

塩性湿地に生育する湿塩生樹木の耐冠水性と

耐塩性に関する生理学的研究

[Physiological studies on flooding and salinity tolerance of
hydro-halophytes distributing salt marsh]

沖田 総一郎

Souichirou OKIDA

2019

目次

図一覧	i
List of Figures.....	ii
表一覧	iii
List of Tables	iv
第1章 緒言.....	1
第2章 模擬海水に水没後の冠水環境がヌマスギとクロマツ苗木の生存と成長に及ぼす影響.....	6
2.1 序論	6
2.2 材料と方法.....	6
2.2.1 材料	6
2.2.2 処理方法.....	7
2.2.3 成長測定.....	7
2.2.4 ベタイン類分析.....	8
2.3 結果	8
2.3.1 枯死率	8
2.3.2 クロマツの葉長伸長量とヌマスギの先枯れと胴ぶき	8
2.3.3 伸長・肥大成長量	8
2.3.4 葉の乾燥重量	9
2.3.5 ベタイン類含有量	9
2.4 考察	9
2.4.1 塩水での水没処理時間と枯死率	9
2.4.2 育成期間の冠水・非冠水処理が回復に及ぼす影響.....	10
2.5 結論	11
2.6 図表	13
第3章 沖縄県内に植栽されたマングローブ樹種5種における葉の浸透調整物質蓄積の季節変動.....	19
3.1 序論	19
3.2 材料と方法.....	19
3.2.1 調査地	19
3.2.2 対象樹種.....	20
3.2.3 方法	20
3.2.4 統計解析.....	21
3.3 結果	21
3.3.1 環境条件.....	21
3.3.2 陽イオン含有量.....	21
3.3.3 糖・糖アルコール含有量.....	22

3.3.4	可溶性糖と糖アルコールを応答変数とした GLM とその AIC による最適予測モデル選択.....	23
3.4	考察	23
3.4.1	浸透調節物質蓄積の樹種間差.....	23
3.4.2	各樹種の浸透調整物質蓄積の季節変動.....	24
3.5	図表	26
第 4 章	酸欠と塩ストレスがマングローブ 2 種の苗木の成長と生理に及ぼす影響... 31	
4.1	序論	31
4.2	材料と方法	32
4.2.1	材料	32
4.2.2	実験設計	32
4.2.3	環境条件	32
4.2.4	生存率・葉数変化・乾燥重量.....	33
4.2.5	光合成速度.....	33
4.2.6	可溶性糖類.....	33
4.2.7	統計解析	33
4.3	結果	34
4.3.1	環境条件	34
4.3.2	生存率・乾燥重量・葉数変化.....	34
4.3.3	光合成速度.....	34
4.3.4	可溶性糖類.....	34
4.4	考察	35
4.4.1	生存率・乾燥重量.....	35
4.4.2	葉数変化・光合成速度.....	35
4.4.3	可溶性糖類含有量.....	36
4.5	結論	36
4.6	図表	37
第 5 章	塩ストレスが冠水にともなう嫌気呼吸代謝産物蓄積におよぼす影響..... 41	
5.1	序論	41
5.2	材料と方法	42
5.2.1	材料	42
5.2.2	方法	43
5.2.3	環境条件	43
5.2.4	アセトアルデヒド、エタノール分析.....	43
5.2.5	統計解析	43
5.3	結果	44
5.3.1	実験期間中の環境.....	44

5.3.2	アセトアルデヒドおよびエタノール含有量の経時変化.....	44
5.3.3	アセトアルデヒドおよびエタノール含有量の種間比較と部位間比較	45
5.3.4	GLM と Elastic Net 正則化による解析	46
5.4	考察	46
5.4.1	環境条件とアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の関係... ..	46
5.4.2	アセトアルデヒドおよびエタノールの毒性と酸欠耐性.....	47
5.4.3	複合ストレスの影響とマングローブ樹種の耐酸欠性	48
5.5	図表	49
第 6 章	ヒルギダマシの呼吸根切除が葉と根のアセトアルデヒドとエタノール含有量に及ぼす影響	54
6.1	序論	54
6.2	調査地と方法	54
6.2.1	調査地	54
6.2.2	環境条件、個体サイズ測定	54
6.2.3	処理区	55
6.2.4	アセトアルデヒド、エタノール分析	55
6.2.5	統計解析.....	56
6.3	結果	56
6.3.1	呼吸根切除処理による葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量への影響	56
6.3.2	GLM と Elastic Net 正則化を使用した解析.....	57
6.4	考察	58
6.4.1	呼吸根の役割と嫌気呼吸	58
6.5	図表	60
第 7 章	総合考察.....	69
第 8 章	摘要.....	73
第 9 章	Summary	76
第 10 章	謝辞.....	79
第 11 章	引用文献.....	80
第 12 章	学位論文の基礎となる学術論文	89
12.1	「模擬海水に水没後の土壌の冠水環境がヌマスギ (<i>Taxodium distichum</i> (L.) Rich.) とクロマツ (<i>Pinus thunbergii</i> Parl.) 苗木の生存と成長におよぼす影響」	89
12.2	「酸欠と塩ストレスがマングローブ 2 種の苗木の成長と生理に及ぼす影響」	89
12.3	「沖縄県内に植栽されたマングローブ樹種 5 種における葉の浸透調整物	

質蓄積の季節変動」	89
-----------------	----

図一覧

図 1-1 津波被災後に海水が滞水している海岸林内（千葉県九十九里浜）	2
図 1-2 研究フローチャート	4
図 2-1 水没処理後の非冠水（左）、冠水（右）環境でのクロマツの葉長伸長量の推移	14
図 2-2 水没処理後の非冠水（左）、冠水（右）環境でのヌマスギの先枯れ割合（上）と胴ぶき割合（下）の推移	15
図 2-3 掘り取り前のクロマツ（左）とヌマスギ（右）の伸長成長量（上）と肥大成長量（下）	16
図 2-4 クロマツ（左）とヌマスギ（右）の葉の乾燥重量	17
図 2-5 クロマツ（左）とヌマスギ（右）の葉のベタイン類含有量	18
図 3-1 葉中陽イオン含有量の季節変動	27
図 3-2 葉中全可溶性糖含有量（上段）と全糖アルコール含有量（下段）の季節変動	28
図 4-1 実験デザイン模式図	37
図 4-2 ヒルギダマシ (<i>A. marina</i>) とメヒルギ (<i>K. obovata</i>) の乾燥重量	38
図 4-3 実験期間中のヒルギダマシ (<i>A. marina</i>) とメヒルギ (<i>K. obovata</i>) の葉数変化割合の推移	39
図 4-4 実験期間中のヒルギダマシ (<i>A. marina</i>) とメヒルギ (<i>K. obovata</i>) の光合成速度の対照区に対する処理区の相対値	39
図 4-5 ヒルギダマシ (<i>A. marina</i>) およびメヒルギ (<i>K. obovata</i>) の葉と根の総可溶性糖類含有量	40
図 5-1 メヒルギ（上段）とオヒルギ（下段）の葉（左）、幹（中）、根（右）に含まれるアセトアルデヒドおよびエタノール量の経時変化	50
図 6-1 処理個体の位置図	60
図 6-2 各処理区の処理後の冠水状態	61
図 6-3 対照区の個体の様子（処理後 33 日目）	61
図 6-4 除去区の個体の様子（処理後 33 日目）	62
図 6-5 各処理区における葉（上）と根（下）のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量変化	65

List of Figures

Fig. 1-1 Seawater flooded spot in a coastal forest after tsunami (Chiba Prefecture, Japan).....	2
Fig. 1-2 The flowchart of study	4
Fig. 2-1 Changes in leaf length increment of <i>P. thunbergii</i> saplings of each treatment.....	14
Fig. 2-2 Changes in ratio of dieback (upper) and bud sprouting (lower) in <i>T. distichum</i> saplings grown under unflooded (left: UF) and flooded (right: F) conditions after submergence treatments	15
Fig. 2-3 Shoot elongation (upper) and stem diameter increment (lower) in <i>P. thunbergii</i> (left) and <i>T. distichum</i> (right) saplings at the end of experiments.	16
Fig. 2-4 Dry weights of the leaves of <i>P. thunbergii</i> (left) and <i>T. distichum</i> (right) saplings in each treatment.	17
Fig. 2-5 Contents of betaines in leaves of <i>P. thunbergii</i> (left) and <i>T. distichum</i> (right) saplings in each treatment.....	18
Fig. 3-1 Seasonal variation of cation contents in leaves	27
Fig. 3-2 Seasonal variation of total soluble sugar (upper) and total polyol (lower) contents in leaves	28
Fig. 4-1 Diagram of experimental design.....	37
Fig. 4-2 Dry weight of <i>A. marina</i> and <i>K. obovata</i>	38
Fig. 4-3 Relative leaf number per seedling to the start of the experiment	39
Fig. 4-4 Relative value of photosynthetic rate to the control during experiment of <i>A. marina</i> and <i>K. obovata</i>	39
Fig. 4-5 Sugar contents in leaves and roots of <i>A. marina</i> and <i>K. obovata</i>	40
Fig. 5-1 Change of Acetaldehyde and ethanol content in leaves (left) , stems (center) , and roots (right) of <i>K. obovata</i> (upper) and <i>B. gymnorhiza</i> (lower) before and after treatment	50
Fig. 6-1 Treated tree location map	60
Fig. 6-2 Picture of flooded condition of each treatment after treatment	61
Fig. 6-3 Picture of control treatment (33 days after treatment)	61
Fig. 6-4 Picture of removal treatment (33 days after treatment)	62
Fig. 6-5 Change of acetaldehyde and ethanol content in leaves (upper) and root (lower) with each treatment	65

表一覧

表 2-1 クロマツとヌマスギにおける水没処理後、すすぎ処理後、掘り取り時の平均土壌 EC	13
表 2-2 掘り取り時のクロマツとヌマスギの枯死率	14
表 3-1 調査地近傍の 2011 年の月別気象条件と試料採取前 1 週間の気象条件	26
表 3-2 各樹種の全可溶性糖含有量（上段）と全糖アルコール含有量（下段）を応答変数とした GLM の最小 AIC モデルとその説明変数の係数	29
表 3-3 樹種ごとの各採取月における葉中糖含有量	30
表 4-1 実験期間中の土壌電気伝導度（EC）と冠水溶液の溶存酸素濃度（DO）、pH	37
表 4-2 実験終了時のヒルギダマシ（ <i>A. marina</i> ）とメヒルギ（ <i>K. obovata</i> ）の光合成速度	38
表 5-1 処理前と処理後の処理水の環境データ	49
表 5-2 メヒルギとオヒルギの個体あたりのアセトアルデヒドおよびエタノール含有量	51
表 5-3 各処理におけるメヒルギとオヒルギの各部位のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量	52
表 5-4 各部位のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を目的変数とした GLM の各説明変数の係数の推定値	53
表 6-1 採取日の気象条件	63
表 6-2 各個体のサイズと呼吸根密度、および根圏の土壌条件	64
表 6-3 各処理の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量	66
表 6-4 各部位の処理前のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を目的変数とした GLM の各説明変数の係数の推定値	67
表 6-5 各採取日の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量をそれぞれ目的変数とした GLM の各説明変数の係数の推定値	68

List of Tables

Table 2-1 Soil EC after submergence, after rinse and before harvest of <i>P. thunbergii</i> and <i>T. distichum</i>	13
Table 2-2 Mortality rate of <i>P. thunbergii</i> and <i>T. distichum</i> saplings at the time of harvest.....	14
Table 3-1 Weather and environmental condition around sampling site by month, and for the last week before sampling	26
Table 3-2 The estimated coefficient of explanatory variables of GLM having lowest AIC and using the total soluble sugar content (upper) and the total polyol content (lower) as objective variable.	29
Table 3-3 Soluble sugar content in leaves collected each month	30
Table 4-1 Soil electrical conductivity (EC) , dissolved oxygen concentration (DO) and pH in flooding water during the experiment	37
Table 4-2 Photosynthetic rate of <i>A. marina</i> and <i>K. obovata</i> at the end of experiment	38
Table 5-1 Environmental data of treatment water during the experiment ...	49
Table 5-2 Acetaldehyde and ethanol content of <i>K. obovata</i> and <i>B. gymnorrhiza</i>	51
Table 5-3 Acetaldehyde and ethanol content of each part of <i>K. obovata</i> and <i>B. gymnorrhiza</i>	52
Table 5-4 The estimate coefficient of explanatory variables of GLM using the total acetaldehyde and ethanol content as objective variable.....	53
Table 6-1 Weather condition during the experiment.....	63
Table 6-2 Tree size, density of pneumatophore, and soil condition	64
Table 6-3 Acetaldehyde and ethanol content in leaf and root with each treatment.	66
Table 6-4 The estimate coefficient of explanatory variables of GLM using the acetaldehyde and ethanol content before the treatment as objective variable.....	67
Table 6-5 The estimate coefficient of explanatory variables of GLM using the acetaldehyde and ethanol content in each sampling day as objective variable.....	68

