移動すると考えられた。

「3-1. 長期間の塩ストレスに対する反応」(実験 A-1) では、4 回目の地上部の刈取り時 [2014 年 12 月 2 日 (NaCl 溶液施用開始から 172 日間)] において、15g/L 区の葉身部の Na⁺含有量は 57mg/g DW であった (図 15)。一方、コウライシバに塩ストレスを与えた既往研究の結果では、葉身部の Na⁺含有量は、約 19mg/g DW (1 週間にわたり、200mM の塩水を施用)⁵⁴⁾ や、12.53mg/g DW (4 週間にわたり、48mS/cm の塩水を施用)⁹⁶⁾ であり、本研究の結果より低い塩分含有量であるとの結果が報告されている。

また、芝草 4 種 (*Andropogon greenwayi*, *Sporobolus ioclados*, *Sporobolus kentrophyllus*, *Sporobolus spicatus*) に塩分 (400mM NaCl) を施用した実験では、施用 24 時間後と 96 時間後の葉身部の塩分含有量を比較しており、芝草 4 種の葉身部の Na⁺含有量が 24 時間後と比べ 96 時間後で約 2 倍の値を示したとの報告がある²³⁾。

このことから、コウライシバは、長期間の塩分環境下では、主に垂直方向 (葉身部) へ塩分を蓄積する特徴を有すると考えられた。地下部 (匍匐茎部や根系部) は養水分の吸収や栄養繁殖などの役割を有しており、コウライシバの生存にとって不可欠な部位である。一方、葉身部は匍匐茎部が存在する限り再び成長させることが可能である。つまり、コウライシバは、塩分環境下において、主に葉身部に塩分を転流、蓄積することにより、生存のために不可欠である匍匐茎部や根系部の塩分濃度の増加を抑え、地下部の塩ストレスを緩和していると考えられた。

耐塩性を有する植物の塩ストレス対応の一つに、葉身部に塩分を転流、蓄積させて、その後落葉させることで、個体から塩分を切り離す仕組みが知られている^{83) 105)}。

「ラメット間の塩分の移動特性」(実験 B-2) では、Na⁺および Cl⁻含有量は、Intermediate、SNTS の両者において健全葉より枯死葉で高く、Sever、Intact とともに、健全葉の 2~3 倍高い値であった結果 (図 60、図 61) から、コウライシバも同様の仕組みにより塩ストレスへの対応を行っていると考えられた。つまり、土壌から吸収した塩分を主に地上部 (葉身部) に転流、蓄積させて (特に古い葉身部に多くの塩分を蓄積)、枯死した段階で脱落させることで、個体からの塩分の切り離しを行っていると考えられた。

耐塩性を有する植物の特徴として、主に 5 つの塩ストレス対応が存在することを「1-1-4. 植物の塩ストレスと対応」で説明した [①根からの Na⁺排出、②塩類腺からの Na⁺排出、③液胞への Na⁺隔離、④細胞質の浸透圧調節、⑤落葉 (葉の脱落)]。

コウライシバの塩ストレス対応に関わる先行研究は、上記①~⑤のうち、②、③、④の項目のみが報告されている (1-1-6. コウライシバの塩ストレス対応)。本研究の結果および考察より、⑤落葉 (葉の脱落) がコウライシバの塩ストレス対応において重要であると考えられた。また、本研究により、コウライシバの塩ストレス対応に新たな視点を加えることができたと考えられた (図 65)。

本研究では、まだ発根をしていない、ラメットになる前の匍匐茎 (SNTS) への物質移動

特性も検証した。「ラメット間の塩分の移動特性」(実験 B-2)では、塩分環境下の **Intermediate** から伸長した **SNTS** の塩分含有量は、水道水のみを与えた **Control** 区の **SNTS** と比べて葉身部、匍匐茎部において、高い塩分含有量を示したことから、塩分を施用したラメット (**Intermediate**) から **SNTS** へ塩分が移動していることが明らかとなった (図 62)。これらの結果から、まだ土壤に接地しておらず、発根をしていない **SNTS** は、**Intermediate** の一部として扱われ、全ての物質 (水やイオン) が **Intermediate** から移動して共有されると考えられた。

さらに、塩分を施用した **Intermediate** から、**Basal** や **Apical** の両方向に塩分 (Na^+ 、 Cl^-) が移動していない結果から (図 60、図 61)、**SNTS** が土壤に接地して根系部を生育させて新たなラメットとして独立した段階において、**Intermediate** からの塩分の移動は行われなくなると考えられた。ラメットとは親個体から分離されても独立して存在できる潜在能力を持つ形態上の単位とされており⁷⁷⁾、ラメットの生育段階においても水平方向の物質移動特性が異なると考えられた。

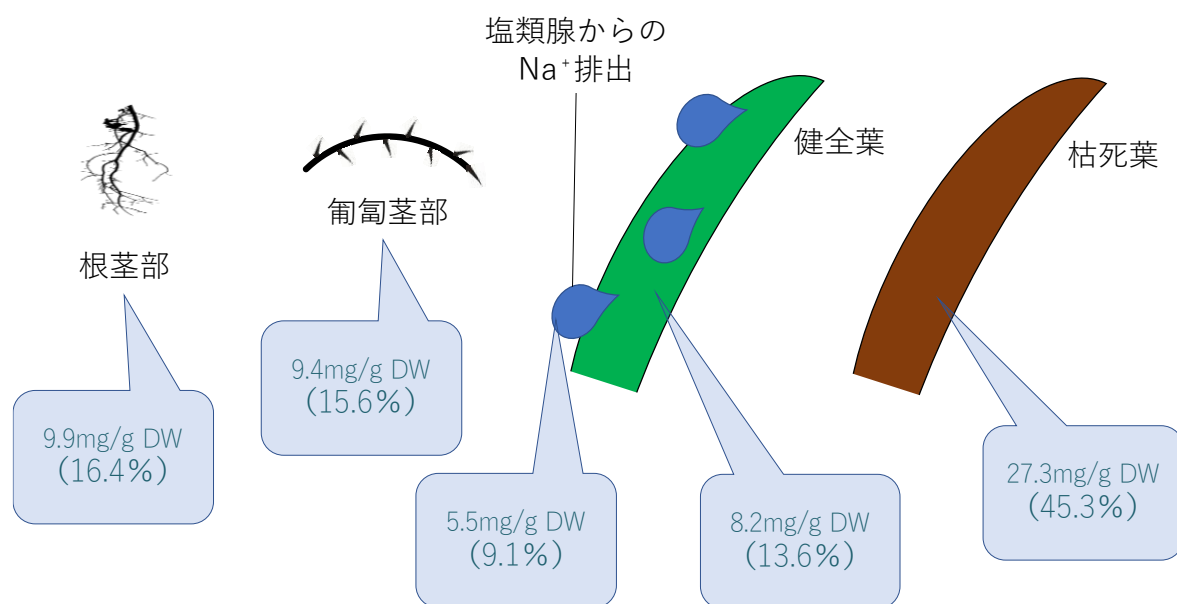


図 64 15g/L NaCl 溶液施用環境下のコウライシバの各部（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部）の Na⁺含有量および健全葉からの Na⁺排出量（塩分収支）

Na⁺ content and Na⁺ excretion amount of *Zoysia matrella* under 15g/L concentration of NaCl solution treatment

Na⁺ content of plant body (Green Leaves, Brown Leaves, Rhizomes, Roots) data are from NaCl treatment plots (Substance transport experiment between ramet, Intermediate, Sever) (Result section 3-5) and Na⁺ excretion amount data are from ion excretion from salt gland experiment (Result section 3-2) (15 g/L NaCl solution treated). For more details on experimental condition, see material and methods section 2-2 and 2-3.

