

## オヒルギ胎生種子の細胞壁構成多糖類

武井利之<sup>1)</sup>, 飯島倫明<sup>1)</sup>, 檜垣宮都<sup>1)</sup>

### Compositional and Structural feature of Cell Walls Polysaccharides from *Bruguiera gymnorrhiza* Viviparous seed.

Toshiyuki TAKEI<sup>1)</sup>, Tomoaki IJIMA<sup>1)</sup> and Miyato HIGAKI<sup>1)</sup>

**Abstract:** Composition and structure of cell walls polysaccharides from *Bruguiera gymnorrhiza* viviparous seed were characterized. The viviparous seeds were treated by boiling methanol, 80% aqueous methanol, ethanol:benzene (1:2), and cold buffer successively, cell wall substance was obtained as an insoluble material. The cell wall substance was fractionated by hot water, 0.5% ammonium oxalate, 4% potassium hydroxide, and 24% potassium hydroxide successively, to give cell wall polysaccharides. Including a polysaccharide obtained from cold buffer treatment of cell wall substance preparations, the approximate ratio of pectin : hemicellulose : cellulose in viviparous seeds cell wall was 6 : 1 : 1. The cell wall was rich of pectin compared with cell walls of young parts on another dicotyledonous plants. Main polysaccharides of the viviparous seeds cell wall substance were hot water extractive and 24% potassium hydroxide extractive polysaccharides. Structural analysis by methylation, methanolysis etc. were performed after purification of their polysaccharides. Results indicated that main components of the hot water extractive polysaccharides were arabinan, galactan, and galacturonan, the one of 24% potassium hydroxide extractive polysaccharides were xyloglucan and glucuronoxylan.

**Keywords:** *Bruguiera gymnorrhiza*, cell wall, mangrove, polysaccharides, viviparous seed

#### 緒言

マングローブを構成する樹木は、満潮時には海水が侵入して塩分濃度が高まる汽水域の土壌で生育する (Tomlinson, 1986, 山田, 1983a, 1983b)。マングローブ樹木が、このような環境下で生育できるのは、塩環境に対する適応機構が発達しているためと考えられ、他の陸上植物に存在しない特別な生理的機能を有すると考えられる。また、その形態は特異であり、支持根、板根、気根、呼吸根等の異形根や胎生種子を有する樹種がある。胎生種子とは母樹に付いたまま胚軸が伸長したもので (Tomlinson, 1986)、成熟後母樹から落下し、発芽、発根

して成長する。また、落下後、汽水・海水に運ばれて移動して活着し成長するものもあり、汽水・海水に長時間漬かっても発芽力がなくなる (向後他, 1985)。本報告では、これらの特徴を有する胎生種子の細胞壁構成多糖類に着目し、細胞壁の多糖類構成と、多糖類の構造について検討した。

#### 実験

1. 供試試料と細胞壁画分の調製  
沖縄県石垣島産マングローブ樹木オヒルギ *Bruguiera gymnorrhiza* (L.) Lamk. の成熟した胎生種子 129.4 g (生重, 含水率 66.9%) を供試試料とし、採取後ただちに

1) Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka 1-1-1 Setagayaku, Tokyo, 156/Japan  
東京農業大学農学部 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

350mlのメタノール中でホモジナイズし、90°Cの湯浴中で2時間加熱した。ミラクロス (CALBIOCHEM 社製) でろ過し、残渣を85°Cの80% (V/V) 含水メタノール、85°Cのアルコール:ベンゼン (1:2) 混液、0°Cの10 mM リン酸緩衝液 (pH6.9) (冷緩衝液) で攪拌抽出後蒸留水で洗浄し、不溶部をアセトンに続きエーテルで洗浄後乾燥して細胞壁画分とした。冷緩衝液可溶部は透析後濃縮し、5倍量のエタノールを加え、生じた沈殿を遠心分離して集め、エタノール、エーテルで洗浄して冷緩衝液可溶性多糖類画分 (WSP) とした (武井他, 1995)。