第1章 緒言

近年の気候変動やそれにもなう災害の大型化、巨大地震などにより、森林の持つ防災・減災機能に注目が集まっている。特に、2004年12月26日に起きたスマトラ島沖大地震や2011年3月11日に起きた東日本大震災とそれらにもなう津波は、海岸林の持つ防災・減災機能の重要性を再認識させた（佐々木ら 2013）。海岸林などの海岸生態系は、防災・減災機能だけではなく、防風や防砂、防潮、海洋生物と陸生生物のエコトーン、周辺住民の緑資源としての役割も担っており、社会的にも生態学的にも重要である（Vernberg 1993; Mazda et al. 2006; McIvor et al. 2013; Spalding et al. 2014; Hashim and Shahruzzaman 2016; Derksen - Hooijberg et al. 2018）。海岸林の津波に対する防災機能の重要性が認識されている一方で、人間活動や気候変動による海岸林の衰退と劣化は依然として問題であり、防災・減災機能の高い海岸林整備が喫緊の課題とされている。

現在の海岸林造成の多くは、単一樹種の一斉植栽が一般的である。単一樹種の一斉植栽は複数樹種のゾーニングに比べて造成時は省コストであるが、環境の変化や災害に対する頑強性が低くなる。そのため、海岸林の維持・管理や防災機能までを考慮すると、混交林化や複層林化、ゾーニングの費用対効果が高いことが予想される。

海岸低湿地や潮間帯などの塩性湿地は、海水や汽水の影響により塩分を含んだ湿地で、水文条件や地形条件に従って多様な環境を形成しており、単一樹種による造林では樹木の衰弱や枯死等がみられる。これらの局所的な衰弱・枯死は、海岸林の津波に対する減衰機能や漂流物の捕捉機能の低下を招くだけではなく、津波時には根返りや枯損、倒木、およびそれらの流出による二次被害の危険性がある。津波に対して高い防災力を発揮する多様な樹種のゾーニングを可能にするためには、塩性湿地のような特殊な環境条件や津波に対する樹木の応答性の把握が必要不可欠である。

塩性湿地では、滞水と水没による酸欠ストレスと、海水由来の塩ストレスが存在する。地下水位の高い湿地のような環境に生育する植物は湿性植物と呼ばれる。また、高い耐塩性を持つ植物は特に塩生植物と呼ばれ、中生植物と区別される。さらに、塩生植物のなかでも塩性湿地のような湿地環境に生育する植物は湿塩生植物と呼ばれ、マングローブ樹種などが含まれる。海岸林の塩性湿地は、温帯のマツ林にみられる中生植物により構成されたものと、熱帯・亜熱帯のマングローブ林のような塩生植物により構成されたものが存在する。中生植物により構成された海岸林では、林内の大部分は砂丘地で排水性が高く、海水による潮風の影響はあるが地下水は塩分を含まないか非常に低い。地下水位の高い低湿地では、津波や高潮などにより海水が滞水しやすく、被災後の大量枯死などが起こりやすい（図 1-1）。一方で、



図 1-1 津波被災後に海水が滞水している海岸林内（千葉県九十九里浜）

Fig. 1-1 Seawater flooded spot in a coastal forest after tsunami (Chiba Prefecture, Japan)

熱帯・亜熱帯では塩生植物から構成される海岸林が潮間帯にまで広がっており、そこに生育する植物種は日常的に海水による冠水や水没にさらされる。

本論文では、塩性湿地特有の環境条件や津波等の被災を想定した冠水環境や海水への水没に対する樹木種の応答について、中生植物と塩生植物を用いて明らかにし、海岸林の塩性湿地が抱える防災機能の高い海岸林造成における課題解決のための現実的議論を行うことを目標とした。中生植物によって構成されている海岸林として温帯の海岸クロマツ林を、塩生植物によって構成されている海岸林として熱帯・亜熱帯のマングローブ林をそれぞれ具体例として取り上げ、それぞれの樹木の冠水や海水への水没などの酸欠と塩のストレスに対する応答を明らかにするために調査・実験を行った。

日本では「白砂青松」の言葉の通り、海岸林には松林が好まれ、クロマツを植栽してきた。しかしながら、海岸に点在する低湿地においてクロマツの衰弱が認められており、防災機能上問題となっている。東日本大震災の津波後には、これらの低湿地に海水が滞水したことが要因と考えられる一斉枯死も認められた（図 1-1）。また、これらのクロマツの根系の育成不良も、災害時の樹体の流亡などによる二次被害を招く危険性があることから、低湿地でも生育可能な樹種の選抜および植栽が急務とされている。一方で、低湿地での生育可能性だけでなく、津波や波浪の減災機能、その後の復旧コストと復旧時間が少ないことも経済性・持続性の面で考慮する必要がある。そこで第 2 章では、冠水耐性が高く汽水域の湿地まで分布してい

る北米原産のヌマスギの海岸低湿地への植栽について、津波に対する防災能力と復旧コストについて考慮するために実験を行い、クロマツと比較・検討した。津波による冠水を想定した模擬海水への水没と、低湿地などの滞水環境を想定した土壌冠水環境の組み合わせが、クロマツとヌマスギの生存・成長と生理に及ぼす影響を実験により検証した。

熱帯・亜熱帯の潮間帯の多くは、塩生植物であるマングローブ樹種が林分を形成しており、樹形や呼吸根などの独特の構造が高い防災・減災能力を発揮している(Mazda et al. 1997, 2006; Danielsen et al. 2005; Kathiresan and Rjendram 2005; Hashim and Shahruzzaman 2016)。マングローブ林では、それぞれの樹種特性と環境条件に従ったすみわけがなされていることから、樹種特性の把握と樹種間比較を行うことで、塩性湿地での生育において重要な要因の把握が可能であると予想される。そこで第3章から第6章では、海水による冠水や水没時に考えられる酸欠と塩の複合ストレスに対する応答とそれらの耐性機構について明らかにすることを目的として、実験・調査を行った。

マングローブ樹種の耐塩性機構は、樹種ごとに大きく異なる他、同種内でも生育環境によっても異なることが報告されている。また、耐塩性機構構築に関わる環境要因は経時的にも変化することから、耐塩性機構も同様に季節変動することが予想される。そこで、第3章では、マングローブ樹種5種の耐塩性機構の季節変動について調査を行った。沖縄島内に同時期に植栽されたマングローブ樹種5種において、耐塩性機構の1つである浸透調整物質として陽イオン、および糖・糖アルコールの葉内含量の季節変動を比較検討した。

人間活動によると考えられるマングローブ林の衰弱が問題視されており(沖縄県環境部自然保護課 2015)、要因の一つとして潮汐による海水の流出入経路の分断や滞水などの水文学的影響によるものが考えられる。滞水環境は溶存酸素濃度の低下だけではなく、海水の濃縮などを引き起こす。そのため、第4章では、海水での滞水時に想定される酸欠と塩の複合的なストレスが、マングローブ樹木の生態生理にどの様に影響をおよぼし、それぞれの単独のストレスの場合とどのように異なるのかについて、苗木を用いた実験で検証した。

マングローブ樹木の通気組織や気根の発達などは、酸欠耐性機構として知られている(Allaway et al. 2001; Purnobasuki and Suzuki 2005; Colmer and Phytologist 2008; Pi et al. 2009; Naskar and Palit 2015)。しかしながら、マングローブ林の再生を目的とした植栽などにおいては、苗木の植栽場所の冠水深度や頻度がしばしば問題となり、これらの苗木には通気組織が未発達であることから酸欠ストレスによる衰弱枯死が疑われる。一方で、汽水域においては植栽場所によって淡水と海水の割合が異なることから、塩ストレスによる影響も十分に考えられる。既知の耐塩性機構は、そのほとんどがエネルギー依存型であるとされているため(Shabala et al. 2014; Flowers et al. 2015; Kotula et al. 2015)、塩ストレス強度の増加はエネルギー

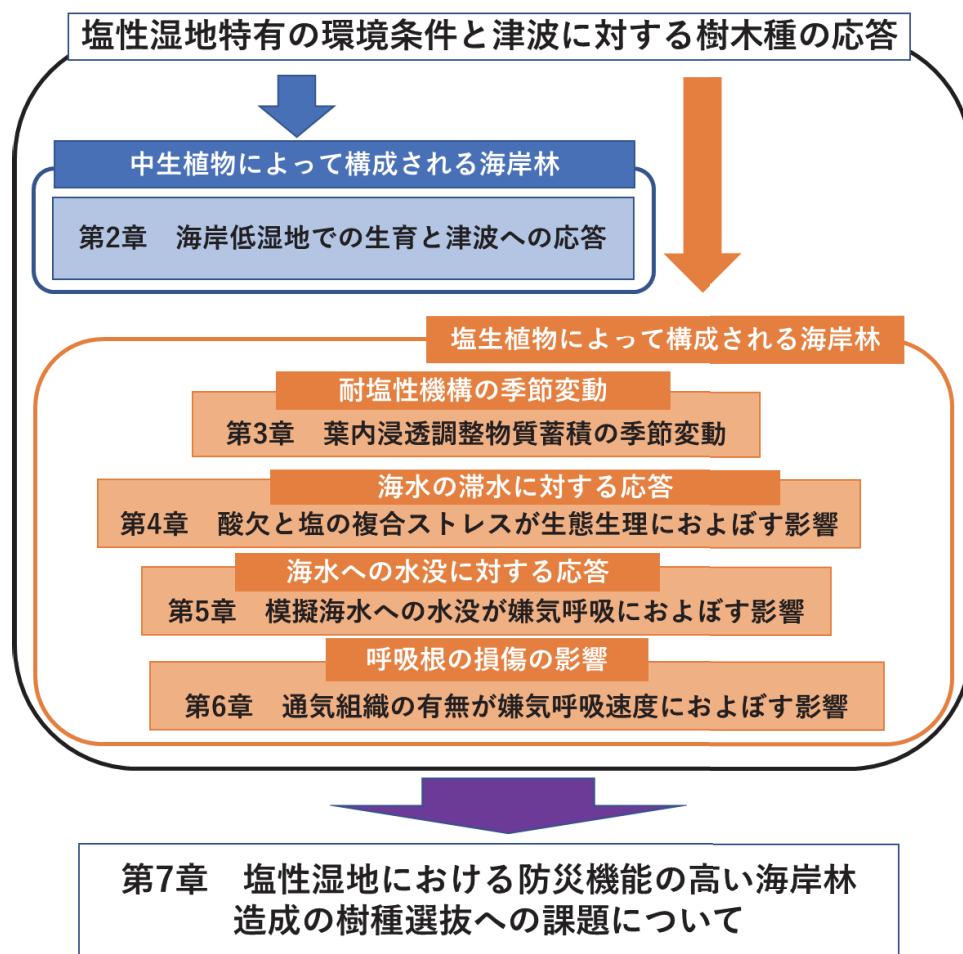


図 1-2 研究フローチャート

Fig. 1-2 The flowchart of study

一需要の増加と需給バランスの崩壊を引き起す可能性も考えられる。そこで第5章では、通気組織が未発達なマングローブ樹種2種の苗木が酸欠ストレスに対して嫌気呼吸速度の増加によって対処しているとの仮説に基づき、海水への水没が嫌気呼吸の代謝産物であるアセトアルデヒドとエタノールの含有量に及ぼす影響を実験により検証した。

マングローブ樹木は、呼吸根と呼ばれる地上部に裸出する根や、間隙に富んだ通気組織を発達させることが知られており、それらによるガス交換の促進や根圏の毒物の無害化などにより、酸欠ストレスに対処しているとされている(Allaway et al. 2001; Purnobasuki and Suzuki 2005; Pi et al. 2009; Naskar and Palit 2015)。マングローブ林林衰退の要因の一つとして、これら呼吸根の埋没による酸欠があげられる(沖縄県環境部自然保護課 2015)。しかし、呼吸根の有無がマングローブ樹木の呼吸におよぼす影響についての知見は少ない。そこで、呼吸根の埋没や津波による破損を想定した呼吸根の地際からの除去がマングローブ樹木であるヒルギダマシ成木の呼吸に及ぼす影響を検証するため、除去後の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を測定し、経時的な変化から嫌気呼吸への影響を考察した。

第7章では、これらの研究結果に基づいて、塩性湿地における湿塩生樹木の生態生理学的特性の把握と、塩性湿地や津波への対策を考慮した海岸林造成、特にゾーニングとその樹種選抜について議論する。