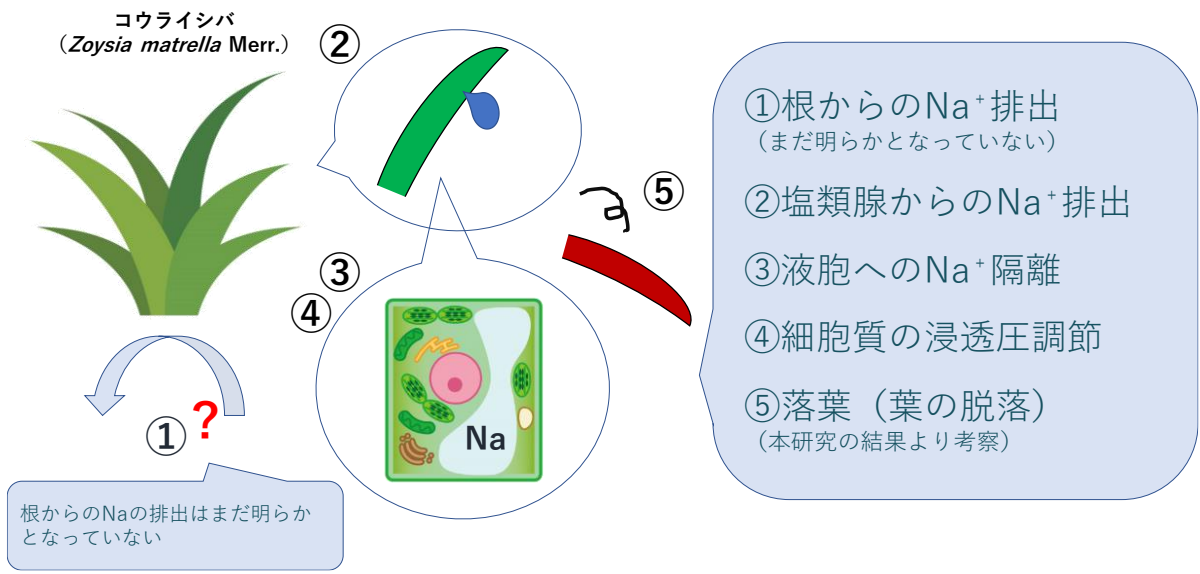


図 65 コウライシバの体内における塩分 (Na⁺) の移動と塩ストレス対応の模式図

5-2. コウライシバ体内の水分の移動と塩ストレス対応

「5-1. コウライシバ体内の塩分の移動と塩ストレス対応」において、コウライシバは、ラメット間において Basal 方向、Apical 方向の両方向へ塩分の移動を行わず、土壌から吸収した塩分は主に垂直方向に移動すると考察した。一方、本研究の結果から、水道水を与えたラメットから、NaCl 溶液を与えた塩分環境下のラメットへの水分の移動が推察された。つまり、塩分環境下のラメットは、ラメット間において塩分の拡散を防ぎ、水道水施用環境下（無塩分環境下）のラメットは、塩分環境下のラメットへ水分を送ることで、塩ストレスを緩和していると考えられた。このような異なる塩ストレス環境下におけるラメット間の物質移動特性が（ラメット間の助け合い）、コウライシバの塩ストレスの緩和に影響し、高塩分環境下での生存を可能にしていると推察した。以下に詳しい考察を述べることとする。

クローナル植物にとって、匍匐茎や地下茎によるラメット間の繋がりが植物の生存において有利に働くことは既に証明されている。これは、ラメット間において物質の移動（生理的統合）が行われているためである⁹¹⁾。

クローナル植物の生理的統合の研究では、窒素、リン酸、カリ等の栄養塩^{17) 8) 50) 87)}、水分^{51) 2) 44) 109)}、光合成産物^{49) 78) 107) 5)} など、ラメット間で数多くの物質が移動しており、成長量の増加や、環境ストレスの緩和に寄与していることが明らかとなっている。

本研究の結果では、ラメット間が匍匐茎で接続されている Intact では、水分制限区（実験 B-1）、塩分施用区（実験 B-2）の両者で、匍匐茎を切断した Sever と比べて、ラメットの全乾燥重量（Apical、Intermediate、Basal、SNTS の合計値）が高い値であった。

水分制限区の全乾燥重量では、Sever で 25.4g、Intact で 28.9g であり、Intact で 1.14 倍高い全乾燥重量であった（図 57）。また、塩分施用区では、Sever で 27.3g、Intact で 31.3g であり、Intact で 1.15 倍高い全乾燥重量であった（図 58）。これらの結果からも、コウライシバのラメット間の繋がりは、環境ストレスを緩和させて、ラメット全体における成長量の増加に寄与していると推察された。

「ラメット間の水分の移動特性」（実験 B-1）の結果より、湿潤環境下のラメットから、水分制限処理を行った乾燥環境下のラメットに、匍匐茎を介して水が送られたことが明らかとなった（図 29）。また、乾燥環境下のラメット（Basal、Apical）の全乾燥重量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値）は、Sever と比べて Intact で高かった（図 57）。

さらに、「ラメット間の塩分の移動特性」（実験 B-2）では、塩分環境下の Intermediate および Intermediate から伸長した SNTS において、Sever と比べて Intact で、全 Na⁺含有量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値）および全 Cl⁻含有量が低く（図 60、図 61）、また、全乾燥重量（健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値）が高かった（図 59）。

これらの結果から、乾燥ストレス環境下および塩ストレス環境下のコウライシバにおいて、ラメット間の水分の移動が乾燥ストレスや塩ストレスの緩和に極めて重要であると考

えられた。

土壌中の塩分濃度が高まると、浸透圧の関係により植物の根からの吸水が阻害されることが分かっている^{105) 92)}。この吸水阻害が植物体内の水分低下に影響し、乾燥ストレスも同時に引き起こすと言われている¹⁰⁵⁾。つまり、ラメット間の水の移動は、塩ストレス環境下のラメットにおいて、塩ストレスの緩和（植物体内の塩分を薄める）に影響すると同時に、乾燥ストレスの軽減にも寄与していると考えられた。

さらに、水道水を与えたラメット（無塩分環境下）から、塩分環境下のラメットに水が送られることで、塩分環境下のラメットは、根からの吸水量を減少させることが可能であったと考えられた。つまり、塩分環境下のラメットは、他のラメットから水分が送られることで、体内の塩分濃度を低下させると同時に、土壌からの塩分吸収量が少なくなることで、体内の塩分濃度が低下し（図 60、図 61）、その結果として塩ストレスが緩和されて乾燥重量の増加（図 59）に影響したのではないかと推察した。

一方、本研究の結果から、塩分を施用した *Intermediate* から、*Basal* や *Apical* の両方向へ塩分 (Na^+ , Cl^-) が移動していないことが明らかとなった（図 60、図 61）。既往研究も同様の結果を示しており、コウライシバやイネ科スパルティナ属の *Spartina patens* では、ラメット間において塩分の移動が行われないことが既に報告されている^{89) 26)}。

既に説明した通り、クローナル植物の生理的統合の研究において、生育に必要不可欠である、栄養塩、水分、光合成産物は、ラメット間で共有されている（1-1-5. クローナル植物の環境ストレス対応）。一方、本研究の結果では、ラメット間で水の移動は行われているが（図 29）、塩分の移動は行われていないことが明らかとなった（図 60、図 61）。

このことから、コウライシバは、生育に害を及ぼす塩分を他のラメットに移動させないようにして、塩分の拡散を防いでおり、一方、乾燥ストレスや塩ストレスを緩和させるために、ラメット間において水分を移動させていると考えられた。つまり、コウライシバは、それぞれのラメットの成育環境（土壌塩分濃度等）に応じて、ラメット間で移動させる物質を選択しており、このラメット間の選択的な物質の移動が、ラメット全体において塩ストレス等の環境ストレスの緩和に寄与しているのではないかと推察した。

本種は、本来沿岸に自生^{68) 85)}することから、波や潮風の影響を常に受けており、土壌塩分濃度や土壌水分量が常に変化している不均一な環境に生育してきたことは既に説明した。「ラメット間の水分の移動特性」（実験 B-1）では、ラメット間の水分の移動が確認され（図 29）、水分が送られたラメットの乾燥重量が増加する結果から（図 57）、ラメット間の水の移動が、乾燥ストレスの軽減にも寄与したと考察した。これらの結果から、沿岸部等の不均一な環境において、ラメット間の物質移動（特に水の移動）が、コウライシバの生存に有利に働くと考えられた。