## 2. 細胞壁多糖類の分画とアミラーゼ処理

常法 (Kato & Matsuda, 1976) に準じて細胞壁多糖類を分画した。細胞壁画分 21.8 g を 85°C の熱水 400 ml で 2 時間環流し、ナイロンメッシュでろ過してろ液と残渣に分け、残渣は同様の熱水抽出を糖の溶出がなくなるまで繰り返した。ろ液を集めて透析、濃縮し、5倍量のエタノールを加えた後遠心分離し、沈殿として熱水可溶部を得た。熱水不溶部は85°Cの0.5% (W/V) シュウ酸アンモニウムで、熱水抽出の場合と同様にして抽出後、抽出液を透析、濃縮し、5倍量のエタノールを加え、沈殿として0.5% シュウ酸アンモニウム可溶部を得た。0.5% シュウ酸アンモニウム不溶部は、窒素下室温で4% (W/V) 水酸化カリウムで24時間攪拌抽出した後、遠心分離し、上清を分取し、残渣は同様の抽出操作を更に4回繰り返した。得られた上清を集め50% (V/V) 酢酸水溶液でpH5とし、透析、濃縮し、5倍量のエタノールを加え、沈殿として4%水酸化カリウム可溶部を得た。4%水酸化カリウム不溶部は24% (W/V) 水酸化カリウムにより4%水酸化カリウムの場合と同様にして抽出と遠心分離を5回繰り返した。上清を集めてpH5とし、透析後濃縮し、5倍量のエタノールを加え、沈殿として24%水酸化カリウム可溶部を得た。24%水酸化カリウム不溶部は酢酸:メタノール (1:1)、メタノールおよびエーテルで洗浄後乾燥して粗繊維画分 (CLF) とした。熱水、0.5% シュウ酸アンモニウム、4%および24%水酸化カリウム可溶部は200mlの蒸留水に溶解後沸騰湯浴中で10分間加熱し、200mlの20mM リン酸緩衝液 (pH6.9)、20 $\mu$ lの $\alpha$ -アミラーゼ (Sigma 社製 Type-A)、数滴のトルエンを加え、37°Cで72時間攪拌してデンプンを分解した。各反応液を沸騰湯浴中で10分間加熱し、透析、濃縮し、5倍量のエタノールを加え、遠心分離して沈殿を集めた後、同様のアミラーゼ処理を繰り返し、熱水、0.5% シュウ酸アンモニウム、4%水酸化カリウムおよび24%水酸化カリウム可溶部からそれぞれペクチン画分1 (P1)、ペクチン画分2 (P2)、ヘミセルロース画分1 (H1) およびヘミセルロース画分2 (H2) を得た。

## 3. イオン交換クロマトグラフィーとゲルろ過

イオン交換クロマトグラフィーは、0.05M コハク酸緩

衝液 (pH4.8) で平衡化した DEAE-Toyopearl650M (東ソー株式会社製) のカラムを使用した。試料をチャージした後、同緩衝液で溶出し、続いて同緩衝液に0から1Mになるように塩化ナトリウムを濃度勾配させて溶出した。溶出液の280nmの吸光度 (A280) とフェノール・硫酸法 (Dubois, M. et al., 1956) による490nmの吸光度 (A490) を測定した。

ゲルろ過は、0.1M コハク酸緩衝液 (pH 4.8) で平衡化した Sepharose CL-4B (Pharmacia Fine Chemicals) のカラムを使用した。試料をチャージし、同緩衝液で溶出し、溶出液の A280 と A490 を測定した。