第2章 模擬海水に水没後の冠水環境がヌマスギとクロマツ苗

木の生存と成長に及ぼす影響

2.1 序論

海岸林の多くは防風・防砂・防潮機能を目的として植栽、整備されている。防潮機能には津波、高潮の勢力減衰効果や、漂流物の受け止めなどによる二次災害の防止効果も期待される（田中ら 2006）。一般的に日本の海岸林構成種は、海岸砂丘での乾燥と潮に耐性があるとされている¹⁾クロマツ (*Pinus thunbergii* Parl.)、アカマツ (*Pinus densiflora* Siebold et Zucc.)、シャリンバイ (*Rhaphiolepis indica* (L.) Lindl. ex Ker)、トベラ (*Pittosporum tobira* (Thunb.) W. T. Aiton)、などが植栽されている。しかし近年、海岸林の主要植栽である、クロマツ林の疎林化が問題となっている。クロマツ林衰退の一因として、海岸後背湿地への植栽によるクロマツの過湿害が考えられており、過湿・滞水環境下での生育特性をふまえた植栽樹種の再検討が求められている。そこで、小田 (2000) は千葉県九十九里浜の海岸後背湿地に、強い冠水耐性を持つ樹種として、北米原産の落葉針葉樹・ヌマスギ (*Taxodium distichum* (L.) Rich.) を試験的に植栽し、その後の生育について調査を行った。その結果、海岸後背湿地において、樹高約 20mにまで成長し、垂下根の発達も確認された (小田 2000; 小森谷・福島 2013)。先の東日本大震災の際に試験地も浸水被害にあったが、その後もヌマスギ林が生存していることから、ヌマスギはある程度の耐塩性を保有していることが考えられた。ヌマスギは汽水 (0.8%) への水没では葉への適合溶質の蓄積と、落葉後の胴ぶき (樹幹部の休眠芽の開芽) による復活が確認されている (Iwanaga et al. 2009, 2011) が、海水のような塩水へのヌマスギの耐塩性についての研究は少ない。そこで本研究では、海岸後背湿地への植栽を検討する際に必要となる、海水への水没による生存と成長への影響を明らかにする目的で実験を行った。また、海岸林構成種であるクロマツにも同様の実験を行い、海岸林としての機能評価をするため、その後の生育、生存について観察を行った。観察終了後に掘り取りを行い、伸長・肥大成長量と器官別乾燥重量、耐塩性機構として、適合溶質であるベタイン類の葉への蓄積をそれぞれ計測、分析し、それらを両樹種で比較、考察した。

2.2 材料と方法

2.2.1 材料

ヌマスギとクロマツの二年生苗木を用いた。2014年4月17日に竹本園 (株) より苗木を各樹種 100本ずつ購入し、同年4月18日にヌマスギ、4月22日にクロマツをそれぞれプラスチックポット (452.16 cm² × 25 cm) に植え替えを行った (真砂土: バーク堆肥 = 3:1)。植え替え 1週間後に液肥 (HYPONeX: HYPONeX JAPAN

CORP.LTD.) を 1000 倍に希釈し各ポットに適量与えた。植え替え後は日当たりのよい屋外で、毎朝・夕の二回、十分量水遣りを行って約 1 か月間養生させたのち、同年 5 月 14 日にポット上端高さからの樹幹長、ポット上端高さの直径を計測した（樹幹長はクロマツ:86.8±6.6 cm (Mean±SE)、ヌマスギ:94.8±6.2 cm、ポット上端高さの直径はクロマツ:11.7±1.3 mm、ヌマスギ:10.7±1.6 mm)。両樹種とも 10 処理区に各 7 本ずつ形質が等しくなるように分配し、計 140 本を実験に用いた。

2.2.2 処理方法

3%食塩水を溜めたタンク（7850 cm²×75 cm）に苗木をポットごと頂芽の先端までが浸かるように水没させた。水没時間の設定は千葉県沿岸の東日本大震災の津波周期 6) と海岸後背湿地の地下水位 11) 等を考慮し、24、12、6、3 時間とし、水没させていないものを 0 時間の水没として対照区とした。塩水からの引き揚げ後、水道水を溜めたタンク（11304 cm²×120 cm）に水没させるすすぎ作業（1 回 5 分）を各ポット 2 回ずつ行った。コンテナ（3375 cm²×20 cm）にポットごと苗木を並べ、土壌面まで水道水で冠水させる冠水区（Flooded）と、何もしない非冠水区（Unflooded）に分け、育成した。育成はビニールハウス内で行い、実験期間中のハウス内の環境データは、平均気温:26.1±0.13 °C (Mean±SE)、湿度:87±0.38%、水温:24.3±0.06 °Cであった。冠水区は適宜水道水を注水し、冠水面を維持した。非冠水区は毎朝、夕の二回、柄杓（78.5 cm²×5 cm）で一杯ずつ水遣りを行った。残留塩分の指標として、土壌電気伝導度（以下 EC とする）を測定した。水没処理後・すすぎ処理後・掘り取り前の土壌試料を採取し、送風乾燥機（RY-120HL: アルプ株式会社）で 80°C48 時間乾燥後、1:5 水浸出法に準じて EC を測定した（表 2-1）。水没処理は、2014 年 7 月 4 日 9:00~7 月 5 日 9:00 にクロマツ、同年 7 月 5 日 9:00~7 月 6 日 9:00 にヌマスギに行い、その後 2014 年 10 月 5 日まで育成・観察を行った。

2.2.3 成長測定

ポット上端高さからの樹幹長とポット上端高さの直径を掘り取り前にも計測し、伸長・肥大成長量を算出した。91 日目に掘り取りを行い、葉のサンプルを送風乾燥機（RY-120HL: アルプ株式会社）で 80 °C48 時間乾燥し、乾燥重量を計測した。乾燥重量測定後、葉のベタイン類分析を行った。

2.2.3.1 経過観察

水没処理後 7、14、28、42、56、70、84 日目に経過観察として、クロマツの葉長計測、ヌマスギの先枯れ（頂芽がシュートレベルで枯れあがっている状態）と胴ぶき（樹幹部からの開芽）の有無を目視により確認した。先枯れと胴ぶきは、各処理区で 7 固体中先枯れと胴ぶきしている個体の割合を算出し、先枯れ割合、胴ぶき割合とした。クロマツの葉長は無作為に測定した 7 本の平均をその時点の個体の葉長とした。また、両樹種の葉がすべて茶変・落葉している個体を枯死しているもの

とし、掘り取り時の処理区ごとの枯死本数を枯死率として算出した。一旦「枯死」とした個体に胴ぶきがみられた場合はその時点で「生存・復活」とし直し、掘り取りまでの間にそれらの胴ぶきも枯死した場合は「枯死」とした。

2.2.4 ベタイン類分析

塩水による浸透圧ストレスへの応答として、葉内ベタイン類含有量を測定した。採取した葉が緑色だったすべてのサンプルに対して計測した。ヌマスギ、クロマツともに乾燥重量測定後の葉をベタイン分析用に適量取り、コーヒーミル (IFM-800: 岩谷産業株式会社) を用いて粉末にした。粉末にした試料 65 mg と蒸留水 1 ml を加えて攪拌し、インキュベータを用いて 75 °C で 20 分間熱抽出した。熱抽出した試料分析の直前にフェナシルエステル化反応させ、キャピラリー電気泳動装置 (CAPI-3300: 大塚電子株式会社) にてグリシンベタイン (GB)、 β -アラニンベタイン (β -AB)、 γ -ブチロベタイン (γ -BB) の含有量を計測した。

2.3 結果

2.3.1 枯死率

表 2-2 に各処理における掘り取り時の枯死率を示す。クロマツは、非冠水区では水没時間による枯死率の違いはみられず、24 時間の水没処理でも 14 % に留まった。冠水区は非冠水区に比べて水没時間の長短にかかわらず枯死率が高く、24 時間の水没で 100 % だった。ヌマスギは、水没時間の増加にともなって枯死率も上昇し、6 時間以上の水没での枯死率は非冠水区よりも冠水区で高かった。6 時間の水没では、非冠水区では枯死個体がみられなかったが、冠水区では枯死率が 29 % だった。

2.3.2 クロマツの葉長伸長量とヌマスギの先枯れと胴ぶき

図 2-1 にクロマツの葉長伸長量の推移を示す。クロマツの葉長は、非冠水区では掘り取り前まで伸長成長がみられたが、水没時間の長い処理区で伸長量は減少した。冠水区では水没時間にかかわらず伸長量が減少し、どの水没時間区も非冠水区の同じ時間のものに比べて小さかった。

図 2-2 に各処理におけるヌマスギの胴ぶき割合と先枯れ割合を示す。ヌマスギでは水没処理後 14 日目には先枯れとともに胴ぶきが確認された。冠水区、非冠水区の両方で 6 時間以上の水没区で 86 % 以上の先枯れ割合を示した。冠水区では、最終的に 3 時間の水没処理で先枯れ割合が 43 % となったのに対し、非冠水区では 3 時間の水没処理では先枯れ個体はみられなかった。胴ぶきは、12 時間の水没区で最も早く確認された。掘り取りまでに、非冠水区では 3 時間以上の水没区で胴ぶきが確認され、特に 6 時間の水没区で胴ぶき割合が 100 %、12 時間水没区で 86 % と高かった。冠水区では 0 時間の水没区でも胴ぶき割合が 14 % だったが、最も高い割合を示した 3、12 時間の水没区でも 57 % に留まった。

2.3.3 伸長・肥大成長量

図 2-3 にクロマツとヌマスギの伸長成長量と肥大成長量を示す。クロマツの伸長成長は冠水区と非冠水区で比べると 3 時間以下の水没で非冠水区が有意に大きか

った (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$)。肥大成長では 6 時間水没区を除くすべての水没時間区で非冠水区のほうが冠水区よりも有意に大きく (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$, $p < 0.01$)、6 時間水没区においても同様の傾向がみられた。

ヌマスギの伸長成長は、いずれの水没時間においても、冠水区と非冠水区の間で有意な差は認められなかった (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$, $p < 0.01$)。肥大成長量は、0 時間水没区では冠水区のほうが非冠水区よりも有意に大きく (Mann-Whitney U test, $p < 0.05$)、3 時間以上の水没区では冠水区と非冠水区に有意な差は認められなかった。しかし、水没時間の長い処理区では、伸長・肥大成長量の減少が冠水・非冠水区の両条件でみられ、肥大成長においてその傾向がより顕著であった。

2.3.4 葉の乾燥重量

図 2-4 にクロマツとヌマスギの葉の乾燥重量を示す。クロマツの葉の乾燥重量は、水没処理の時間にかかわらず、非冠水区の方が冠水区よりも有意に大きかった (Mann-Whitney U test, $p < 0.01$) が、ヌマスギでは非冠水区と冠水区の間に明確な違いはみられなかった。また、両樹種ともに水没処理時間の増加にともなって、減少する傾向がみられた。

2.3.5 ベタイン類含有量

図 2-5 にクロマツとヌマスギの GB と β -AB の蓄積量を示す。本実験では両樹種ともに、 γ -BB (γ -ブチロベタイン) は検出されなかった。クロマツの 6、12、24 時間の水没処理と冠水を組み合わせた処理区では枯死葉が多く分析に十分な試料を採取できなかった。3 時間以下の水没区では、GB 含有量が冠水区で増加する傾向がみられ、0 時間の水没区では非冠水区より冠水区で有意に高い GB 濃度が認められた (Steel test, $p < 0.05$)。 β -AB は非冠水区の 24 時間の水没処理区では 0 時間の水没処理区より有意に高くなった (Steel test, $p < 0.05$)。ヌマスギでは、24 時間の水没の冠水・非冠水区では、十分な試料が得られなかった。非冠水区で水没時間の増加にともなう GB・ β -AB 含有量の増加傾向がみられたが、冠水区では明確な傾向はみられなかった。

2.4 考察

2.4.1 塩水での水没処理時間と枯死率

沿岸に生育する植物に対する塩害には地上部への飛塩と根圏の塩濃度上昇の二つに大別される。これらは、ナトリウムイオンなどの陽イオンの過剰流入による生理障害や、土壌間隙水の水ポテンシャルの低下に伴う吸水障害などを引き起こすが (Gucci et al. 1997; Chaves et al. 2009)、その影響はストレス強度やストレスにさらされている時間によりさまざまである (Chaves et al. 2009)。本実験の結果では、塩水への水没時間の長い処理区において、クロマツ・ヌマスギ両樹種の葉のバイオマス量の減少傾向や (図 2-4)、クロマツの樹幹長・葉長の伸長成長が抑制されていた (図 2-1、2-3) ことが認められ、塩ストレスによる細胞伸長の抑制によ

ることが示唆された。一方で、クロマツの枯死率は、非冠水区においては 24 時間の水没でも 14%に留まった(表 2-2)。これらのことから、クロマツは塩水への水没に耐性があり、成長の抑制はみられるものの、水没後の土壌条件次第では枯死しないことが示唆された。ヌマスギは冠水・非冠水にかかわらず、水没時間の増加とともに枯死率の増加と伸長成長の抑制、葉のバイオマスの減少がみられたことから、塩水の水没に対する耐性はクロマツに比べ低いことが示された。