クローナル植物のシロツメクサ (*Trifolium repens*) は細いストロンを伸ばして分布を広げるが、親ラメットは短命と言われており、子ラメットとのストロンの繋がりや物質の移

動（生理的統合）は長続きしない。つまり、シロツメクサにとって栄養繁殖は（ストロンの伸長やラメットの形成）主に分布の拡大のために行われていると言われている³²⁾。

一方、コウライシバはラメット間の匍匐茎の繋がりを長く保つクローナル植物と言われている⁴⁶⁾。これは、踏圧に耐える強靱な匍匐茎の構造⁶⁹⁾からも推察できる。このことから、コウライシバは、ラメット間の物質移動（特に水分の移動）を行うことで、塩ストレスや乾燥ストレス等の環境ストレスの緩和を行うことを生存戦略の一つとして、匍匐茎を伸ばし、新たなラメットを生育させていると考えられた。

クローナル植物の生理的統合は、不均一な環境において生存のために有利に働くと言われている^{75) 77)}。つまり、コウライシバは、土壤水分量や土壤塩分濃度が常に変化するような沿岸部（不均一な環境）において、ラメット間の匍匐茎や地下茎の繋がりを長期間維持して、ラメット間において主に水分を移動させること、即ち生理的統合によって、塩ストレスや乾燥ストレスに対応していると考えられた。

5-3. 生育環境における水の存在とコウライシバの塩ストレス対応

コウライシバの塩分排出特性として、葉身部に存在する塩類腺の数と塩分排出量の関係が示唆されている。つまり、塩類腺が多ければ多いほど、多くの塩分を排出することが可能であり、そのことが葉身部の塩ストレスの緩和に寄与していると考えられている^{10) 39)}。さらに、コウライシバは、塩類腺から塩分を多く排出する種であると言われている^{102) 10)}。

NaCl 溶液を用いた水耕栽培（12g/L NaCl）環境下で7日間処理を行った実験では、コウライシバの葉身部における Na⁺含有量は 7.6mg/g DW であったのに対して、Na⁺排出量は 16.8mg/g DW であり、Na⁺排出量は Na⁺含有量の約2倍の値であったことを報じている⁵⁴⁾。また、砂耕栽培環境下で5日間毎日 NaCl 溶液（35g/L NaCl）の施用を行った実験では、コウライシバの葉身部の Na⁺含有量は 3.9mg/g DW、Na⁺排出量は 8.5mg/g DW であったことから¹⁰²⁾、塩分環境下のコウライシバは、葉身部において塩分を蓄積するよりも、塩類腺から多くの塩分を排出することで、体内の塩ストレスを緩和していると考察されている。

一方、土壤表面に乾きが見られた時のみに NaCl 溶液を施用（35日間）した本研究の結果では、既往研究と比較して極めて低い Na⁺排出率であった（表7）。つまり、本研究の結果では、既往研究の結果^{54) 102)}と異なり、葉身部において、塩分排出量よりも、塩分含有量が高いことが明らかとなった。従って、本研究の結果からは、コウライシバは塩分を葉身部に多く蓄積する特徴を有すると考えられた。

なぜ、同じ種（コウライシバ）を対象とした実験であるにもかかわらず、Na⁺排出率について真逆の結果が示されたのであろうか。それは土壤環境（土壤水分量）が大きく関係していると考えられた。

塩類腺からの塩分排出特性は、植物の生育環境が大きく影響することが既に報告されている³⁶⁾。イネ科植物の塩分排出特性に関する研究では、気温や土壤環境の違いが、塩分排

出量に影響することを報告している^{22) 76)}。

また、塩類腺からの塩分の排出は水とともに排出されるため、塩分排出の際は水を消費する¹⁰⁸⁾。このことから、土壌水分量が低い場合（乾燥環境）、植物体内の水分量が低下して、塩類腺からの塩分排出量が低下すると考えられた。つまり、土壌水分量が塩類腺からの塩分排出量に影響すると推察された。

「塩類腺からの塩分排出特性」（実験 A-2）の結果より、土壌塩分濃度が、塩類腺数や塩類腺面積に影響を及ぼさないことから（図 24、図 25）、塩類腺からの塩分排出特性は、塩類腺数や塩類腺面積よりも土壌水分量が大きく影響すると考えられた。これは、塩類腺が多ければ多いほど、多くの塩分を排出することが可能であり、そのことが葉身部の塩ストレスを緩和しているという既往研究の報告^{10) 39)}とは異なる知見である。

以上の考察や、既往研究および本研究の結果（表 7）から、コウライシバは、土壌水分量が低い場合（乾燥環境）では、体内の水分を消費しないように塩類腺からの塩分の排出を抑え、葉身部に塩分を蓄積する特徴を有すると考えられた。また、逆に土壌水分量が豊富な場合（湿潤環境）であれば、塩分含有量よりも、塩分排出量を増加させることで、過剰な塩分を排出して塩ストレスを緩和していると考えられた。つまり、コウライシバは土壌水分量に応じて、塩分の蓄積量や排出量を柔軟に調整して塩ストレスに対応していると推察された。なぜコウライシバはこのような柔軟性を身に着けることが可能であったのであろうか。それは、コウライシバの本来の生育環境が影響していると考えられた。

コウライシバ、本来沿岸部に自生することからも^{68) 85)}耐塩性との関係性が示唆されている^{35) 7)}。植物の生育環境は常に不均一であり³¹⁾、季節や日照、降雨などの気象条件が常に変化している。この不均一な環境が植物の生育にとって不利な条件を作り出す場合が多いと言われている⁶⁹⁾。特に沿岸部においては、植物は波や潮風の影響を常に受けており、高潮や台風による海水の飛散、潮の満ち引きによる海水面の上昇などの影響により、常に土壌塩分濃度や土壌水分量に変化している。コウライシバはこのような土壌塩分濃度や土壌水分量の変化が激しい過酷な環境で、塩ストレスに対応して生き延びる生存戦略として塩分の蓄積量や排出量を柔軟に調整する特徴を身に着けたのではないかと推察した。

また、沿岸部等における自然環境では雨の存在がコウライシバの塩分排出特性に大きく影響すると考えられた。つまり、何日も雨が降らず土壌が乾燥している場合、土壌表面からは水分のみが蒸発して塩分が残ることから、土壌中の塩分濃度が高まる。このような場合は「5-1. コウライシバ体内の塩分の移動と塩ストレス対応」で既に述べた通り、地上部（健全葉や枯死葉）に塩分を蓄積することで地下部（匍匐茎部、根系部）の塩分濃度を低下させ、塩ストレスを軽減させているが、雨が降り土壌中の塩分濃度が低下して湿潤になると、塩類腺からの塩分排出量を増加させることで、葉身部の塩ストレスを緩和させていると推察された。

芝草の健全な生育にとって最も重要な要素は、水である。水は芝草体内の 90%を占め、

細胞の膨張の維持、細胞内における代謝、体内における栄養分や光合成産物の移動、光合成などに極めて重要であり、不足すれば生育に影響を及ぼし、時には枯死を引き起こす¹⁾⁶⁹⁾。また、全てのイオンは、植物体内の水により運ばれる。垂直方向（根から葉身部）のイオンの移動は、蒸散流を駆動力として行われる。つまり葉に存在する気孔から水が蒸散する際に、導管内の水が引き上げられる力（-28 気圧にも達する）を利用して行われる⁷⁹⁾⁴⁷⁾。芝草もこの蒸散流により吸水とイオンの移動を可能にしている⁶⁹⁾。つまり、水はコウライシバの体内の物質移動のためにも重要な物質であると言える。

既に述べた通り、塩類腺からの塩分の排出特性は、土壌水分量が深く関係しており、土壌水分量が低い場合（乾燥環境）は葉身部への塩分（Na⁺、Cl⁻）含有量が高くなり、逆に土壌水分量が高い場合（湿潤環境）は、塩類腺からの塩分排出量が増加すると考察した（表 7）。また、「ラメット間の塩分の移動特性」（実験 B-2）の結果から、水道水のみを与えたラメットから、塩分環境下のラメットへ匍匐茎を介して水分が送られることで、塩分環境下のラメットの体内塩分（Na⁺、Cl⁻）含有量の低下（図 60、図 61）や成長量の増加（図 59）が確認された。