## 4. 中性糖の分析

試料を72%硫酸に続き4%硫酸で加水分解後 (Saeman et al., 1954)、内部標準物質として *myo*-イノシトールを加え炭酸バリウムで中和し、Ambelite IR 120B (H<sup>+</sup>型) と Ambelite IRA 400 (AcO<sup>-</sup>型) で処理した。水素化ホウ素ナトリウムを加えて一晩放置した後酢酸を加えて酸性とし、Ambelite IR 120B (H<sup>+</sup>型) で処理した。続いてメタノールを加えて乾固を繰り返した後、無水酢酸:ピリジン (1:1, V:V) によりアセチル化してアルジトールアセテート (前川, 越島, 1987) とし GLC 分析した。GLC は、Shimadzu GC 12A を使用し、カラムは BD-225 (Fujii et al., 1993) (0.25 mm x 30 m) を用いた。

## 5. メチル化分析

箱守法 (Hakomori, 1964, Kato & Nevins, 1984, Azuma et al., 1981) に従い、試料をジメチルスルホキシドに溶解し、メチルスルフィニルカルバニオンに続きヨウ化メチルを加えてメチル化した。箱守法を再度繰り返してメチル化した後、Knhn 法 (Azuma et al., 1981, Wallenfels et al., 1963) によりメチル化した。メチル化された試料を90%蟻酸に続き0.5N硫酸で加水分解し、中和後アルジトールアセテートとして GLC 分析した (Lindberg, 1972)。

## 6. ウロン酸の同定

試料に5%塩酸メタノール溶液を加え、80°Cで24時間加熱した (Bierman, 1989, Huang et al., 1992)。*tert*-ブタノールを加えた後窒素を吹き付けて乾固し、内部標準物質として *myo*-イノシトールを含む水溶液を加えて生成したメチルグルコシドメチルエステルとメチルグルコシドを溶解した。この水溶液を2つに分け、一方を乾固した後100°Cの1N硫酸で4時間加熱し、炭酸バリウムで中和し、Ambelite IR 120B (H<sup>+</sup>型) と Ambelite IRA 400 (AcO<sup>-</sup>型) で処理した。これに水素化ホウ素ナトリウムを加えて一晩放置した後酢酸を加えて酸性とし、Ambelite IR 120B (H<sup>+</sup>型) で処理した。続いてメタノールを加えて乾固を繰り返した後、無水酢酸:ピリジン

(1:1, V:V)を加えてアセチル化しMaを得た。他方は、水素化ホウ素ナトリウムを加えてメチルグルコシドメチルエステルをメチルグルコシドに還元後、酢酸を加えて酸性としAmbelite IR 120B (H'型)で処理し、メタノールを加えて乾固を繰り返した。続いて100℃の1N硫酸で4時間加熱し、中和、還元、アセチル化してMbを得た(Mackawa&Koshijima, 1988)。MaとMbをGLC分析し、中性糖の種類と量を比較することによりウロン酸を同定した。

## 7. 一般的分析方法

ウロン酸はm-ヒドロキシビフェニル法(Filissetti-Cozzi *et al.*, 1991)によりガラクトuron酸を標準品として定量した。タンパク質含量は、Perkin Elmer 2400 II 元素分析装置により定量した窒素含量に6.25を乗じて求めた。旋光度は、Horiba SEPA-300により測定した。

## 結果および考察

### 1. オヒルギ胎生種子細胞壁の多糖類構成

マングローブ樹木の胎生種子の細胞壁構成多糖類を解析する目的で、日本の代表的マングローブ樹木オヒルギの胎生種子を試料とし、沸騰メタノール、80%含水メタノールおよびエタノール・ベンゼン混液で加熱処理後、冷緩衝液中で攪拌し、不溶部として細胞壁画分を調製した。細胞壁画分は、熱水、0.5%シュウ酸アンモニウム、4%水酸化カリウム、24%水酸化カリウムで順次多糖類を分画し、それぞれP1, P2, H1, H2を、また残渣としてCLFを得た。細胞壁画分調製過程の冷緩衝液による攪拌抽出で得られた冷緩衝液可溶性多糖類画分