2.4.2 育成期間の冠水・非冠水処理が回復に及ぼす影響

土壌が冠水することによる冠水ストレスの影響は一般的に植物体の根圏の酸素欠乏や土壌の還元化による有害物質の蓄積などが知られている(Kozlowski 1997; Pezeshki and DeLaune 2012)。この状態が長期化すると冠水に耐性がない種は、根の代謝不良とそれに伴う根端や毛根の壊死、嫌気代謝による有毒物質の蓄積や根圏土壌の有害金属の蓄積などにより様々な生理障害が現れる(Kozlowski 1997; Voesenek and Bailey-Serres 2013)。本実験では、クロマツとヌマスギの両樹種で塩水に水没し、冠水/非冠水状態で育成したが、ヌマスギよりもクロマツにおいて、塩水からの引き上げ後の冠水処理がより顕著な枯死率の増加と成長抑制をもたらした(表 2-2、図 2-3、2-4)。一方、ヌマスギでは冠水区と非冠水区で、伸長成長量や葉のバイオマスにクロマツほどの違いがみられなかった。これは、冠水ストレスによって葉量・光合成速度の低下が小さく、成長の抑制がみられなかったとする既往の研究と合致した(Zulfikar et al. 2002)。しかし、クロマツと同様に掘り取り時の枯死率では、冠水区のほうが非冠水区よりも高くなった。また、クロマツでは冠水/非冠水処理期間での胴ぶきは認められなかったが、ヌマスギでは水没処理後 14 日目には胴ぶきによる新葉の展開がみられた。ヌマスギの冠水区では、6 時間の水没でも胴ぶき割合が 43%と低く、また、枯死率は 29%と非冠水区に比べて高かった。同様に、3 時間の水没で非冠水区では先枯れ割合が 0%であったのに対して、冠水区では 43%と大きく異なった。そのため、冠水ストレス単独では生育可能(Zulfikar et al. 2002)なヌマスギにおいても、塩ストレスが複合的に作用する際には、冠水ストレスも生存・成長に影響すると考えられる。また、ヌマスギは冠水区で非冠水区よりも直径成長量が大きくなっていったことから、樹幹の過剰肥大が起こっていたと考えられる(Yamamoto 1992)。通気組織での塩類集積も示唆されており(Iwanaga et al. 2009)、根系を含めた樹体内での塩類の挙動について、さらなる詳細を明らかにすることが複合的なストレスに対する応答を明らかにするうえで必要である。

また、ヌマスギの胴ぶきによる復活は Iwanaga ら(2011)の汽水への水没実験の結果と合致し、本実験によって海水を想定した塩水への水没でも比較的短時間であれば、胴ぶきによる復活の可能性が十分にあることが示唆された。Iwanaga ら(2009)の報告では水没からの解放後に新たに展開された胴ぶき葉の Na イオンの含有率が高かったことから、土壌中の残留塩類が流入した可能性を示唆している。

本実験でもすすぎ処理後の土壌 EC はクロマツとヌマスギの両樹種とも、水没 0 時間処理区の 0.1 dS/m 前後に比べて高く (表 2-1)、また、掘り取り前の土壌の EC は、冠水区、非冠水区ともに、土壌塩分 0.1 %に相当する EC 0.3 dS/m 以下であった。そのため、冠水処理や灌漑水中への溶脱によって、土壌の残留塩分濃度が徐々に低くなっていったものの、すすぎ直後は残留塩の影響があったと考えられる。

ベタイン類などの適合溶質は塩ストレスによる浸透圧ストレスに対処するために葉などで蓄積がみられる有機化合物で、比較的若齢の葉に多く蓄積される (Gucci et al. 1997; 香口ら 2013)。本実験では葉内陽イオン濃度を未測定のため老齢葉への残留塩の影響を議論できないが、クロマツは、非冠水区の 24 時間の水没で 0 時間の水没よりも B-AB の増加がみられ、塩水水没、および土壌の残留塩分が影響したと考えられる。一方で、ヌマスギでは塩処理時間の増加による明らかなベタイン増加は認められなかった。クロマツでは冠水区における GB 濃度が、0 時間の水没処理区でも GB の増加がみられており、冠水ストレスによって根系の機能低下が、地上部の乾燥を誘引した可能性も示唆された。

2.5 結論

クロマツは一般的に言われているように塩耐性が高く排水性の良い土地での生育が良好であるが、過湿環境に弱く、植栽は難しいことが本研究においても示され、既報と一貫している。一方、ヌマスギは塩ストレスに弱く、海水への水没では非冠水条件では長くても 12 時間、冠水条件下では 6 時間が限度であることが示唆された。そのため海岸防災林として海岸後背湿地への植栽を検討する際は、津波等によって長時間水没するような土地への植栽は控えるか、長時間水没した場合は再植栽が必要であり、コスト面で問題があると考えられる。また、潮風に弱いことも報告されているため (小田 2000; 小森谷・福島 2013)、ヌマスギを海岸防災林とする場合は、津波などの際の漂流物の受け止め効果は期待できるが、防風、防砂機能は期待できず、前面にはクロマツ林などをしっかり整備することが前提となる。一方で、ヌマスギを海岸林へ導入することによる生態系への影響については研究例が少ない。本実験のモデルとなった九十九里浜においても実生での新たな繁殖は確認されていないが (小森谷・福島 2013)、成長にともない繁殖力が強くなる可能性も否定できない。外来樹木であるヌマスギの海岸林への利用を検討する際には、分布拡大による周辺生態系への影響を評価するためにも、実生の定着や発芽、繁殖様式と環境条件についても明らかにしていく必要がある。

本実験の結果から、クロマツとヌマスギは複合的なストレスを受けた場合に、単独ストレスの場合とは異なる応答をすることが示唆された。今後は、他の適合溶質、地下部バイオマスの成分分析、活性酸素に対する応答などについて調べることで、本研究の冠水+塩ストレスといった複合的なストレスに対する樹木の応答をさらに明らかにできると考えられる。また、本実験のヌマスギでは、水没処理からの引き揚げ後 14 日までに形態的な変化が顕著に見られたため、短い期間での葉内成分や

陽イオンの動きを調査することも複合ストレス応答の解明に重要と考えられる。

2.6 図表

表 2-1 クロマツとヌマスギにおける水没処理後、すすぎ処理後、掘り取り時の平均土壌 EC

値は平均±標準誤差で表す。

Table 2-1 Soil EC after submergence, after rinse and before harvest of *P. thunbergii* and *T. distichum*.

Values indicate mean ± SE (dS/m) .

Species	Treatment	Submerged period (h)	Soil Electrical Conductivity (dS/m)		
			After Submergence	After Rinse	Before Harvest
<i>P. thunbergii</i>	Unflooded	0	0.09 ± 0.01		0.10 ± 0.01
		3	1.66 ± 0.14	0.65 ± 0.09	0.15 ± 0.04
		6	2.07 ± 0.13	0.77 ± 0.07	0.21 ± 0.01
		12	2.48 ± 0.24	0.91 ± 0.09	0.07 ± 0.00
		24	2.51 ± 0.16	1.24 ± 0.08	0.11 ± 0.01
	Flooded	0	0.07 ± 0.00		0.20 ± 0.01
		3	1.78 ± 0.25	0.98 ± 0.12	0.25 ± 0.04
		6	1.62 ± 0.13	0.72 ± 0.08	0.09 ± 0.01
		12	1.95 ± 0.12	0.98 ± 0.07	0.24 ± 0.03
		24	2.33 ± 0.20	1.22 ± 0.05	0.24 ± 0.02
<i>T. distichum</i>	Unflooded	0	0.10 ± 0.01		0.09 ± 0.01
		3	1.69 ± 0.12	1.03 ± 0.09	0.08 ± 0.01
		6	2.08 ± 0.18	1.26 ± 0.12	0.18 ± 0.02
		12	2.27 ± 0.09	1.16 ± 0.09	0.09 ± 0.01
		24	2.57 ± 0.18	1.36 ± 0.11	0.10 ± 0.01
	Flooded	0	0.10 ± 0.01		0.22 ± 0.03
		3	1.89 ± 0.18	0.98 ± 0.06	0.26 ± 0.04
		6	2.36 ± 0.13	1.12 ± 0.07	0.09 ± 0.01
		12	2.23 ± 0.14	1.29 ± 0.15	0.16 ± 0.02
		24	2.96 ± 0.22	1.49 ± 0.08	0.16 ± 0.01

表 2-2 掘り取り時のクロマツとヌマスギの枯死率

Table 2-2 Mortality rate of *P. thunbergii* and *T. distichum* saplings at the time of harvest

Submerged period (h)	Mortality rate (%)			
	<i>P. thunbergii</i>		<i>T. distichum</i>	
	Unflooded	Flooded	Unflooded	Flooded
0	0	29	0	0
3	0	57	0	0
6	14	71	0	29
12	0	86	29	57
24	14	100	86	100

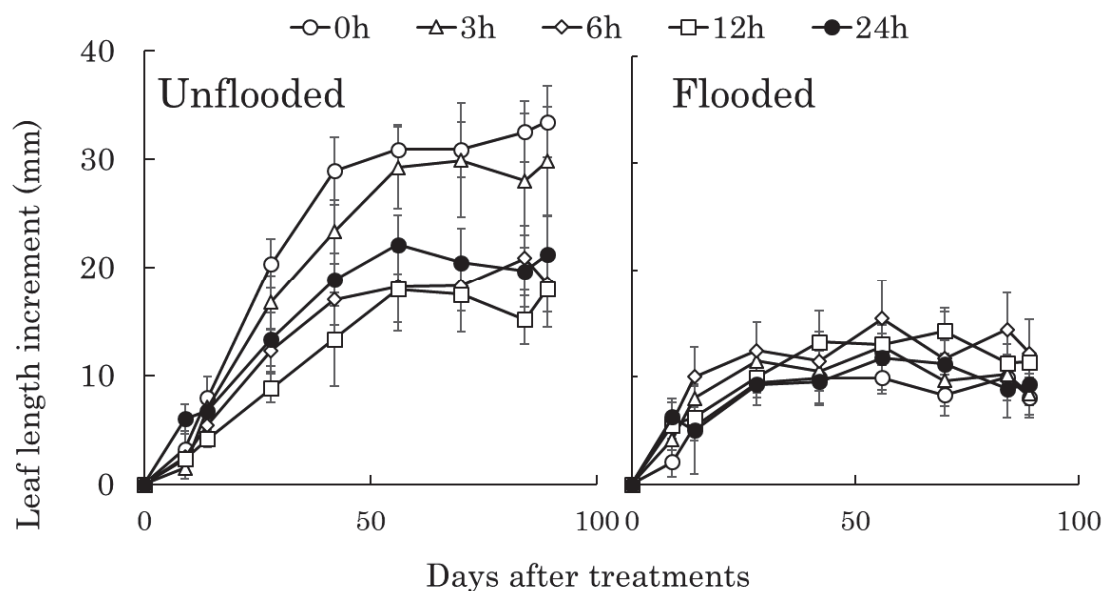


図 2-1 水没処理後の非冠水 (左)、冠水 (右) 環境でのクロマツの葉長伸長量の推移

凡例の UF: 非冠水区、F: 冠水区、数字は水没時間 (hr) を示し、グラフ上の縦棒は標準誤差を示す

Fig. 2-1 Changes in leaf length increment of *P. thunbergii* saplings of each treatment

In the figure, UF indicates Unflooded and F indicates Flooded. Each number in the legend indicates hours of submergence, and error bars indicate standard errors.

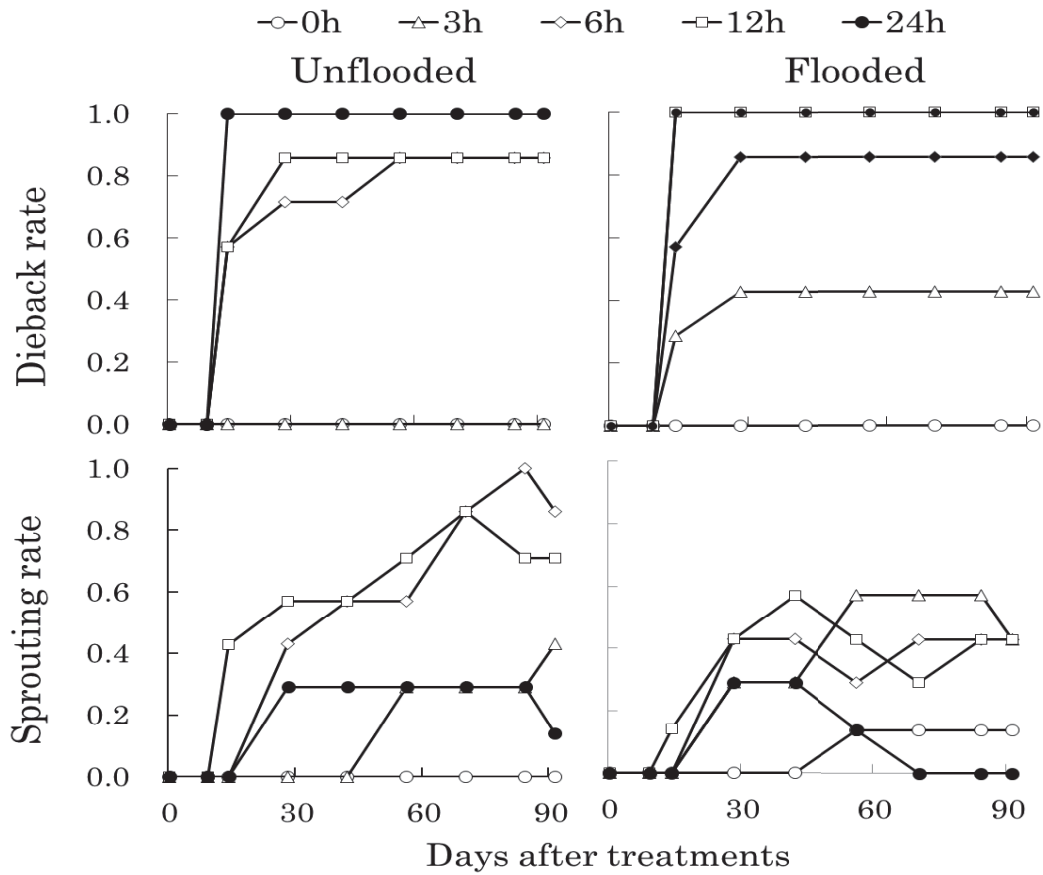


図 2-2 水没処理後の非冠水 (左)、冠水 (右) 環境でのヌマスギの先枯れ割合 (上) と胴ぶき割合 (下) の推移

凡例の UF: 非冠水区、F: 冠水区、数字は水没時間 (hr) を示す

Fig. 2-2 Changes in ratio of dieback (upper) and bud sprouting (lower) in *T. distichum* saplings grown under unflooded (left: UF) and flooded (right: F) conditions after submergence treatments