つまり、塩分環境下のコウライシバにおいて、土壌中の水分は、芝草の健全な生育にとって最も重要な要素であるとともに、塩類腺からの塩分排出や、ラメット間の水分の移動（体内塩分濃度の低下）などのコウライシバの塩ストレス対応に必要な極めて重要な要素であると考えられた。

5-4. 本研究のまとめ

本研究では、コウライシバの「垂直方向の塩分の移動」（実験 A）および「水平方向の水分と塩分の移動」（実験 B）の 2 項目の実験を行い、本種の垂直方向（根系部から葉身部）と、水平方向（ラメット間）の水や塩分の移動特性を把握することで、体内の物質移動特性の視点から本種の塩ストレス対応の一端を明らかにすることを目的とした。

本研究のまとめとして、これまで得られた結果や考察を振り返り、コウライシバの体内の物質移動特性と塩ストレス対応について簡潔に説明する。また、本研究の目的から総合考察までをまとめたフローを図 66 に示す。

長期間の塩ストレスに対する反応（実験 A-1）

① 191 日間にわたる 4 段階の濃度の NaCl 溶液施用環境下における、コウライシバの全乾燥重量（葉身部、匍匐茎部、根系部の合計値）は、4 段階のすべての塩分濃度間で有意な差は見られなかった（図 50）。このことから、コウライシバは長期間にわたる塩ストレス環境下でも生育を維持することが可能であり、さらに、海水と同程度の塩分濃度環境下においても、地下部の匍匐茎部や根系部を健全な状態に保ち、完全に枯死することはなく生存が可能であると考えられた。

② 葉身部の Na^+ 、 Cl^- 含有量は、匍匐茎部と比較して約 5 倍、根系部と比較して約 4 倍の値であり、匍匐茎部や根系部と比較して、葉身部で有意に高かった (図 17)。この結果から、コウライシバは塩分環境下において、主に葉身部に塩分を転流、蓄積することにより、生存のために不可欠である匍匐茎部や根系部の塩ストレスの緩和を行っていると考えられた。

塩類腺からの塩分排出特性 (実験 A-2)

③ 4 段階の NaCl 溶液の濃度間の比較では、葉身部の向軸面および背軸面の塩類腺数、塩類腺面積にほとんど違いが見られず、有意な差が無かった (図 24、図 25)。この結果から、土壌の塩分濃度の違いは、葉身部の向軸面、背軸面ともに、塩類腺数や塩類腺面積に影響しないことが明らかとなった。

④ 土壌に乾きが見られた時のみに NaCl 溶液の施用を行った本研究の結果では、水耕栽培等の高湿潤環境下で実験を行った既往研究と比較して、極めて低い Na^+ 排出率であった (葉身部の Na^+ 含有量が、 Na^+ 排出量より高い) (表 7)。これらのことから、コウライシバは土壌水分量が低い場合 (乾燥環境) では、体内の水分を消費しないように葉身部の塩類腺からの塩分の排出量を抑え、葉身部に蓄積する特徴を有すると考えられた。また、逆に土壌水分量が豊富な場合 (湿潤環境) であれば、塩分の蓄積量よりも、排出量を増加させることで、過剰な塩分を排出して塩ストレスを緩和していると考えられた。

ラメット間の水分の移動特性 (実験 B-1)

⑤ 植物体内の含水率は、地上部 (健全葉、枯死葉) の Apical (水分制限環境下) において、Sever より Intact で有意に高く約 3 倍高い値であった。また、匍匐茎部では Apical において Sever より Intact で有意に高く約 2 倍高い値であった。Basal (水分制限環境下) では、有意差は見られなかったが、地上部、地下部ともに、Sever より Intact で高い含水率であった (図 29)。これらの結果から、Intermediate (湿潤環境下) のラメットから Basal、Apical の両方向に匍匐茎を介して水分の移動が行われたことが明らかとなった。また、水分は主に Apical 方向に移動すると考えられた。

ラメット間の塩分の移動特性 (実験 B-2)

⑥ 全 Na^+ 含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合算値) および全 Cl^- 含有量は、Basal、Apical ともに、Sever と Intact の比較において、有意差が見られなかった (図 60、図 61)。この結果から、 NaCl 溶液を施用した Intermediate から匍匐茎を介して、Basal や Apical へ塩分が移動しないことが明らかとなった。また、コウライシバは成育に影響する塩分をラメット間で拡散しないようにしていると考えられた。

⑦ 全 Na^+ 含有量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) および全 Cl^- 含有量は、

塩分を施用した Intermediate (SNTS を含む) において、Sever より Intact で低い値であった (図 60、図 61)。また、全乾燥重量 (健全葉、枯死葉、匍匐茎部、根系部の合計値) は、Sever と比べて Intact で高く、Intermediate で 1.3 倍、SNTS で 1.5 倍高かった (図 59)。これらの結果から、水道水を与えた Basal から、NaCl 溶液を与えた Intermediate へ匍匐茎を介して水分が送られることで、Intermediate (SNTS を含む) の体内の塩分濃度を低下させて、塩ストレスを緩和していると考えられた。

⑧ Na^+ 、 Cl^- 含有量は、Intermediate、SNTS において健全葉より枯死葉で高く、Sever、Intact とともに、健全葉の 2~3 倍高い塩分 (Na^+ 、 Cl^-) 含有量であった (図 60、図 61)。この結果から、コウライシバは主に枯死葉に塩分を蓄積させて、最終的に脱落させることで、塩分を個体から切り離して、塩ストレスに対応していると考えられた。

⑨ 塩分施用を行った Intermediate から伸長した SNTS の匍匐茎の Na^+ 含有量は、Control 区 (全てのラメットに水道水を施用) と比べて有意に高い傾向であった (図 62、図 63)。この結果から、まだ土壤に接地しておらず、発根をしていない SNTS は、Intermediate の一部として扱われ、全ての物質 (水やイオン) が Intermediate から移動して共有されることが考えられた。さらに、塩分を施用した Intermediate から、Basal や Apical の両方向に塩分 (Na^+ 、 Cl^-) が移動していない結果から (図 60、図 61)、SNTS がラメットとして成育した段階において、Intermediate からの塩分の移動は行われなくなると推察された。

以上より、塩分環境下のコウライシバは、土壤から吸収した塩分を他のラメットに移動させず (⑥)、主に垂直方向 (葉身部) に移動、蓄積 (②、⑧) させることで、他のラメットや、地下部 (匍匐茎部、根系部) に塩ストレスの影響を与えないようにしており、塩分が蓄積した枯死葉を最終的に脱落させることで塩分の切り離しを行っていると考えられた (⑧)。このような垂直方向への塩分の移動特性が、長期間の塩分環境下における生存を可能にしていると考えられた (①)。

また、Intermediate から SNTS へ塩分が移動していることから、まだ土壤に接地しておらず、発根をしていない匍匐茎である SNTS は、Intermediate (SNTS の親ラメット) の一部として扱われ、全ての物質 (水やイオン) が移動して共有されることが考えられた (⑨)。

コウライシバはラメット間で水分を移動させており (⑤)、無塩分環境下 (本研究では水道水を施用) のラメットから、塩分環境下のラメットに匍匐茎を介して水分を送ることで、塩分環境下のラメットの塩ストレスを緩和していると考えられた (⑦)。

土壤の水分が、塩類腺からの塩分排出量 (③、④) やラメット間の水分の移動 (⑤) に関係することから、土壤中の水分の存在は、コウライシバの体内の塩分の排出や、ラメット体内の塩分濃度の低下 (⑦) などの塩ストレス対応に極めて重要な要素であると考えられた。

本研究の成果は、リサイクル水等の塩分が含まれる水を利用する緑地やゴルフ場へのコウライシバの利用や持続的な管理のために極めて重要であると考えられた。また、得られた垂直方向および水平方向の水分や塩分の移動特性の知見は、本種の耐塩性種の育種や品種改良^{57) 67)}、植物の耐塩性メカニズムの解明、クローナル植物の環境ストレス対応に関する研究の発展などにも応用ができる、重要かつ有益な研究であると考えられた。