(WSF)は、ガラクトuron酸残基の83%がメチルエステル化したガラクトuronで(武井他, 1995)であり、冷緩衝液抽出以前の加熱処理により細胞壁から遊離した細胞壁構成多糖類であると考えられた。WSFと細胞壁画分を分画して得た多糖類画分の収量と化学組成をTable 1に示した。各画分の中性糖含量とウロン酸含量を合計した糖含量の重量比は、WSF:P1:P2:H1:H2:CLFでそれぞれ24.4:47.8:0.05:0.47:15.5:11.8である。WSFをペクチンに含め、各画分の糖含量の重量比から胎生種子の細胞壁多糖類をペクチン:ヘミセルロース:セルロースに換算すると約6:1:1の重量比となる。通常、双子葉植物の若い組織の細胞壁はペクチン:ヘミセルロース:セルロースの割合が1:1:1である(桜井他, 1991)ことと比べると、胎生種子の細胞壁多糖類はペクチンの割合が極めて高い。胎生種子は、その水分保持のため、ペクチンが寄与している可能性が推察される。

### 2. 熱水可溶性多糖類

P1は最も収量が多く、胎生種子細胞壁の主要な構成成分であった。また、WSFに次いでウロン酸含量が高く、中性糖ではアラビノースとガラクトースの割合が高かった。P1を陰イオン交換クロマトグラフィーに供し(Fig. 1)、試験管番号5-6, 28-29および30-33をそれぞれ集めてPN, A1およびAIIを得た。これらの画分をSephacrose CL-4Bを用いたゲルろ過により精製し、PNからParを、A1からA1-HとA1-Lを、AIIからPAIIを得た。

Par, A1-H, A1-LおよびPAIIの化学特性と糖

Table 1 Yields and chemical composition of polysaccharide fractions of *B. gymnorrhiza* viviparous seed cell walls.

	WSF	P1	P2	H1	H2	CLF
Yield(%) <sup>a)</sup>	2.73	5.60	0.02	0.12	1.45	7.77
Neutral sugar content(%) <sup>b)</sup>	4.5	16.5	21.3	33.4	86.1	12.0
Uronic acid content(%) <sup>b)</sup>	70.8	55.6	0.8	0.9	3.9	0.9
Protein content(%) <sup>b)</sup>	1.2	0.4	0.9	1.5	4.2	n. d.
Neutral sugar composition(%) <sup>c)</sup>						
Rhamnose	4.4	4.0	1.6	2.0	2.2	1.1
Fucose	0.5	Trace	1.0	2.0	6.0	Trace
Arabinose	73.2	74.2	6.2	30.2	3.5	4.4
Xylose	3.8	2.1	5.2	20.1	28.6	1.1
Mannose	2.3	1.2	5.2	7.0	10.3	4.7
Galactose	11.2	12.4	2.1	12.1	13.8	3.7
Glucose	4.6	6.1	78.7	26.5	35.8	85.3

<sup>a)</sup>: Values are expressed as percentages of dry weight of viviparous seed.

<sup>b)</sup>: Values are expressed as percentages of dry weight of each polysaccharide fractions.

<sup>c)</sup>: Values are expressed as weight percentages of total neutral sugars.

Legend: n, d. :Not determined

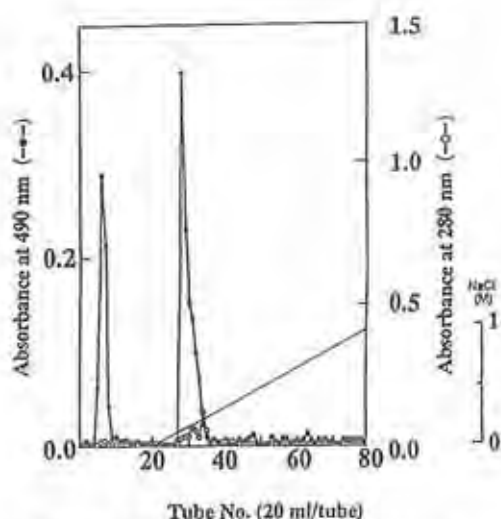


Fig. 1 DEAE-Toyoppearl 650M column chromatography of P1.