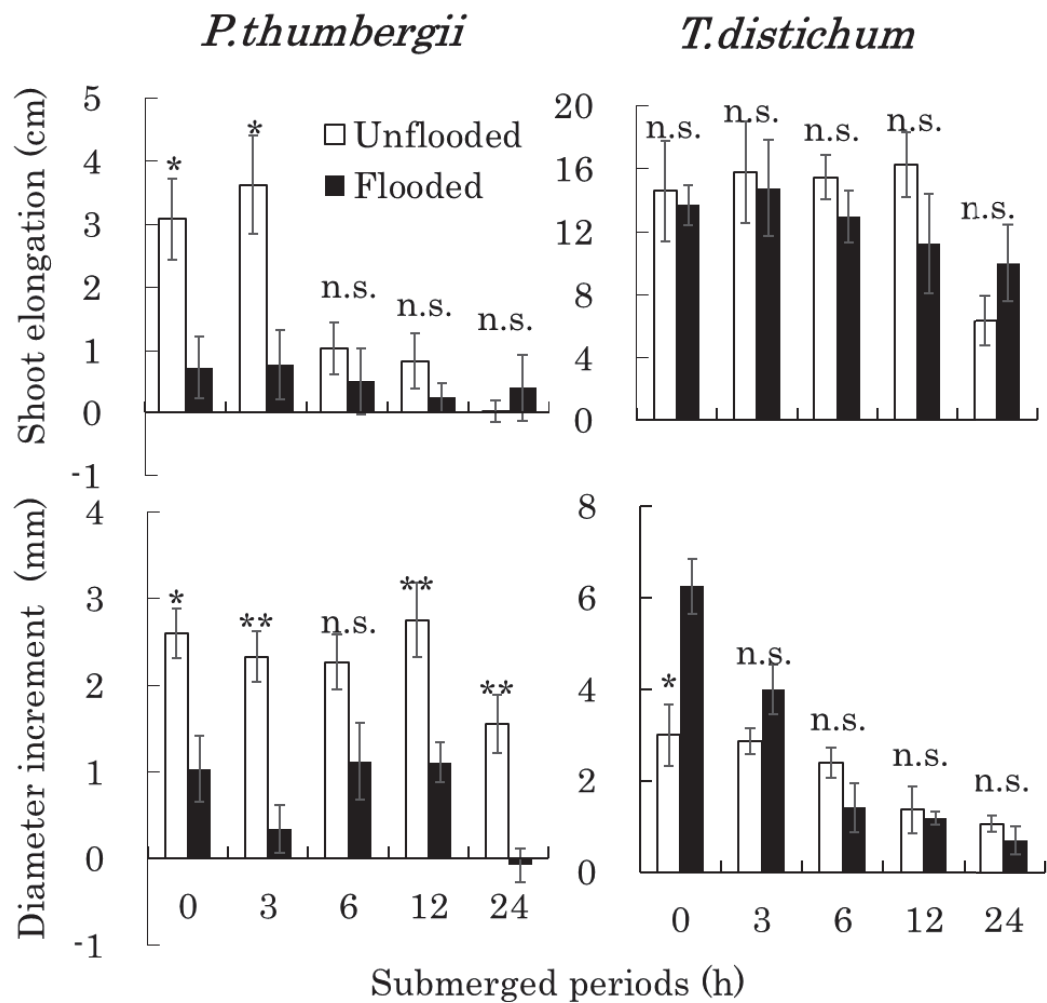


図 2-3 掘り取り前のクロマツ (左) とヌマスギ (右) の伸長成長量 (上) と肥大成長量 (下)
 グラフ上の縦線は標準誤差を表し、星印は非冠水区と冠水区の間に有意差があることを示す
 (Mann-Whitney U test (*p < 0.05, **p < 0.01))

Fig. 2-3 Shoot elongation (upper) and stem diameter increment (lower) in *P. thunbergii* (left) and *T. distichum* (right) saplings at the end of experiments.

Error bars indicate standard errors, and asterisks indicate significant difference between unflooded and flooded conditions for curing. (Mann-Whitney U test (*p < 0.05, **p < 0.01))

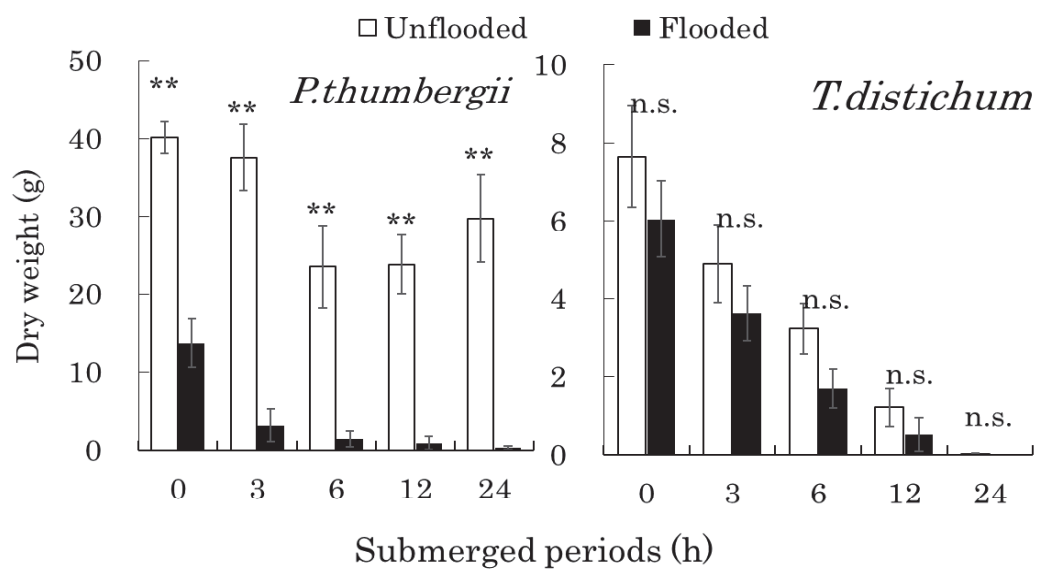


図 2-4 クロマツ (左) とヌマスギ (右) の葉の乾燥重量

グラフ上の縦線は標準誤差を表し、星印は非冠水区と冠水区の間に有意差があることを示す (Mann-Whitney U test ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$))

Fig. 2-4 Dry weights of the leaves of *P. thunbergii* (left) and *T. distichum* (right) saplings in each treatment.

Error bars indicate standard errors, and asterisks indicate significant differences between unflooding and flooding conditions for curing (Mann-Whitney U test ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$))

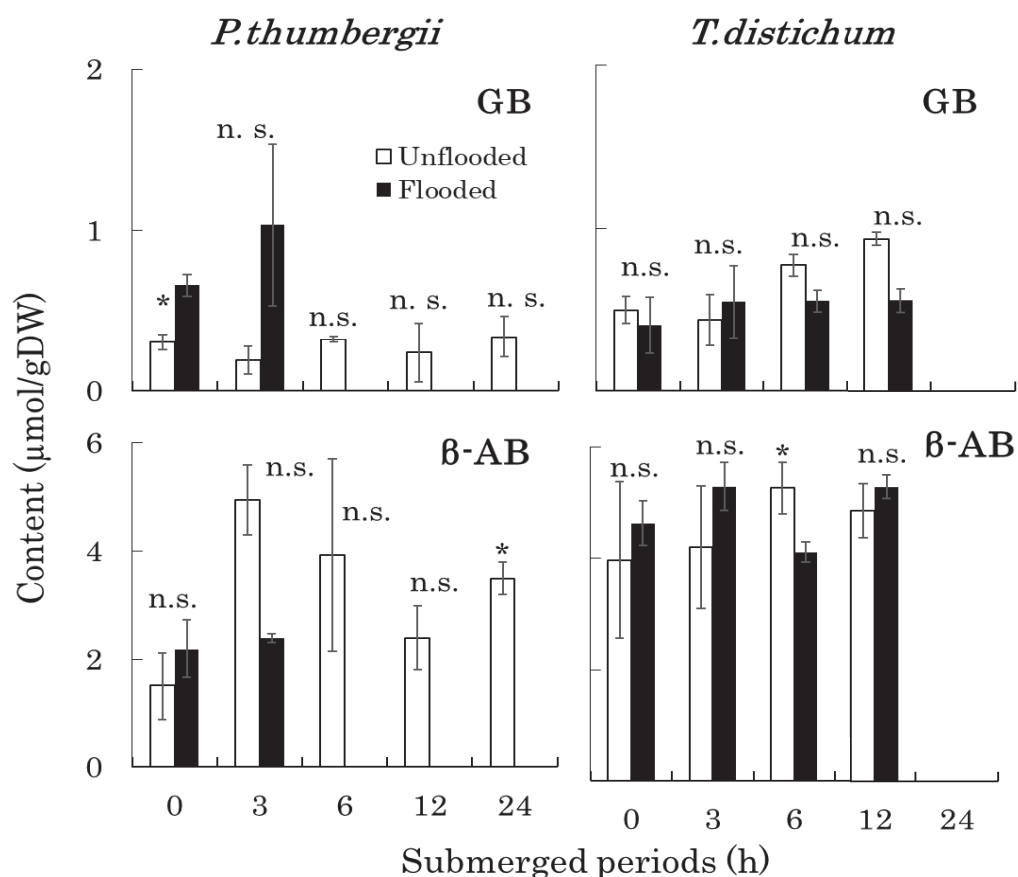


図 2-5 クロマツ (左) とヌマスギ (右) の葉のベタイン類含有量

図中の GB はグリシンベタインを、β-AB はベータ-アラニンベタインをそれぞれ表す。グラフ上の縦棒は標準誤差を表し、星印は対照区 (0h: 水没なし、非冠水区) と有意差があることを示す (Steel test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$))

Fig. 2-5 Contents of betaines in leaves of *P. thunbergii* (left) and *T. distichum* (right) saplings in each treatment

GB and β-AB in the figure indicate glycine betaine and β-alanine betaine respectively. Error bars indicate standard errors, and asterisks indicate significant differences from values of control (0 h: unsubmerged, unflooded) (Steel test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)).