さらに、本研究で明らかにしたコウライシバの塩ストレス対応に関する知見は、塩類集積が問題となっている乾燥地や半乾燥地の緑化^{103) 42)}や、コウライシバによる塩分の吸収と塩類集積緩和³³⁾、塩ストレスに常に晒されている沿岸地域や津波、高潮等の被害が予想される地域の緑化¹⁰⁴⁾などにも応用が可能であると考えられた。



図 66 本研究のまとめ（フロー）

参考・引用文献

本論文で参考・引用した研究論文や書籍の文献リストを以下に示す（日本語の文献、英語の文献ともにアルファベット順で示す）。

- 1) A・J・タージョン (2009): ターフグラスマネジメント 8thエディション. ゴルフダイジェスト社
- 2) Adonsou K. E., DesRochers A., Tremblay F. (2016): Physiological Integration of Connected Balsam Poplar Ramets. *Tree Physiology* 36 (7), 797–806
- 3) 赤嶺光 (2007): 暖地型シバ型草地と景観保持. 日本草地学会九州支部会報 37 (1), 15–17
- 4) 赤嶺光, 石嶺行男, 栗原伸悦, 重川弘宣, 一前宣正, 倉持仁志 (2002): 塩処理が *Zoysia Tenuifolia* の生育, Na, K及びアミノ酸含有量におよぼす影響. 芝草研究 31 (1), 2–6
- 5) Alpert P., Warembourg F. R., Roy J. (1991): Transport of Carbon Among Connected Ramets of *Eichhornia Crassipes* (Pontederiaceae) at Normal and High Levels of CO₂. *American Journal of Botany* 78 (11), 1459–1466
- 6) 浅野義人, 加藤正広 (2016): 芝生 NHK趣味の園芸 よくわかる栽培12か月. *NHK出版*
- 7) 浅野義人, 浪久裕子 (1999): 塩水処理に対する日本芝 (*Zoysia* Spp.) の生長反応. 芝草研究 28 (1), 42–44
- 8) Atkinson C. J., Else M. A. (2012): Hydraulic Conductivity and PAT Determine Hierarchical Resource Partitioning and Ramet Development along *Fragaria* Stolons. *Journal of Experimental Botany* 63 (14), 5093–5104
- 9) Barhoumi Z., Djebali W., Smaoui A., Chaïbi W., Abdelly C. (2007): Contribution of NaCl Excretion to Salt Resistance of *Aeluropus Littoralis* (Willd) Parl. *Journal of Plant Physiology* 164 (7), 842–850
- 10) Chen J., Yan J., Qian Y., Jiang Y., Zhang T., Guo H., Guo A., Liu J. (2009): Growth Responses and Ion Regulation of Four Warm Season Turfgrasses to Long-Term Salinity Stress. *Scientia Horticulturae* 122 (4), 620–625
- 11) Chen Y., Li L., Zong J., Chen J., Guo H., Guo A., Liu J. (2015): Heterologous Expression of the Halophyte *Zoysia Matrella* H⁺-Pyrophosphatase Gene Improved Salt Tolerance in *Arabidopsis Thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry* 91, 49–55
- 12) de Kroon H., Franssen B., van Rheenen J. W. A., van Dijk A., Kreulen R. (1996): High Levels of Inter-Ramet Water Translocation in Two Rhizomatous *Carex* Species, as Quantified by Deuterium Labelling. *Oecologia* 106 (1), 73–84
- 13) de Kroon H., van der Zalm E., van Rheenen J. W. A., van Dijk A., Kreulen R. (1998): The Interaction between Water and Nitrogen Translocation in a Rhizomatous Sedge (*Carex Flacca*). *Oecologia* 116 (1–2), 38–49

- 14) 土壤養分測定法委員会 編 (2011): 肥沃土測定のための 土壤養分分析法. 養賢堂
- 15) 土壤標準分析測定委員会 編 (1987): 土壤標準分析・測定法. 博友社
- 16) Du Y., Hei Q., Liu Y., Zhang H., Xu K., Xia T. (2010): Isolation and Characterization of a Putative Vacuolar Na⁺/H⁺ Antiporter Gene from *Zoysia Japonica* L. *Journal of Plant Biology* 53 (4), 251–258
- 17) Evans J. P. (1991): The Effect of Resource Integration on Fitness Related Traits in a Clonal Dune Perennial, *Hydrocotyle Bonariensis*. *Oecologia* 86 (2), 268–275
- 18) Evans J. P., Whitney S. (1992): Clonal Integration Across a Salt Gradient by a Nonhalophyte, *Hydrocotyle Bonariensis* (Apiaceae). *American Journal of Botany* 79 (12), 1344–1347
- 19) 藤原俊六郎, 安西徹郎, 加藤哲郎 (2003): 土壤診断の方法と活用 作物栄養診断・水質診断. 社団法人農山漁村文化協会
- 20) 福岡孝則, 加藤禎久 (2015): ポートランド市のグリーンインフラ適用策事例から学ぶ日本での適用策整備に向けた課題. *ランドスケープ研究* 78 (5), 777–782
- 21) Fukushima E., Arata Y., Endo T., Sonnewald U., Sato F. (2001): Improved Salt Tolerance of Transgenic Tobacco Expressing Apoplastic Yeast-Derived Invertase. *Plant and Cell Physiology* 42 (2), 245–249
- 22) GORHAM J. (1987): Photosynthesis, Transpiration and Salt Fluxes through Leaves of *Leptochloa Fusca* L. Kunth. *Plant, Cell & Environment* 10 (2), 191–196
- 23) HAMILTON E. W., MCNAUGHTON S. J., COLEMAN J. S. (2001): MOLECULAR, PHYSIOLOGICAL, AND GROWTH RESPONSES TO SODIUM STRESS IN C₄ GRASSES FROM A SOIL SALINITY GRADIENT IN THE SERENGETI ECOSYSTEM. *American Journal of Botany* 88 (7), 1258–1265
- 24) 花山奨, 中野政詩 (1996): Na⁺ を中心にした根のイオン吸収・移動機構について. *土壤の物理性* 73, 45–52
- 25) Hansen D. J., Dayanandan P., Kaufman P. B., Brotherson J. D. (1976): Ecological Adaptations of Salt Marsh Grass, *Distichlis Spicata* (Gramineae), and Environmental Factors Affecting Its Growth and Distribution. *American Journal of Botany* 63 (5), 635–650
- 26) Hester M. W., McKee K. L., Burdick D. M., Koch M. S., Flynn K. M., Patterson S., Mendelssohn I. A. (1994): Clonal Integration in *Spartina Patens* across a Nitrogen and Salinity Gradient. *Canadian Journal of Botany* 72 (6), 767–770
- 27) 平沢正 (2008): 作物の耐塩性の機構. *日本海水学会誌* 62 (4), 202–206
- 28) 細谷夏実, 斎藤弥夕 (2016): 植物の気孔観察に用いられる複数のレプリカ法の比較検討. *大妻女子大学紀要. 社会情報系, 社会情報学研究* 25, 61–70
- 29) Ikegami M., Van Hal S., Van Rheenen J. W. A., Whigham D. F., Werger M. J. A. (2008): Spatial Division of Labour of *Schoenoplectus Americanus*. *Plant Ecology* 199 (1), 55–64