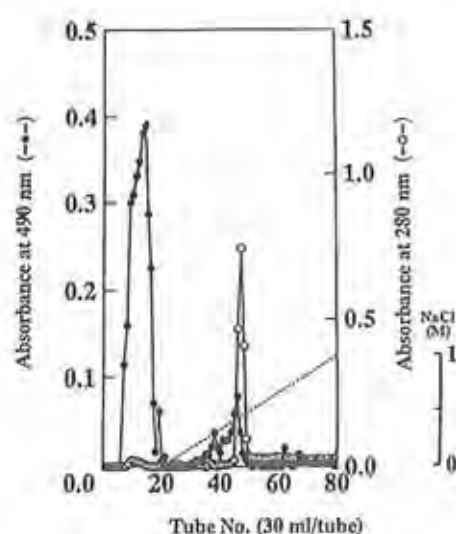


Fig. 2 DEAE-Toyoppearl 650M column chromatography of H2.

組成を Table 2 に、メチル化分析の結果を Table 3 に示した。また、A I-H, A I-L および PA II はウロン酸を含んでいたことから、これらのウロン酸残基を同定する目的でメタノリシス分析した結果を Table 4 に示した。Par は、2, 3, 5-トリメチルアラビノース、2, 3-ジメチルアラビノース、多分岐のアラビノースが多く検出され、2-モノメチルアラビノースおよび3-モノメチルアラビノースも検出された。Par は比旋光度が $-69.5^\circ$ を示したことから、 $\alpha 1 \rightarrow 5$ 結合するL-アラビノース残基を主鎖とし、主鎖アラビノース残基の2位と3位の双方に、L-アラビノース残基がモノグリコシド結合しており、この他、3位または2位にL-アラビノース残基がモノグリコシド結合するアラビナンであり、エダマメ子葉の細胞壁やレモンの皮の細胞壁から得られたアラビ

ナン (Aspinall & Cottrell, 1971, Darvill *et al.*, 1980) とほぼ同一の構造を有していると推定されたが、主鎖アラビノース残基の3位よりも2位にL-アラビノース残基がモノグリコシド結合している割合が高い特徴があった。

A I-H と A I-L は、メチル化分析の結果 Par と同様の部分メチル化アラビノースの他に、2, 3, 6-トリメチルガラクトースが検出され、 $\beta 1 \rightarrow 4$ ガラクトンを含むと推定された。A I-H, A I-L をメタノリシス分析した結果、A I-H, A I-L とともに Mb においてガラクトースのみが顕著に増加し、これらのウロン酸残基はガラクトンであることが明らかとなった。従って、A I-H と A I-L は、Par と同様のアラビナン、 $\beta 1 \rightarrow 4$ ガラクトンおよびガラクトンナンの結合体と推定され

Table 2 Properties and sugar composition of par, A I-H, A I-L and PA II.

	Par	A I-H	A I-L	PA II
$[\alpha]_D^{20}$ ( $c=0.1, H_2O$ )	$-69.5^\circ$	$+34.0^\circ$	$+294.5^\circ$	$+19.8^\circ$
Neutral sugar content (%) <sup>a)</sup>	99.3	43.9	11.1	43.9
Uronic acid content (%) <sup>a)</sup>	Trace	37.2	79.5	52.9
Neutral sugar composition (%) <sup>b)</sup>				
Rhamnose	0.6	1.6	3.6	3.3
Fucose	1.1	0.2	1.3	0.7
Arabinose	79.7	80.6	87.9	76.9
Xylose	5.4	0.5	2.6	1.5
Mannose	1.3	2.9	1.8	2.7
Galactose	7.2	13.6	16.8	14.1
Glucose	6.1	0.5	1.1	0.7

<sup>a)</sup> : Values are expressed as percentages of each fraction.

<sup>b)</sup> : Values are expressed as molar percentages of total neutral sugars.