第3章 沖縄県内に植栽されたマングローブ樹種5種における

葉の浸透調整物質蓄積の季節変動

3.1 序論

近年、沿岸生態系の持つ多様な生体機能に注目が集まっている (Spalding et al. 2014)。特にマングローブと総称される塩生植物群は、世界の沿岸地域の数%を占めるに過ぎないが、用材や薪炭材生産の場であるとともに、波浪減衰や海岸浸食の軽減 (Nguyen 2014; Spalding et al. 2014) などの機能が報告されている。しかしながら、沿岸域での土地利用や開発の増加によるマングローブ林面積の減少と劣化が著しい (Janssen and Padilla 1999; FAO 2007)。そのため、マングローブ林の保全・再生を目的とした植林が行われているが (Chowdhury and Maiti 2014)、その成否は気候条件や水文条件などに大きく左右される (Elster 2000; Bashan et al. 2013)。

マングローブ樹種は熱帯・亜熱帯域の潮間帯に生育するため、高い耐塩性を持つ (Krauss et al. 2008)。一般に、塩ストレスは浸透圧ストレスとイオンストレスに分けられ、前者は根圏の浸透ポテンシャルの低下にともなう吸水阻害、後者は塩由来の Na^+ などが植物体中で高濃度になることによるイオンバランスの崩壊である (Zhu 2001)。マングローブ樹種はこれらのストレスに対して、イオンの選択的吸収や過剰イオンの排出および隔離 (川満 et al. 1997; Krauss et al. 2008; Zhu et al. 2011; Reef and Lovelock 2015)、適合溶質と呼ばれる細胞質中で無害な高分子有機化合物の蓄積 (Hibino et al. 2001; Waditee et al. 2002; 岩永ら. 2013) によって対処しており、これらの耐塩性機構の組み合わせと発現強度は、利用水の塩濃度や樹種によって大きく異なる。

同時にマングローブ樹種の耐塩性は、それぞれの特性だけではなく、生育地の気候・水文条件にも影響されることが予想される。しかし、環境条件と耐塩性機構の機能性に関する研究は乏しく、とくに、マングローブ樹種の分布北端に位置する日本において、環境条件が耐塩性機構に及ぼす影響を考察した例はない。

本研究では、マングローブ樹種の耐塩性機構のうち、特に浸透圧調整に注目し、その樹種間差や環境条件の季節的な変動が浸透圧調整に及ぼす影響について明らかにすることを目的に、マングローブ5樹種の浸透調整物質として陽イオン4種、可溶性糖9種、糖アルコール4種を異なる季節で調査した。

3.2 材料と方法

3.2.1 調査地

沖縄県うるま市の中城湾沿岸 (北緯 $26^{\circ} 20' 20.0''$, 東経 $127^{\circ} 51' 06.9''$ 付近) に植栽されたマングローブ樹種を対象として調査を行った。調査地域は、埋め立て地

周辺にある用水路護岸部に設置されている。用水路は流入河川がなく、外洋と連続した水路であることから、塩分変動などは外洋と連動しているものと仮定し、海水温と塩分データは気象庁海洋観測資料の各層データ（表層）のうち、沖縄島近海のものを使用した（http://www.data.jma.go.jp/gmd/kaiyou/db/vessel_obs/data-report/html/ship）。気象データは調査地に最も近い気象庁宮城観測所のデータ（<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn>）を使用した。

3.2.2 対象樹種

調査地には、2001年までにメヒルギ（*Kandelia obovata* Sheue, H.Y.Liu et W.H.Yong）、オヒルギ（*Bruguiera gymnorrhiza* (L.) Lam.）、ヤエヤマヒルギ（*Rhizophora stylosa* Griff.）、ヒルギダマシ（*Avicennia marina* (Forssk.) Vierh）の4種が、同年12月にヒルギモドキ（*Lumnitzera racemose* Willd.）が植栽された（沖縄県環境部、2015）。各樹種で5個体を選抜し、計25個体を対象木とした。樹高はそれぞれ、メヒルギ：134.8 ± 6.2 cm、オヒルギ：177.6 ± 10.5 cm、ヤエヤマヒルギ：221.4 ± 5.8 cm、ヒルギダマシ：163.0 ± 18.7 cm、ヒルギモドキ：204.0 ± 16.3 cm だった。

3.2.3 方法

3.2.3.1 試料採取

試料採取日は2011年3月27日、5月17日、7月15日、9月9日、同年12月17日の約2か月ごとに計5回行った。いずれの採取日においても干満の影響を除くため、正午が干潮になる日を選んで葉試料を採取した。葉試料の採取は、各個体で異なる5つの枝で頂端から5、6番目にあたる成熟葉を複数枚ずつ採取し、蒸留水で葉表面の泥や塩を洗浄、水分をふき取った。採取した葉を細かく刻んで0.8 g 測り取って80%エタノールに浸漬し、残りの葉試料は封筒に入れ、その場で生重量を測定したのち実験室へ持ち帰り、80℃で48時間以上乾燥させ（DKN812, DN810, ヤマト科学株式会社）、乾燥重量を測定した。乾燥試料を陽イオン含有量分析用試料、エタノールに浸漬した試料を可溶性糖・糖アルコール分析用試料とした。なお、ヒルギモドキの5~12月に関しては採取対象木の樹幹が著しく折損して採取できなかったため、個体数は3ずつである。

3.2.3.2 陽イオン分析

葉試料中のNa⁺、K⁺、Mg²⁺およびCa²⁺含有量を測定した。80℃で48時間以上乾燥させた葉試料を粉砕して250 mg 秤量し、混酸（硝酸：過塩素酸：硫酸=10：4：1）を加え湿式灰化を行ったのち、原子吸光分光光度計（AA-6700、島津製作所）を用いて陽イオン含有量の測定を行った。

3.2.3.3 可溶性糖・糖アルコール分析

80%エタノールに浸漬した葉試料を粉砕後、5000 rpm で10分間遠心分離し上澄みを分取する工程を3回行い、抽出液とした。抽出液中のエタノールを50℃に設定した乾燥機内で蒸発させたのち、蒸留水で10 ml に定容した。孔径0.45 μm

のメンブレンフィルターでろ過し、ポストカラム分析法 (Murata et al. 2012) にて可溶性糖および糖アルコール含有量の計測を行った。分析対象とした可溶性糖はスクロース、マルトース、ラクトース、ラムノース、マンノース、フルクトース、ガラクトース、キシロース、グルコースの 9 種、糖アルコールはピニトール、ソルビトール、イノシトール、マンニトールの 4 種とした。

3.2.4 統計解析

浸透圧調整物質の樹種間差、および季節変動を考察するため、陽イオン含有量、可溶性糖含有量、糖アルコール含有量のデータを用いて統計解析を行った (R version 3.3.2, 使用パッケージは mltcomp (R Development Core Team 2014))。樹種間、および採取月間の多重比較は TukeyHSD test によって行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。

可溶性糖、および糖アルコール含有量に影響する要因について、一般化線形モデル (以下 GLM) を用いた解析をおこなった。応答変数は全可溶性糖含有量と全糖アルコール含有量、確率分布はガンマ分布、リンク関数には逆数リンク関数を用いた。本調査データのうち、応答変数に何らかの影響があると報告されている以下のデータを説明変数として使用した (Nemati et al. 2011; Qiang et al. 2012)。全可溶性糖含有量を応答変数としたモデルでは、平均気温と $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比、 Ca^{2+} 含有量および全糖アルコール含有量を、全糖アルコール含有量を応答変数とするモデルでは、採取前 1 週間の降水量、平均気温、 $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比および全可溶性糖含有量を使用し、交互作用を除くすべての変数の組み合わせのうち最も AIC の低いモデルの説明変数の組み合わせ、およびその係数の推定値について検討した。また、係数の推定値がゼロである可能性について、その 95% Wald CI にゼロが含まれるかどうかを検討した。説明変数はすべて数値型で、標本数は積算降水量、平均気温、積算日射量は各採取月で 1 ずつ、陽イオン含有量、全可溶性糖含有量、および全糖アルコール含有量は各採取月で各樹種 5 (ヒルギモドキの 5~12 月は 3) ずつである。

3.3 結果

3.3.1 環境条件

2011 年の調査地近傍の気候データと、調査地近海の海洋データを表 3-1 に示す。降水量は、月の積算値および葉試料採取前 1 週間の積算値ともに 5 月が最も多かった。平均気温および日射量においては、7 月と 9 月で高かった。外洋塩分は調査期間中を通じてほとんど変化が認められなかった。

3.3.2 陽イオン含有量

樹種ごとの各採取月の葉中陽イオン含有量の季節変動を図 3-1 に示す。

Na^+ 含有量はメヒルギ < ヤエヤマヒルギ < オヒルギ < ヒルギダマシ < ヒルギモドキの順に高い傾向が認められ、メヒルギとヤエヤマヒルギの間以外で統計学的有意差が認められた。 K^+ 含有量はオヒルギ < ヤエヤマヒルギ、ヒルギモドキ < メヒルギ < ヒルギダマシの順に高い傾向が認められ、メヒルギとヒルギダマシおよびヒルギモ

キオヒルギの間と、ヤエヤマヒルギとヒルギモドキの間以外で統計学的有意差が認められた。Na⁺ : K⁺比はメヒルギ<ヤエヤマヒルギ、ヒルギダマシ<ヒルギモドキ<オヒルギの順に高い傾向が認められ、メヒルギとオヒルギ、ヒルギダマシおよびヒルギモドキの間、オヒルギと他の樹種の間、ヤエヤマヒルギとヒルギモドキの間、ヒルギダマシとヒルギモドキの間で統計学的有意差が認められた。

Mg²⁺含有量はオヒルギ、メヒルギ<ヤエヤマヒルギ、ヒルギモドキ<ヒルギダマシの順に高い傾向が認められ、メヒルギとヒルギダマシの間、オヒルギとヤエヤマヒルギ、ヒルギダマシ、およびヒルギモドキの間で統計学的有意差が認められた。Ca²⁺含有量はヒルギダマシ<オヒルギ、メヒルギ、ヤエヤマヒルギ<ヒルギモドキの順に高い傾向が認められ、メヒルギ、オヒルギ、ヤエヤマヒルギとヒルギダマシおよびヒルギモドキそれぞれの間、ヒルギダマシとヒルギモドキの間に統計学的有意差が認められた。Na⁺ : Ca²⁺比はヒルギダマシが最も高く、ほかの樹種との間で統計学的有意差が認められた。

陽イオン含有量は、樹種間の違いは認められたものの、種内での統一的な季節変動傾向は認められなかった。

3.3.3 糖・糖アルコール含有量

各樹種の糖と糖アルコールの分析結果を表 3-2、樹種ごとの各採取月の全可溶性糖含有量と全糖アルコール含有量を図 3-2 に示す。ヒルギモドキでは分析対象とした可溶性糖の 9 種すべてが検出され、その他の 4 種では 7 種が検出された。糖アルコールについてはメヒルギとヤエヤマヒルギではピニトール、ソルビトール、イノシトールの 3 種が、オヒルギ、ヒルギダマシ、ヒルギモドキではソルビトールとマンニトールの 2 種が検出された。

全可溶性糖含有量および全アルコール含有量では、全糖アルコール含有量の一部において統計学的有意差が認められたものの、樹種間での明確な違いは認められなかった。

全可溶性糖含有量は、5 樹種すべてにおいて 3 月が最も高く、3 月と他の月との間に有意な差が認められた。ヤエヤマヒルギを除く 4 種で、12 月が 3 月に次いで高い傾向が認められ、オヒルギは 12 月と他の月の間に、メヒルギとヒルギダマシ、ヒルギモドキでは 12 月と 3、5、9 月との間に有意な差が認められた。同様にヤエヤマヒルギを除く 4 種では、5 月で全可溶性糖含有量が最も低くなる傾向が認められ、メヒルギでは 5 月と 3、7、12 月との間、オヒルギとヒルギダマシ、ヒルギモドキでは 5 月と 3、12 月との間に有意な差が認められた。

全糖アルコール含有量は、メヒルギは 3、7、12 月と 5、9 月の間に、オヒルギで 3、5、7、12 月と 9 月の間に、ヤエヤマヒルギで 3 月と 5、7、9 月の間に、ヒルギダマシで 3 月と 5、7、12 月との間、および 5 月と 3、7 月との間に有意な差が認められたが、種に共通する変動パターンは認められなかった。ヒルギモドキの全糖アルコール含有量の採取月間に有意な差は認められなかったが、3 月<12 月<5 月

<9月<7月の順に、夏季に多い傾向が認められた。

3.3.4 可溶性糖と糖アルコールを応答変数とした GLM とその AIC による最適予測モデル選択

各樹種の全可溶性糖含有量と全糖アルコール含有量を応答変数とした GLM の最小 AIC モデルとその AIC、説明変数、およびその係数を表 3-3 に示す。

全可溶性糖含有量を応答変数とした GLM の最小 AIC モデルで選ばれた説明変数は、メヒルギで平均気温、 $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比、 Ca^{2+} 、および全糖アルコール含有量、オヒルギで平均気温、ヤエヤマヒルギで平均気温、 $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比、および全糖アルコール含有量、ヒルギダマシで平均気温、ヒルギモドキで $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比であり、ヒルギモドキ以外の 4 種で平均気温が説明変数に含まれた。これらの説明変数のうち、メヒルギの全糖アルコール含有量、オヒルギの平均気温、ヤエヤマヒルギの $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比、および全糖アルコール含有量、ヒルギダマシの平均気温の係数推定値の 95% Wald CI にはゼロが含まれなかった。

全糖アルコール含有量を応答変数とした GLM の最小 AIC モデルの説明変数は、メヒルギとオヒルギでは選ばれず、ヤエヤマヒルギで平均気温、ヒルギダマシで降水量と全可溶性糖含有量、ヒルギモドキで $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比だった。これらの説明変数のうち、ヤエヤマヒルギの平均気温、ヒルギダマシの降水量と全可溶性糖含有量の係数推定値の 95% Wald CI にはゼロが含まれなかった。

3.4 考察

3.4.1 浸透調節物質蓄積の樹種間差

マングローブ樹種はその耐塩性機構により 1) Salt excluders : 塩分の流入を最小化する種と 2) Salt secretors : 塩腺などの塩分の排出機構をもつ種、および 3) Salt accumulators : 液胞などの組織に塩分をため込む種の 3 種に分けられ、1) Salt excluders にはメヒルギ属、オヒルギ属、ヤエヤマヒルギ属の種が含まれ、2) Salt secretors には、ヒルギダマシ属の種が、3) Salt accumulators にはヒルギモドキ属の種が含まれる (Scholander 1968; 川満ら 1997; Krauss et al. 2008; Parida and Jha 2010)。 Na^+ は細胞質内で高濃度になると酵素活性の阻害や細胞膜構造の破壊の要因となるが、 K^+ は細胞質中で高濃度になっても無害であるだけでなく、代謝や酵素活性、耐塩性機構の維持などに重要な役割を果たす。また、植物において Ca^{2+} は細胞壁構造や酵素活性、シグナル伝達などに、 Mg^{2+} は葉緑体などに利用されており、 NaCl ストレスにより増減することが知られている (Parida and Das 2005; Parida and Jha 2010; Qiang et al. 2012; Lang et al. 2014; Fan et al. 2017)。