- 30) Imada S., Yamanaka N., Tamai S. (2009): Effects of Salinity on the Growth, Na Partitioning, and Na Dynamics of a Salt-Tolerant Tree, *Populus Alba* L. *Journal of Arid Environments* 73 (3), 245–251
- 31) Jaafry W. H., Li D., Fatima S. A., Hassan M. (2016): Role of Clonal Integration among Different Environmental Conditions (A Review). *Natural Science* 8 (11), 475–486
- 32) ジョナサン・シルバータウン (2001): 植物の個体群生態学 第2版. 東海大学出版会
- 33) 加藤茂 (1994): 塩生植生の生理生態. 日本海水学会誌 48 (5), 378–386
- 34) 木下剛, 芮京祿 (2017): イングランドにおける洪水リスクの緩和に資するグリーンインフラの実施例とその特徴. ランドスケープ研究 80 (5), 695–700
- 35) 北村文雄 (1969): 芝生用植物の耐塩性に関する研究 (第4報) 日本芝 (シバ類) の耐塩性について. 造園雑誌 33 (4), 28–33
- 36) Kobayashi H. (2008): Ion Secretion via Salt Glands in Poaceae. *Japanese Journal of Plant Science* 2 (1), 1–8
- 37) Kobayashi H., Masaoka Y., Takahashi Y., Ide Y., Sato S. (2007): Ability of Salt Glands in Rhodes Grass (*Chloris Gayana* Kunth) to Secrete Na⁺ and K⁺. *Soil Science and Plant Nutrition* 53 (6), 764–771
- 38) 小林英和, 正岡淑邦, 高橋佳孝, 井出保行, 佐藤節郎 (2007): ローズグラス塩類腺のアニオン排出特性. 第223回日本作物学会講演会 日本作物学会講演会要旨集 200–201
- 39) Kole C. (edited) (2011): Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Millets and Grasses. *Springer*
- 40) 近藤始彦 (2015): 除塩対策に関する基礎情報2 作物の塩害生理と栽培管理. 日本土壤肥料学雑誌 86 (5), 387–392
- 41) Koyro H., Huchzermeyer B. (2004): Ecophysiological Needs of the Potential Biomass Crop *Spartina Townsendii* Grov. *Tropical Ecology* 45 (1), 123–139
- 42) Koyro H., Lieth H., Gul B., Ansari R., Huchzermeyer B., Abideen Z., Hussain T., Khan M. A. (2014): Importance of the Diversity in Between Halophytes to Agriculture and Land Management in Arid and Semiarid Countries. *Sabkha Ecosystems* 4, 175–198
- 43) 熊沢喜久雄 (1981): 植物生理学5 水とイオン 生活の場と生理反応の制御. 朝倉書店
- 44) Lechuga-Lago Y., Sixto-Ruiz M., Roiloa S. R., González L. (2016): Clonal Integration Facilitates the Colonization of Drought Environments by Plant Invaders. *AoB PLANTS* 8, 1–11
- 45) Lee D. J., Hwang C. H. (2003): Proline Accumulation and P5CS (Δ^1 -Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase) Gene Expression in Response to Salt Stress in Zoysiagrasses. *Korean journal of crop science* 48 (1), 20–24
- 46) Li D., Takahashi S. (2003): Particularities of Clonal Plant Species Induced by Physiological Integration. *Grassland Science* 49 (4), 395–402

- 47) リンカーン・テイツ, エドゥアルド・ザイガー, イアン・M・モラー, アンガス・マ
ーフィー (2017): テイツ/ザイガー 植物生理学・発生学 原著第6版. 講談社
- 48) Liu C., Liu Y., Guo K., Fan D., Yu L., Yang R. (2011): Exploitation of Patchy Soil Water
Resources by the Clonal Vine *Ficus Tikoua* in Karst Habitats of Southwestern China. *Acta
Physiologiae Plantarum* 33 (1), 93–102
- 49) Liu F., Liu J., Dong M. (2016): Ecological Consequences of Clonal Integration in Plants.
Frontiers in Plant Science 7, 1–11
- 50) Lotscher M., Hay M. J. M. (1997): Genotypic Differences in Physiological Integration,
Morphological Plasticity and Utilization of Phosphorus Induced by Variation in Phosphate
Supply in *Trifolium Repens*. *Journal of Ecology* 85 (3), 341–350
- 51) Luo W., Zhao W., Zeng F., Liu B. (2015): Water but Not Photosynthates Integration Exists
between Mother and Daughter Ramets of a Root-Derived Clonal Shrub. *Plant Ecol* 216 (2),
331–342
- 52) 前田良之 (2012): 植物の耐塩性機構と植物を利用した土壌塩類の除去. 日本海水学会誌
66 (2), 92–98
- 53) Marcum K. B. (2006): Use of Saline and Non-Potable Water in the Turfgrass Industry:
Constraints and Developments. *Agricultural Water Management* 80 (1-3 SPEC. ISS.), 132–146
- 54) Marcum K. B., Murdoch C. L. (1990): Salt Glands in the Zoysiaceae. *Annals of Botany* 66 (1), 1–
7
- 55) Marcum K. B., Pessarakli M. (2006): Salinity Tolerance and Salt Gland Excretion Efficiency
of Bermudagrass Turf Cultivars. *Crop Science* 46 (6), 2571–2574
- 56) Marcum K. B., Wess G., Ray D. T., Engelke M. C. (2003): Zoysiagrasses, Salt Glands, and
Salt Tolerance. *USGA Turfgrass and Environmental Research Online* 2 (14), 1–8
- 57) Marcum K. B., Wess G., Ray D. T., Engelke M. C. (2003): Zoysiagrass, Salt Glands, and Salt
Tolerance: Observing the Density of Salt Glands May Make Selecting for Salt-Tolerant
Grasses a Lot Easier. *USGA Green Section Record* 41 (6), 20–21
- 58) Marcum K. B., Anderson S. J., Engelke M. C. (1998): Salt Gland Ion Secretion: A Salinity
Tolerance Mechanism among Five Zoysiagrass Species. *Crop Science* 38 (3), 806–810
- 59) Marcum K. B., Murdoch C. L. (1994): Salinity Tolerance Mechanisms of Six C4 Turfgrasses.
Journal of the American Society for Horticultural Science 119 (4), 779–784
- 60) 増田昇 (2003): 都市防災と公園配置及び機能. ランドスケープ研究 66 (3), 180–184
- 61) マイカ・ウッズ (2017): 芝草科学とグリーンキーピング マイカの時間 The BOOK. ゴ
ルフダイジェスト社
- 62) 三村徹郎, 鶴見誠二 編 (2015): 基礎生物学テキストシリーズ7 植物生理学. 化学同人
- 63) 三澤彰 (1981): 緑地帯の大気浄化機能に関する研究 -特に自動車走行に伴う粉塵の葉面

- 吸着量について-. 造園雑誌 44 (4), 191–202
- 64) Miyama M., Tada Y. (2011): Expression of *Bruguiera Gymnorhiza BgARPI* Enhances Salt Tolerance in Transgenic *Arabidopsis* Plants. *Euphytica* 177 (3), 383–392
- 65) 水野丈夫, 浅島誠 編 (2008): 理解しやすい生物I・II (改訂版) . 文英堂
- 66) Munns R. (2002): Comparative Physiology of Salt and Water Stress. *Plant, Cell and Environment* 25 (2), 239–250
- 67) 村田達郎 (2010): 未利用遺伝資源を利用した耐塩性日本シバの作出. 科学研究費補助金研究成果報告書 基盤研究 (C) (no.19580007)
- 68) 長沼和夫 (2012): シバ (*Zoysia Japonica* Steud.) . 草と緑 4, 31–34
- 69) 中村直彦 編 (1993): ノシバ, コウライシバ~その特性とコースにおける管理~. ソフトサイエンス社
- 70) ニールノーブル (1996): 太平洋地域における芝草の利用と管理の動向 環太平洋地域における芝草の研究と利用(2). 芝草研究 25 (1), 32–36
- 71) 日本芝草学会 編 (2001): 最新 芝生・芝草調査法. ソフトサイエンス社
- 72) 日本芝草学会 編 (1988): 新訂 芝生と緑化. ソフトサイエンス社
- 73) 農山漁村文化協会 編 (2009): 土壌診断・生育診断大辞典 簡易診断からリアルタイム診断, 生理障害, 品質の診断まで. 農山漁村文化協会
- 74) Oi T., Hirunagi K., Taniguchi M., Miyake H. (2013): Salt Excretion from the Salt Glands in Rhodes Grass (*Chloris Gayana* Kunth) as Evidenced by Low-Vacuum Scanning Electron Microscopy. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 208 (1), 52–57
- 75) 岡浩平 (2013): クローナル植物に学ぶ人生術. 生物工学会誌 91 (5), 256
- 76) Rozema J., Buys E., Otte M. L., Broekman R. A., Ernst W. H. O. (1991): Ion Content and Ion Excretion of *Spartina Anglica* in Relation to Salinity and Redox Potential of Salt Marsh Soil. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 154 (4), 307–313
- 77) 齋藤智之, 清和研二 (2007): クローナル植物の生理的統合 チマキザサの資源獲得戦略. 日本生態学会誌 57 (2), 229–237
- 78) Saitoh T., Seiwa K., Nishiwaki A. (2002): Importance of Physiological Integration of Dwarf Bamboo to Persistence in Forest Understorey: A Field Experiment. *Journal of Ecology* 90 (1), 78–85
- 79) 桜井直樹 (1996): 植物には血管があるか 生長・代謝・防御の場 “アポプラスト.” 化学と生物 34 (1), 24–33
- 80) Salzman A. G., Parker M. A. (1985): Neighbors Ameliorate Local Salinity Stress for a Rhizomatous Plant in a Heterogeneous Environment. *Oecologia* 65 (2), 273–277
- 81) 佐藤節郎 (1995): 寒地型および暖地型芝草の生理・生態的特性. 芝草研究 23 (2), 145–157