Table 3 Methylation analysis of Par, AI-H, AI-L and PAII.

Methylated sugars <sup>a)</sup>	Par	AI-H	AI-L	PAII
2, 3, 5-Ara	27.3	22.6	21.6	22.4 (%) <sup>b)</sup>
2, 3, 4-Xyl	3.1	0.1	2.5	0.1
2, 3, 4-Fuc	0.9	Trace	1.9	0.1
3, 5-Ara	0.3	0.3		0.4
2, 5-Ara	0.8	0.5		0.5
2, 3, 4, 6-Glc	0.2	0.1	3.0	
2, 3-Ara	22.4	22.6	22.9	26.0
2, 3 or 3, 4-Xyl	1.6	0.3	2.6	0.3
2, 3, 4, 6-Gal	4.3	0.4		0.3
2-Ara	6.7	7.0	9.3	7.7
3-Ara	8.8	14.6	10.5	13.6
2, 3, 6 or 3, 4, 6-Gal	2.4	10.3	4.3	8.6
2, 3, 6-Glc	5.0	1.5	4.1	0.5
Ara	16.2	19.6	17.1	19.4

<sup>a)</sup> : 2, 3, 5-Ara = 2, 3, 5-tri-*o*-methyl-L-arabinitol, etc.

<sup>b)</sup> : Values are expressed as molar percentages of total identified partially-methylated sugars.

Table 4 Neutral sugar composition of methanolized AI-H, AI-L and PAII.

	AI-H		AI-L		PAII		(%) <sup>a)</sup>
	Ma	Mb	Ma	Mb	Ma	Mb	
Rhamnose	1.9	2.6	0.4	0.5	5.7	5.0	
Fucose	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
Arabinose	43.5	50.5	5.3	5.6	50.8	50.2	
Xylose	0.3	0.3	0.1	0.2	0.7	0.8	
Mannose	0.1	0.1	0.2	0.5	0.1	0.2	
Galactose	8.5	32.9	1.7	32.5	13.5	39.2	
Glucose	0.2	0.5	0.2	0.5	0.3	0.4	
I. S.	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	

<sup>a)</sup> : Values are expressed as relative weight percentages to *myo*-inositol as an internal standard (I. S.).

た。

PAIIはメチル化分析の結果がAI-HとAI-Lに類似していた、また、メタノリシス分析の結果、Mbでガラクトースのみが顕著に増加していた。従って、PAIIは、AI-HとAI-Lと同様に、その中性糖部分は、Parと同様のアラビナンと $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4ガラクトンであり、酸性糖部分はガラクトンであると推定された。

### 3. 24% 水酸化カリウム可溶性多糖類

胎生種子細胞壁から24%水酸化カリウムで抽出された多糖類(H2)を、陰イオン交換クロマトグラフィーに供し(Fig. 2)、試験管番号7-17と44-49をそれぞれ集めて中性多糖類画分(XG)と、酸性糖残基を含む多糖類画分(GX)を得た。XGとGXの回収率はH2に対してそれ

ぞれ48.8%、7.3%でありXGがH2の主要多糖類であった。XGとGXの中性糖組成をTable 5に、XGをメチル化分析した結果をTable 6に示した。XGはグルコースに次いでキシロースの割合が高く、メチル化分析により2, 3, 6-トリメチルグルコースと2, 3-ジメチルグルコースが主に検出され、2, 3, 4-トリメチルキシロース、2, 3, 4-トリメチルフコース、2, 3, 4, 6-テトラメチルガラクトース、3, 4, 6-トリメチルガラクトース、2, 3-ジメチルグルコースが検出されたことから、緑豆暗発芽下胚軸細胞壁のキシログルカン(Kato & Matsuda, 1980)と同様、フコースを非還元末端として有するキシログルカンの存在が推定された。しかし、2, 3, 6-トリメチルグルコースと2, 3-ジメチルグルコースに比べて2, 3, 4-トリメチルキシロース等の割合が少な

Table 5 Neutral sugar composition of XG and GX.