本研究では、 Na^+ 含有量はメヒルギ<ヤエヤマヒルギ<オヒルギ<ヒルギダマシ<ヒルギモドキの順に、 $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比はメヒルギ<ヤエヤマヒルギ<ヒルギダマシ<ヒルギモドキ<オヒルギの順に、 $\text{Na}^+ : \text{Ca}^{2+}$ 比はメヒルギ<ヤエヤマヒルギ<オヒルギ<ヒルギモドキ<ヒルギダマシの順に高い傾向が認められた。メヒルギの Na^+ 含有量と $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比の低さ、オヒルギの $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ 比の高さ、ヤエヤマヒルギの Na^+ 含有量の

低さなどは(川満 et al. 1997)の報告に沿うものであるとともに、これらヒルギ科3種のNa⁺含有量の少なさは、Na⁺のろ過能力の高いSalt excludersの特徴とも一致する。ヒルギダマシとヒルギモドキのNa⁺含有量が高かったのは、Na⁺を積極的に浸透調整に利用しているためと考えられる(Chen et al. 2010; Parida and Jha 2010; Naidoo et al. 2011)。さらに、ヒルギダマシのK⁺含有量が他の4種に比べて高かったことは、Na⁺/K⁺ポンプによるNa⁺の排出や高親和性K⁺トランスポーターによるK⁺の取り込みと蓄積が活発だったためと考えられ(Parida and Jha 2010)、塩腺からの排塩を積極的に行うSalt secretorsに特有のものと考えられる。ヒルギモドキの高いCa²⁺含有量は、イオン輸送などを担う細胞膜の機能を保つためと考えられ(Parida and Das 2005; Parida and Jha 2010)、Salt accumulatorsの特徴にも合致する。

マングローブ樹種の浸透調整物質として、Na⁺やK⁺の他に糖アルコールも報告されており、Na⁺:K⁺比の不均衡がこれらの浸透調整物質合成に影響することが予想される(Hibino et al. 2001; Parida et al. 2004; Krauss et al. 2008; Parida and Jha 2010; Sreeshan et al. 2014)。本研究では、メヒルギとヤエヤマヒルギからピニトールが、5種すべてからマンニトールが検出され既報に沿うものとなった(Parida and Jha 2010)。しかしながら、メヒルギとヤエヤマヒルギのピニトール、オヒルギとヤエヤマヒルギのマンニトールは、採取時期によっては不検出か、全糖アルコール含有量に占める割合が非常に低かった。糖アルコールを応答変数としたGLMは、ヒルギモドキを除いた4種で、Na⁺:K⁺比が説明変数に含まれておらず、唯一含まれていたヒルギモドキにおいても、95% Wald CIにはゼロが含まれており、推定値の信頼性が確保されなかった。これらの結果より、本調査地では、糖アルコール類の蓄積にNa⁺:K⁺比の影響は小さく、糖アルコール類の浸透調整の役割は小さいと考えられる。

3.4.2 各樹種の浸透調整物質蓄積の季節変動

植物体内の陽イオン含有量の多くは、利用する水分中の塩分に影響を受ける。本調査地近海の塩分は採取期間を通じて変動がなく、調査対象の葉の陽イオン含有量は5樹種とも季節変動がほとんど認められなかった。

一方で、全可溶性糖含有量と全糖アルコール含有量は、季節変動が認められ、全可溶性糖含有量の変動パターンは5種ともに5月<9月<7月<12月<3月の順に大きくなる傾向でおおむね共通していた。また、全可溶性糖含有量を応答変数としたGLMはヒルギモドキを除く4種において最小AICモデルの説明変数として平均気温が選択され、オヒルギとヒルギダマシではその係数推定値の95% Wald CIにゼロが含まれなかった。これらのことから、対象樹種の可溶性糖蓄積の季節変化には気温の影響が考えられる。

一般に、植物の冬季の糖含有量の増加は耐凍性によるものが多く報告されており、熱帯や亜熱帯地域の植物が12℃程度で低温障害を受けることも知られている(酒

井 1960)。一方で、低温処理による代謝活性の低下および代謝経路の変化と、それにとまなうでんぷんの分解や可溶性糖の蓄積が報告されており (Silva et al. 2009)、本研究においても、平均気温の低かった3月と12月の全可溶性糖含有量が、ほかの月に比べて高かった。マングローブ樹種において、これらの議論が可能かどうかは今後検討が必要であるが、本研究の全可溶性糖含有量の冬季における増加は低温による代謝メカニズムの変化が要因である可能性が考えられる。

また、沖縄県内のヒルギ科3種においては、6~8月に開葉が最も多くなり、12~2月に最も少なくなる (Gwada et al. 2000; Kamruzzaman et al. 2012, 2013a, 2013b; Sharma et al. 2012; Kamruzzaman 2013)。このことから、5月にみられる全可溶性糖含有量の急激な低下は、開葉や成長による消費による影響が推察される (Kozlowski 1992; Richardson et al. 2013)。以上のことから、葉の全可溶性糖含有量の季節変動は、陽イオン含有量や浸透調整よりも、低温時の代謝変化や成長による消費などがより強く影響していると考えられる。

全糖アルコール含有量については、組成や量、およびその季節変動で全種に共通する明確な傾向は認められなかった。高等植物において、糖アルコールは浸透調整物質としての役割だけでなく、炭水化物の輸送や貯蔵形態のひとつとしても機能しており、光合成活性や代謝、栄養条件によって変動するとともに、可溶性糖の組成にも影響を受ける (Lewis and Smith 1967)。本研究では、全可溶性糖含有量を応答変数とした GLM では、メヒルギとヤエヤマヒルギの最小 AIC モデルにおいて全糖アルコール含有量が、全糖アルコール含有量を応答変数とした GLM ではヒルギダマシの最小 AIC モデルにおいて、全可溶性糖含有量が説明変数として選ばれた。これらの結果は、糖アルコールと可溶性糖の季節変動は相互の影響を受けることを示唆していると考えられる。

3.5 図表

表 3-1 調査地近傍の 2011 年の月別気象条件と試料採取前 1 週間の気象条件

各列は調査地近傍の各月の積算降水量(Precip.), 平均気温(Air Temp.), 積算日射量(ASD), および近海の平均海水温度(Water Temp.), 実用塩分尺度(PSS-78), 溶存酸素量(DO)を表す。3月、5月、7月、9月および12月の括弧内の値は試料採取前1週間の積算および平均値を表す。海洋データの欠損箇所はハイフンで示す。

Table 3-1 Weather and environmental condition around sampling site by month, and for the last week before sampling

Each abbreviation indicates Precip., integrating precipitation; Air Temp., mean air temperature; ASD, integrating actual sunshine duration; Water Temp., mean water temperature; PSS-78, practical salinity scale; DO, dissolved oxygen; respectively. Each weather conditions for the last week before sampling are put in parentheses. The hyphen indicates data does not exist.

	Precip. [mm]	Air Temp. [°C]	ASD [hour]	Water Temp. [°C]	PSS-78	DO [μmol/kg]
Jan.	85.5	14.3	65.3	21.9	34.725	217.1
Feb.	95.0	17.0	116.5	-	-	-
Mar.	17.0 (4.0)	16.2 (16.5)	90.7 (9.2)	-	-	-
Apr.	71.5	19.5	190.4	-	-	-
May	340.5 (114.5)	22.9 (21.7)	71.7 (0.9)	-	-	-
Jun.	130.0	27.0	221.7	-	-	-
Jul.	28.5 (18.0)	28.0 (27.4)	268.4 (74.4)	28.7	34.695	196.4
Aug.	156.0	27.5	239.8	-	-	-
Sep.	147.0 (94.5)	26.9 (27.4)	215.1 (72.1)	-	-	-
Oct.	291.5	24.4	134.5	-	-	-
Nov.	279.5	23.0	79.8	26.6	34.507	202.2
Dec.	89.5 (57.0)	17.9 (17.4)	69.3 (1.1)	-	-	-

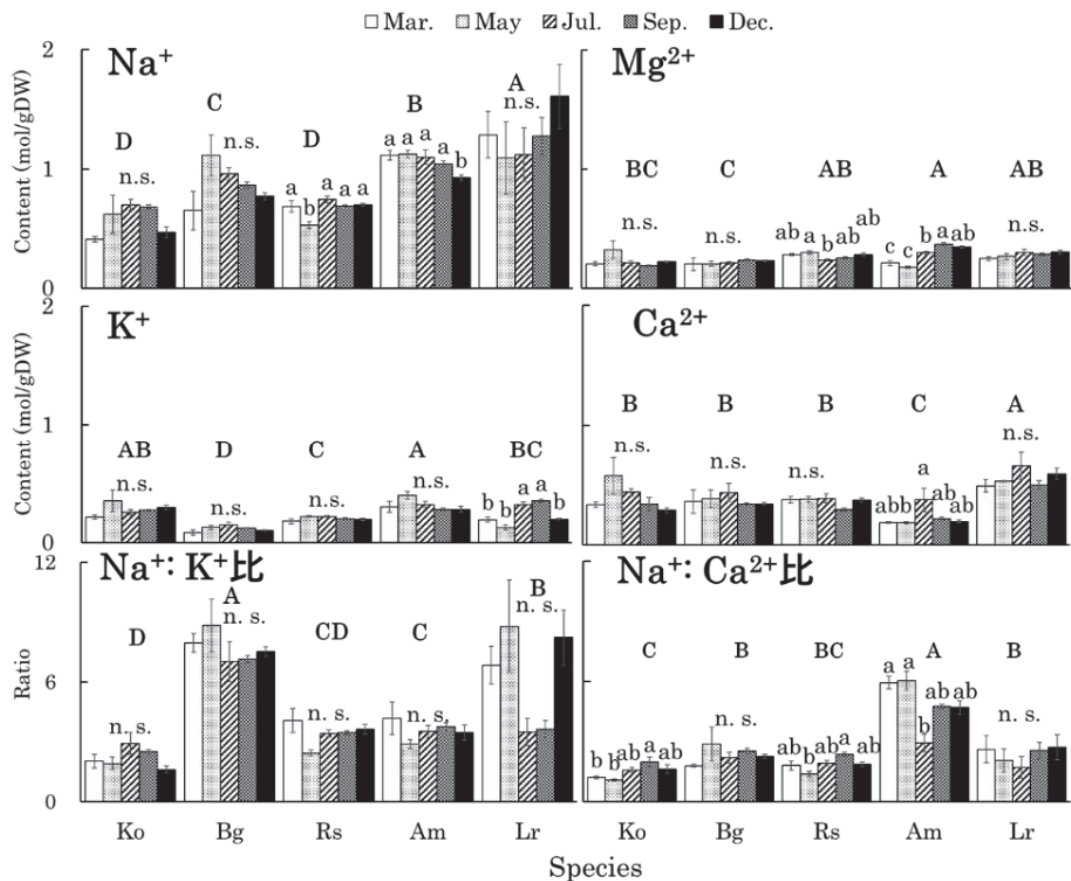


図 3-1 葉中陽イオン含有量の季節変動

樹種名の省略記号はそれぞれ、Ko : メヒルギ、Bg : オヒルギ、Rs : ヤエヤマヒルギ、Am : ヒルギダマシ、Lr : ヒルギモドキを表し、凡例は採取月を表す。図中のエラーバーは標準誤差を示す。異なる大文字アルファベットは樹種間に、小文字アルファベットは各樹種の採取月間に統計学的有意差が認められたことを示す (TukeyHSD test, $p < 0.05$)。

Fig. 3-1 Seasonal variation of cation contents in leaves

The abbreviations of the species name indicate Ko, *K. obovata*; Bg, *B. gymnorhiza*; Rs, *R. stylosa*; Am, *A. marina*; Lr, *L. racemose*, respectively. The legend shows the months, and the error bars in the figure indicate standard errors. The different uppercase alphabets indicate statistically significant differences between tree species. The different lowercase alphabets indicate statistically significant difference between months in the tree species (Tukey HSD test, $p < 0.05$) .