- 82) Sevostianova E., Leinauer B., Sallenave R., Karcher D., Maier B. (2011): Soil Salinity and Quality of Sprinkler and Drip Irrigated Warm-Season Turfgrasses. *Agronomy Journal* 103 (6), 1773–1784
- 83) 志水勝好 (2016): 塩分ストレス耐性の強い植物の生理機構とその利用. *沙漠研究* 25 (4), 305–308
- 84) 白田和人, 高岸秀次郎, 市橋隆寿 (1989): ソナレシバ *Sporobolus Virginicus* (L.) Kunthの耐塩性とその塩回避機能. *日本土壤肥料学雑誌* 60 (3), 220–225
- 85) 庄司舜一 (1983): 芝草の種生態—特にシバを中心にして. *芝草研究* 12 (2), 105–110
- 86) Shumway S. W. (1995): Physiological Integration among Clonal Ramets during Invasion of Disturbance Patches in a New England Salt Marsh. *Annals of Botany* 76 (3), 225–233
- 87) Slade A. J., Hutchings M. J. (1987): An Analysis of the Costs and Benefits of Physiological Integration between Ramets in the Clonal Perennial Herb *Glechoma Hederacea*. *Oecologia* 73 (3), 425–431
- 88) Sladek B. S., Henry G. M., Auld D. L. (2009): Evaluation of Zoysiagrass Genotypes for Shade Tolerance. *HortScience* 44 (5), 1447–1451
- 89) Sugiura S., Tanaka S., Mizuniwa C., Takahashi S. (2017): Sodium Chloride Transport in the Stolons of *Zoysia Matrella* in a Heterogeneous Saline Environment. *International Turfgrass Society Research Journal* 13 (1), 610–613
- 90) Sun X., Niu J., Xu Y., Zhou H. (2010): Long Term Water Integration in Interconnected Ramets of Stoloniferous Grass, Buffalograss. *African Journal of Biotechnology* 9 (34), 5503–5510
- 91) 鈴木準一郎 (2017): モジュール性からみたクローン性 : クローナル植物とクローン性を示す他の生物群の比較. *日本生態学会誌* 67 (2), 181–187
- 92) 但野利秋 (1983): 作物の耐塩性とその機構. *化学と生物* 21 (7), 439–445
- 93) 高橋英一 (1997): 生命にとって塩とは何か-土と食の塩過剰-. 社団法人農山漁村文化協会
- 94) 都市環境学教材編集委員会 編 (2016): 都市環境学(第2版). 森北出版
- 95) Uddin M. K., Juraimi A. S., Ismail M. R., Hossain M. A., Othman R., Rahim A. A. (2012): Physiological and Growth Responses of Six Turfgrass Species Relative to Salinity Tolerance. *The Scientific World Journal* 2012, 1–10
- 96) Uddin M. K., Juraimi A. S., Ismail M. R., Hossain M. A., Othman R., Rahim A. A. (2011): Effect of Salinity Stress on Nutrient Uptake and Chlorophyll Content of Tropical Turfgrass Species. *Australian Journal of Crop Science* 5 (6), 620–629
- 97) Uddin M. K., Juraimi A. S., Ismail M. R., Othman R., Rahim A. A. (2009): Growth Response of Eight Tropical Turfgrass Species to Salinity. *African Journal of Biotechnology* 8 (21), 5799–5806

- 98) Wang L., Li W., Yang H., Wu W., Ma L., Tao H., Xiaomin W. (2016): PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES OF A MEDICINAL HALOPHYTE *LIMONIUM BICOLOR* (BAG.) KUNTZE TO SALT-STRESS. *Pakistan Journal of Botany* 48 (4), 1371–1377
- 99) Weng J., Chen Y. (2007): The Physiological Responses of *Zoysia* Clones to NaCl Stress. *Crop, Environment & Bioinformatics* 4, 259–268
- 100) Xing Y., Wei G., Luo F., Li C., Dong B., Ji J., Yu F. (2019): Effects of Salinity and Clonal Integration on the Amphibious Plant *Paspalum Paspaloides*: Growth, Photosynthesis and Tissue Ion Regulation. *Plant Ecology* 12 (1), 45–55
- 101) 山口智治, 安部征雄, 杉本和彦, 横田誠司 (1995): 経年利用によるハウス土壌の物理化学的劣化とその対策 PH, ECおよび溶存イオン含量の変化について. *農業施設* 26 (3), 161–169
- 102) Yamamoto A., Hashiguchi M., Akune R., Masumoto T., Muguera M., Saeki Y., Akashi R. (2016): The Relationship between Salt Gland Density and Sodium Accumulation/Secretion in a Wide Selection from Three *Zoysia* Species. *Australian Journal of Botany* 64 (4), 277–284
- 103) 屋裯下亮 (1998): 耐塩性芝草の育種とその展開-沙漠緑化の可能性-. 芝草研究大会誌 27, 29–37
- 104) 屋裯下亮 (2011): 津波による浸水を受けた農地の除塩対策に関する検討. 大成建設技術センター報 44, 1–4
- 105) 吉川賢, 山中典和, 吉崎真司, 三木直子 編 (2011): 風に追われ水が蝕む中国の大地-緑の再生に向けた取り組み-. 学報社
- 106) You W., Han C., Liu C., Yu D. (2016): Effects of Clonal Integration on the Invasive Clonal Plant *Alternanthera Philoxeroides* under Heterogeneous and Homogeneous Water Availability. *Scientific Reports* 6, 1–8
- 107) Yu F., Chen Y., Dong M. (2002): Clonal Integration Enhances Survival and Performance of *Potentilla Anserina*, Suffering from Partial Sand Burial on Ordos Plateau, China. *Evolutionary Ecology* 15 (4–6), 303–318
- 108) Yuan F., Leng B., Wang B. (2016): Progress in Studying Salt Secretion from the Salt Glands in Recretahalophytes: How Do Plants Secrete Salt? *Frontiers in Plant Science* 7, 1–12
- 109) Zhang Y., Zhang Q., Sammul M. (2012): Physiological Integration Ameliorates Negative Effects of Drought Stress in the Clonal Herb *Fragaria Orientalis*. *PLoS ONE* 7 (9), 1–8

Summary

Substance Transport Characteristics and Salt Tolerance Mechanism of *Zoysia matrella* Merr.

SUGIURA Souichirou

Introduction

Water is a valuable resource, especially in areas with low precipitation. Drought or water overuse in cities means shortage of water is becoming a problem, and using portable water in landscaped areas and green space is becoming difficult. To solve these problems, saline water can be used for irrigation. Therefore, salt tolerant grass is needed in order to maintain good conditions in high salinity irrigation environments. *Zoysia matrella* Merr. is a highly salt tolerant grass species and popular for use on golf courses or in other green spaces, and it was also considered important greening plants for places with high concentrations of salinity in soil.

It is known that salt tolerant species have mechanisms for avoiding salt stress such as salt excretion from the salt glands on the leaf or salt compartments in the vacuoles. Furthermore, it has been reported that in clonal plants in high salt stress environments, water or salt transport occurs between ramets using stolons and rhizomes for mitigating salt stress. From these reports, the author thought that substance transport such as of salt or water in the body or between ramets could be important for the salt tolerance mechanism of *Zoysia matrella*.