	XG	GX	(%) <sup>a)</sup>
Rhamnose	2.1	7.5	
Fucose	5.6	2.0	
Arabinose	0.8	13.3	
Xylose	22.9	45.5	
Mannose	10.1	3.0	
Galactose	15.6	12.7	
Glucose	42.9	16.2	

<sup>a)</sup> : Values are expressed as molar percentages of total neutral sugars .

Table 6 Methylation analysis of XG.

Methylated sugars <sup>a)</sup>	XG	(%) <sup>b)</sup>
2, 3, 5-Ara	Trace	
2, 3, 4-Xyl	6.9	
2, 3, 4-Fuc	3.0	
3, 4-Rha	1.0	
2, 5-Ara	0.4	
2, 3, 4, 6-Glc	0.2	
2, 3-Ara	0.3	
2, 3 or 3, 4 -Xyl and 2, 3, 4, 6-Gal	13.0	
2-Ara	1.4	
2, 3, 6-Man and 3-Ara	6.0	
3, 4, 6-Gal	8.1	
2, 3, 6-Glc	21.9	
Ara	Trace	
2, 3-Hex	5.5	
2, 3-Glc	32.6	

<sup>a)</sup> : 2, 3, 5-Ara = 2, 3, 5-tri-*O*-methyl-arabinitol, *etc.*

<sup>b)</sup> : Values are expressed as relative molar percentages of total partially-methylated sugars.

Legend : Hex : Unidentified hexitol.

Table 7 Composition of the major polysaccharide on viviparous seed cell wall.

Fraction	Major polysaccharide		Relative ratio of cell wall polysaccharide
	Acidic	Neutral	
W S F	Galacturonan		
P 1	Galacturonan	Arabinan, Galactan	Pectin : 6
P 2			
H 1			Hemicellulose : 1
H 2	Glucuronoxylan	Xyloglucan	
C L F		Cellulose	Cellulose : 1

いことから、タバコ培養カサの細胞壁から単離されたアラビノキシログルカン (Eda, S. *et al.*, 1980) のように側鎖の少ない主鎖を有することも推察されるが、詳細は今後検討を要する。この他、2, 3, 6-トリメチルマンノースが検出されたことから、マンナンあるいはグルコマンナンが少量存在すると推定された。

GX は、酸性糖残基を含む多糖類画分でありキシロースの割合が高い (Table 5) ことから、広葉樹の二次細胞壁に多く含まれるヘミセルロースであるグルクロノキシランと推定された。

### 結 論

ヒルギ科マングローブ樹木オヒルギの胎生種子細胞壁を構成する多糖類の構成と構造を検討した。結果を要約して Table 7 に示した。

オヒルギ胎生種子の細胞壁構成多糖類は、ペクチン：ヘミセルロース：セルロースの重量比が約 6：1：1 であり、ペクチンの割合が高い特徴があった。

細胞壁構成多糖類は主に冷緩衝液可溶性多糖類 (WSF)、熱水可溶性多糖類 (P1) および 24% 水酸化カリウム可溶性多糖類 (H2) であった。これらの糖構造を解析した結果、冷緩衝液可溶性多糖類はガラクトロン、熱水可溶性多糖類はアラビナンとアラビナン・ガラクトン・ガラクトロン結合体、24% 水酸化カリウム可溶性多糖類は、キシログルカンとグルクロノキシランであった。