In this study, to clarify vertical salt transport, NaCl treatment of *Zoysia matrella* was conducted and Na⁺, Cl⁻ content in each body (leaves, rhizomes, roots) or Na⁺, Cl⁻ excretion amount from leaves was measured (experiment A). Furthermore, to clarify horizontal water and salt transport, water limited treatment and NaCl solution treatment was conducted for a part of interconnected *Zoysia* ramets and Na⁺, Cl⁻ content or water content in the body was measured (experiment B).

Material and methods

In the vertical salt transport experiment, four different concentrations of NaCl solution (0g/L (control), 7.5g/L, 15g/L, 30g/L) were treated to well-developed *Zoysia matrella* in experiment pots (1/5000a) for 191 days. Subsequently, Na⁺, Cl⁻ content and growth increment in each part of the plant body (leaves, rhizomes, roots) were measured (experiment A-1).

In the second vertical salt transport experiment, NaCl solution at four different concentrations (0g/L (control), 7.5g/L, 15g/L, 30g/L) was used to treat well developed *Zoysia matrella* in experiment pots for 35 days at moderate treatment intervals. Turf quality, Na⁺, Cl⁻ content in the leaf, Na⁺, Cl⁻

excretion amount and excretion ratio from the salt glands, salt gland density, and salt gland size on the leaf were measured (experiment A-2).

In the horizontal water and salt transport experiment, for the *Zoysia matrella* planted in the first experimental pot, the primary stolon (including rhizomes) of the basal ramet was allowed to grow over to a second pot, where the intermediate ramet developed roots and shoots and remained connected to the basal ramet. Similarly, a third pot contained growing apical ramets with stolons connecting them to the intermediate ramet. A stolon from the intermediate ramet was grown such that it did not touch the soil (stolons not touching the soil, SNTS). After each ramet had grown well, for clarifying substance transport between ramets, two experimental conditions were arranged (sever and intact).

In the sever condition, stolons connected with each ramet were cut to halt any substance transport. And in the intact condition, stolons connected with each ramet were allowed to remain to allow substance transport.

To clarify water transport between ramets, tap water was added to intermediate ramets (300ml at a time), at the same time, and limited water treatment (less than 50ml at a time) was conducted on the basal and apical ramets (experiment B-1). And to clarify salt transport between ramets, intermediate ramets were treated with NaCl solution (15g/L), at the same time, and tap water was added to the basal and apical ramets (experiment B-2). After treatment for 49 days, Na⁺, Cl⁻ content, moisture content, and biomass were measured in each ramet [and in each part of body (green leaves, brown leaves, rhizomes, roots)] in both experiment B-1 and B-2. Furthermore, the control plots were arranged [tap water was added to the all ramets (apical, intermediate, basal) for 49 days].

Results and discussion

Vertical salt transport (experiment A-1)

① Comparing total biomass (leaves, rhizomes, roots) of *Zoysia matrella* treated with the four different concentrations of NaCl solution, there were no significant differences, and it is thought that *Zoysia matrella* can grow and survive in a high-concentration saline water irrigated environment for a long time.

② In leaves, Na⁺, Cl⁻ content was 4~5 times higher than in the rhizomes and roots. From the results, it was guessed that *Zoysia matrella* in a saline environment could accumulate Na⁺, Cl⁻ in leaves so that the plant can avoid salt stress in the rhizomes and roots after taking up salt from the ground.

Vertical salt transport (experiment A-2)

③ Comparing salt gland density and the size of *Zoysia matrella* treated with the four different concentrations of NaCl solution, there were no significant differences, so that it is thought that the concentration of saline in soil did not affect either salt gland density or the size of *Zoysia* leaves.

④ In the present study, Na^+ , Cl^- excretion amount was lower than the Na^+ , Cl^- content in the leaves, and Na^+ , Cl^- excretion ratio was considerably lower than in previous experiments (In the present study, NaCl solution was treated at moderate treatment intervals. Previous experiments were conducted in much higher moisture environments such as under hydroponic culture). From the results, it is guessed that *Zoysia matrella* in a low moisture soil with salinity can accumulate salt in the leaves so as not to consume valuable water in the body. On the other hand, it can be guessed that the plant would increase the excretion amount of the Na^+ , Cl^- ion from the salt glands in high moisture environments.

Horizontal water and salt transport (experiment B-1)

⑤ In the apical ramet in the intact condition, plant moisture in the leaves and rhizomes was 2~3 times higher than in the sever condition, and in the basal ramet with the intact condition, plant moisture in both leaves and rhizomes was higher than in the sever condition. From these results, it is thought that water transport in both the basal and the apical ramets occurred, and it is further guessed that water especially transported to the apical side from the intermediate ramet.

Horizontal water and salt transport (experiment B-2)

⑥ In both the basal and apical ramets, for total Na^+ , Cl^- content in the body (green leaves, brown leaves, rhizomes, roots), there were no significant differences between the intact and sever conditions. From these results, it is thought that the intermediate ramet with NaCl solution applied did not transport salt to either the basal or apical ramets through not distributing NaCl ions between ramets.

⑦ In the intact condition, total Na^+ , Cl^- content in the body (green leaves, brown leaves, rhizomes, roots) of the intermediate ramet and SNTS was lower than in the sever condition. Furthermore, in the intact condition, total biomass (green leaves, brown leaves, rhizomes, roots) of the intermediate ramet and SNTS was 1.3-fold and 1.5-fold higher than in the sever condition, respectively. From the above, it is guessed that water transport occurred from the basal ramet to the intermediate ramet (NaCl solution was treated only to the intermediate ramet) for mitigating salt stress in the intermediate ramet and SNTS.

⑧ In both the sever and intact condition, Na^+ , Cl^- content in the brown leaves was 2~3 times higher than in the green leaves. From the results, it is guessed that *Zoysia matrella* accumulates salt, especially in brown leaves (dead leaves), so that the plant can defoliate and remove salinity from the body.

⑨ Na^+ content in stolons of SNTS grown from the intermediate ramet (NaCl solution was treated) was significantly higher than in the control stolons (tap water applied). From these results, it is considered that the intermediate ramet transfer all substances to SNTS before it touched the ground and developed roots and shoots.

General discussion

Zoysia matrella Merr. in a saline environment did not transport NaCl to either the basal or apical ramet (⑥), but transported and accumulated NaCl in leaves (②,⑧). From the results, it is thought that the plants avoid salt stress in the stolons, roots and both basal and apical ramets. And after accumulating NaCl in dead leaves, the plants can shed their leaves and remove a lot of NaCl from the body (⑧), so it can survive in highly saline environments for a long time (①).

Water transport occurred in ramets under dry stress condition from ramets with tap water applied (⑤) and also there was water transport to ramets with NaCl solution applied. The results showed that water transport between ramets could alleviate ramet salt stress in saline environments (⑦). From the results, SNTS transported NaCl from the intermediate ramet, it is considered that the intermediate ramet transfer all substances to SNTS before it touched the ground and developed roots and shoots (⑨).

Soil water content could influence NaCl excretion amount from the salt gland (③,④) and also for NaCl content in ramets in saline environments (⑦). From these results, it is guessed that the amount of soil water is important for NaCl transport in the body and also important for alleviating salt stress in this plant.

The findings from this study are informative and provide valuable ideas for the sustainable use of *Zoysia matrella* on golf courses or in green spaces irrigated with saline water. And it is also valuable for greening for coastal area with storm tide or places with high concentrations of salinity in soil.

謝辞

本論文は多くの方々のご指導、ご支援によってまとめることができました。この場をお借りして感謝を申し上げます。

本論文に関して終始ご指導ご鞭撻を頂き本論文の主査を務めていただきました、東京農業大学 高橋新平教授に心より感謝申し上げます。

そして、副査を務めていただきました、同大学の鈴木貢次郎教授、水庭千鶴子教授、平野繁准教授、金澤弓子准教授に感謝申し上げます。

最後に、いつも応援してくれた静岡の家族に心から感謝申し上げます。

2020年2月10日

杉浦 総一郎