### 文 献

- Aspinall, G. O. and Cottrell I. W. (1971) : Polysaccharide of Soybeans. VI. Neutral Polysaccharides from Cotyledon Meal. *Can. J. Chem.*, 49, 1019-1022.
- Azuma, J. *et al.* (1981) : Isolation and Characterisation of Lignin-Carbohydrate Complexes from The Milled-Wood Lignin Fraction of *Pinus densiflora* SIEB. *et* ZUCC. *Carbohydr. Res.*, 93, 91-103.
- Bierman, C. J. (1989) : Analysis of Carbohydrates by GLC and GLC-MS, CRC Press, Inc., N. W., 27-41.
- Darvill, A. G. *et al.* (1980) : The Biochemistry of Plants, Vol. 1, Stumpf, P. K. and E. E. Conn eds., Academic Press, 91.
- Dubois, M. *et al.* (1956) : Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-356.
- Eda, S. *et al.* (1980) : An Arabinoxyloglucan from the Cell Wall of Suspension-cultured Tobacco Cells. *Agric. Biol. Chem.*, 47, 1791-1797.
- Filisetti-Cozzi, *et al.* (1991) : Measurement of Uronic Acids without Interference from Neutral Sugars. *Anal. Biochem.*, 197, 157-162.
- Fujii, Y. *et al.* (1993) : Chemical Composition

Change of Bamboo Accompanying its Growth. *Holzfor-schung*, 47, 109-115.

Hakomori, S. (1964) : A Rapid Permethylation of Glycolipid and Polysaccharide Catalyzed by Methyl-sulfinyl Carbanion in Dimethylsulfoxide. *J. Biochem.*, 55, 205-207.

Huang, Y. *et al.* (1992) : Simultaneous Determination of Xylose and Uronic Acid in Beech Xylan by Methanolysis. *Mokuzai Gakkaishi*, 38, 1168-1171.

Kato, Y. & Nevins D. J. (1984) : Structure of the Arabinogalactan from Zea Shoots. *Plant and Cell Physiol.*, 74, 562-568.

Kato, Y. & Matsuda K. (1976) : Presence of xyloglucan in the Cell Wall of *Phaseolus aureus* Hypocotyls. *Plant and Cell Physiol.*, 17, 1185-1198.

Kato, Y. & Matsuda K. (1980) : Structure of Oligo-saccharides Obtained by Hydrolysis of Mund Beane Xyloglucan with *Trichoderma viride* Cellulase. *Agric. Biol. Chem.*, 44, 1759-1766.

向後元彦他 (1985) : カジフ (サウジアラビア) における *Rizophora stylosa* の種子保存試験。マングローブ研究, 東京農業大学総合研究所, 159-162.

Lindberg, B. (1972) : Methylation Analysis of Polysaccharides. *Methods Enzymol.* 28, 178-195.

Maekawa, E.; Koshijima T. (1988) : An Analytical Method for Determination of Acidic Sugars in Wood Hemicelluloses by Gas-Liquid Chromatography. *Mokuzai Gakkaishi*, 34, 359-362.

前川英一, 越島哲夫 (1987) : ガスクロマトグラフィーによる木材多糖成分の分析と定量 (その 1), 木材研究, 23, 219-224.

Mizote, A. *et al.* (1975) : Determination of Residue of Carboxylic Acids (Mainly Galacturonic Acid) and Their Degree of Esterification in Industrial Pectins by Colloid Titration with Cat-Floc. *Analyst*, 100, 822-826.

Saeman, J. F. *et al.* (1954) : Techniques for the Determination of Pulp Constituents by quantitative Paper Chromatography. *Tappi*, 37, 336-343.

桜井直樹他 (1991) : 植物細胞壁と多糖類。培風館, 63.

武井利之他 (1995) : オヒルギ胎生種子の細胞壁調製過程で得られたガラクトロン。木材学会誌, 41, 1012-1016.

Tomlinson, P. B. (1986) : The botany of mangroves, Cambridge university press, 145.

Wallenfels, K. *et al.* (1963) : Permethylierung von Oligomeren und Polymeren Kohlenhydraten und Puantitative Analyse der Spaltungsprodukte. *Angew. Chem. Intern. Ed.* 21, 1014-1022.

山田 勇 (1983a) : 東南アジアの低湿地 -1- マング

ロープ, 東南アジア研究, 21, 209-234.

山田 勇 (1983b): 東南アジアの低湿地-2-マング  
ロープの分布, 東南アジア研究, 21, 329-355.