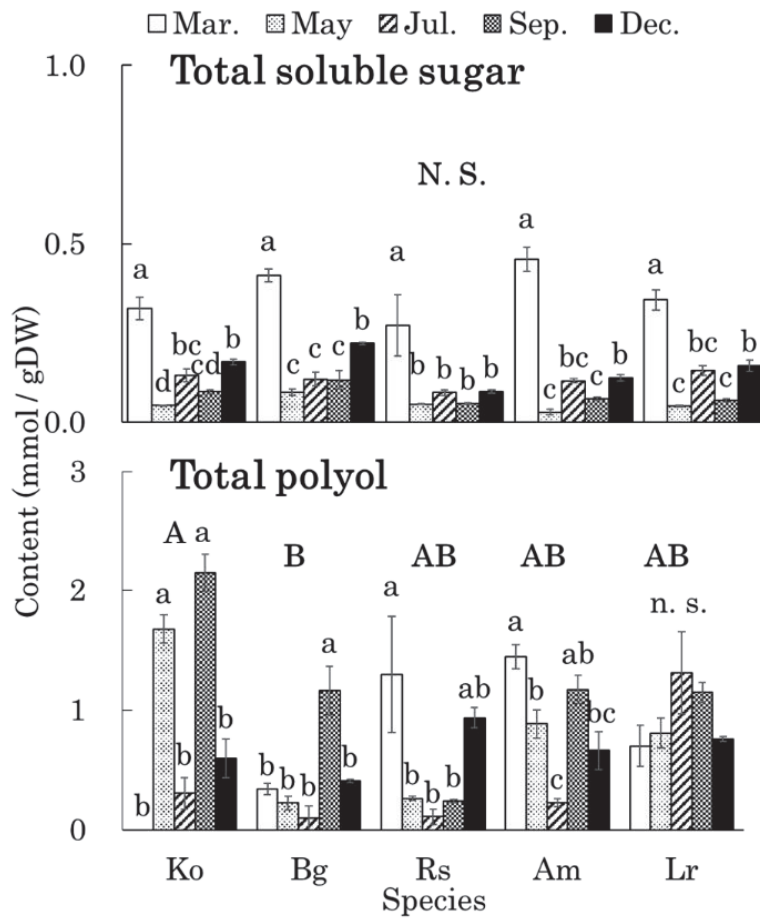


図 3-2 葉中全可溶性糖含有量（上段）と全糖アルコール含有量（下段）の季節変動

樹種名の省略記号はそれぞれ、Ko : メヒルギ、Bg : オヒルギ、Rs : ヤエヤマヒルギ、Am : ヒルギダマシ、Lr : ヒルギモドキを表し、凡例は採取月を表す。図中のエラーバーは標準誤差を、異なる大文字アルファベットは樹種間で、小文字アルファベットは採取月間で統計学的有意差が認められたことを示す (TukeyHSD test, $p < 0.05$)。

Fig. 3-2 Seasonal variation of total soluble sugar (upper) and total polyol (lower) contents in leaves

The abbreviations of the species name indicate Ko, *K. obovata*; Bg, *B. gymnorhiza*; Rs, *R. stylosa*; Am, *A. marina*; Lr, *L. racemose*, respectively. The legend shows the months and the error bars in the figure indicate standard errors. The different uppercase alphabets indicate statistically significant differences between tree species, and the lowercase alphabets indicate between months (Tukey HSD test, $p < 0.05$).

表 3-2 各樹種の全可溶性糖含有量(上段)と全糖アルコール含有量(下段)を応答変数とした GLM の最小 AIC モデルとその説明変数の係数

樹種名の省略記号はそれぞれ、Ko: メヒルギ、Bg: オヒルギ、Rs: ヤエヤマヒルギ、Am: ヒルギダマシ、Lr: ヒルギモドキを表す。GLM 列は、各樹種の全可溶性糖含有量と全糖アルコール含有量をそれぞれ応答変数とした GLM の最小 AIC モデルの説明変数の組み合わせを表す。AIC は各モデルの AIC を、Estimate は各説明変数の係数の推定値を、Std. Error は推定値の標準誤差を、z value は Wald 検定統計量を、Pr(>|z|)は係数の推定値の Wald 信頼区間にゼロが含まれる確率を表す。説明変数の略記はそれぞれ、Sugar: 可溶性糖含有量、Polyol: 糖アルコール含有量、Tempavg: 日平均気温、Precip: 採取前 1 週間の積算降水量、Na: K: Na⁺: K⁺比、Ca: Ca²⁺含有量を表す。

Table 3-2 The estimated coefficient of explanatory variables of GLM having lowest AIC and using the total soluble sugar content (upper) and the total polyol content (lower) as objective variable.

The abbreviations of the species name indicate Ko, *K. obovata*; Bg, *B. gymnorhiza*; Rs, *R. stylosa*; Am, *A. marina*; Lr, *L. racemose*, respectively. The GLM column shows the lowest AIC GLM with total soluble sugar content and total polyol content as response variables, and the AIC column shows the AIC of each model. The Estimate column indicates the coefficient of each explanatory variables, the Std. Error column indicates standard error of the coefficient, the z value indicates Wald statistics, and the Pr(>|z|) column indicates the probability of including zero in the Wald CI of the coefficient estimate. Each explanatory variable abbreviation indicates Sugar: total soluble sugar content, Polyol: total polyol content, Tempavg: average of temperature per a day, Precip: total precipitation for a week before sampling, Na: K: Na⁺: K⁺ ratio, Ca: Ca²⁺ content.

Species	GLM	AIC		Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)			
Ko	Sugar ~ Tempavg + Na: K + Ca + Polyol	235.1	(Intercept)	-2.91×10^{-3}	2.67×10^{-3}	-1.09	0.291			
			Tempavg	2.40×10^{-4}	1.43×10^{-4}	1.68	0.112			
			Na: K	-1.01×10^{-3}	5.70×10^{-4}	-1.77	0.095			
			Ca	1.35×10^{-2}	8.66×10^{-3}	1.56	0.138			
			Polyol	3.92×10^{-6}	9.21×10^{-7}	4.26	< 0.001			
	Polyol ~ 1	106.58	(Intercept)	1.01×10^{-3}	1.90×10^{-4}	5.33	< 0.001			
Bg	Sugar ~ Tempavg	303.42	(Intercept)	-8.50×10^{-3}	2.77×10^{-3}	-3.07	0.005			
			Tempavg	6.88×10^{-4}	1.47×10^{-4}	4.68	< 0.001			
				Polyol ~ 1	178.94	(Intercept)	2.24×10^{-3}	4.40×10^{-4}	5.10	< 0.001
Rs	Sugar ~ Tempavg + Na: K + Polyol	246.48	(Intercept)	1.20×10^{-2}	8.82×10^{-3}	1.36	0.187			
			Tempavg	3.94×10^{-4}	2.82×10^{-4}	1.40	0.176			
			Na: K	-1.79×10^{-3}	8.60×10^{-4}	-2.08	0.050			
			Polyol	-4.02×10^{-6}	9.48×10^{-7}	-4.24	< 0.001			
				Polyol ~ Tempavg	266.01	(Intercept)	-7.49×10^{-3}	1.56×10^{-3}	-4.81	< 0.001
	Tempavg		4.89×10^{-4}	8.87×10^{-5}	5.51	< 0.001				
Am	Sugar ~ Tempavg	289.81	(Intercept)	-1.60×10^{-2}	4.66×10^{-3}	-3.43	0.002			
			Tempavg	1.14×10^{-3}	2.57×10^{-4}	4.44	< 0.001			
				Polyol ~ Precip + Sugar	372.04	(Intercept)	3.47×10^{-3}	7.22×10^{-4}	4.803	< 0.001
			Precip	-2.19×10^{-5}	6.90×10^{-6}	-3.177	0.004			
	Sugar		-5.41×10^{-6}	1.43×10^{-6}	-3.784	0.001				
Lr	Sugar ~ Na: K	60.64	(Intercept)	8.71×10^{-3}	4.63×10^{-3}	1.882	0.079			
			Na: K	-2.38×10^{-4}	6.13×10^{-4}	-0.388	0.703			
				Polyol ~ Na:K	-1.76	(Intercept)	3.81×10^{-3}	1.30×10^{-3}	2.94	0.010
	Na:K		-2.33×10^{-4}	1.30×10^{-4}	-1.79	0.094				

表 3-3 樹種ごとの各採取月における葉中糖含有量

表中の数値は算術平均 ± 標準誤差を表し, N.D.は不検出を表す.

Table 3-3 Soluble sugar content in leaves collected each month

Values in the table indicate Mean ± Standard Error, and the N. D. in the table indicates was not detected.

Species	Month	Soluble Sugar [μmol/gDW]											Polyol [μmol/gDW]			
		Sucrose	Maltose	Lactose	Rhamnose	Mannose	Fructose	Galactose	Xylose	Glucose	Pinitol	Inositol	Sorbitol	Mannitol		
<i>K. obovata</i>	Mar.	47.19 ± 14.13	N.D.	N.D.	0.24 ± 0.11	0.30 ± 0.14	131.62 ± 35.19	0.83 ± 0.33	N.D.	75.41 ± 20.43	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.		
	May	21.40 ± 1.00	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	9.28 ± 0.61	N.D.	16.09 ± 1.05	130.18 ± 18.91	N.D.	517.52 ± 55.21	1028.02 ± 91.44			
	Jul.	40.93 ± 5.80	N.D.	N.D.	0.12 ± 0.04	0.13 ± 0.05	44.03 ± 7.69	N.D.	46.66 ± 7.04	N.D.	N.D.	N.D.	306.73 ± 130.83			
	Sep.	49.79 ± 4.73	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	10.62 ± 0.46	N.D.	25.12 ± 1.22	132.39 ± 5.85	N.D.	293.13 ± 20.68	1719.93 ± 140.64			
<i>B. gymnorhiza</i>	Dec.	6.80 ± 3.74	N.D.	N.D.	0.04 ± 0.04	N.D.	88.67 ± 22.51	0.71 ± 0.71	38.99 ± 9.89	144.66 ± 123.08	N.D.	N.D.	602.77 ± 48.03			
	Mar.	76.94 ± 10.68	N.D.	N.D.	0.26 ± 0.04	N.D.	197.86 ± 5.63	1.89 ± 0.78	134.36 ± 5.49	N.D.	N.D.	N.D.	339.09 ± 48.03			
	May	29.30 ± 8.48	N.D.	N.D.	0.29 ± 0.23	N.D.	15.67 ± 5.41	N.D.	27.96 ± 4.49	N.D.	N.D.	223.37 ± 57.92	N.D.			
	Jul.	14.85 ± 4.85	N.D.	N.D.	0.19 ± 0.14	0.08 ± 0.08	61.80 ± 12.54	0.25 ± 0.25	43.31 ± 8.00	N.D.	N.D.	99.75 ± 99.75	N.D.			
<i>R. stylosa</i>	Sep.	77.54 ± 17.63	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	14.25 ± 3.38	N.D.	27.06 ± 5.96	N.D.	N.D.	278.62 ± 23.15	886.92 ± 204.76			
	Dec.	1.90 ± 0.86	N.D.	N.D.	0.10 ± 0.10	0.63 ± 0.21	137.77 ± 1.27	4.72 ± 0.10	75.80 ± 1.62	N.D.	N.D.	407.05 ± 13.63	N.D.			
	Mar.	73.40 ± 22.24	N.D.	N.D.	1.98 ± 0.40	0.04 ± 0.04	97.13 ± 33.04	1.20 ± 0.83	96.79 ± 29.77	24.59 ± 8.27	N.D.	107.85 ± 35.26	1164.40 ± 518.27			
	May	33.84 ± 1.66	N.D.	N.D.	0.95 ± 0.14	N.D.	4.46 ± 0.38	N.D.	11.37 ± 0.46	N.D.	N.D.	263.17 ± 16.12	N.D.			
<i>A. marina</i>	Jul.	39.83 ± 5.05	N.D.	N.D.	0.74 ± 0.04	0.03 ± 0.03	20.14 ± 2.01	N.D.	22.79 ± 1.76	N.D.	N.D.	N.D.	109.02 ± 66.98			
	Sep.	37.96 ± 3.04	N.D.	N.D.	0.78 ± 0.13	N.D.	4.56 ± 0.47	N.D.	9.19 ± 0.69	N.D.	N.D.	240.69 ± 11.66	N.D.			
	Dec.	22.59 ± 3.43	N.D.	N.D.	0.36 ± 0.05	0.18 ± 0.18	36.21 ± 3.45	0.19 ± 0.19	26.86 ± 1.85	1.89 ± 1.89	N.D.	N.D.	933.53 ± 86.42			
	Mar.	0.95 ± 0.93	N.D.	N.D.	0.03 ± 0.03	0.06 ± 0.06	198.03 ± 14.17	25.85 ± 22.15	231.30 ± 14.17	N.D.	N.D.	N.D.	1445.79 ± 103.04			
<i>L. racemosa</i>	May	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.84 ± 0.22	7.81 ± 2.05	N.D.	19.59 ± 5.00	N.D.	N.D.	449.50 ± 161.38	434.71 ± 140.49			
	Jul.	28.58 ± 6.93	N.D.	N.D.	0.03 ± 0.03	0.10 ± 0.06	26.92 ± 7.26	1.36 ± 0.28	54.94 ± 6.17	N.D.	N.D.	7.66 ± 7.66	218.94 ± 83.66			
	Sep.	37.14 ± 3.87	N.D.	N.D.	N.D.	1.49 ± 0.27	6.61 ± 0.33	1.89 ± 0.55	18.60 ± 1.68	N.D.	N.D.	246.33 ± 18.36	923.99 ± 106.54			
	Dec.	N.D.	N.D.	N.D.	0.22 ± 0.14	1.71 ± 0.39	62.79 ± 4.79	2.20 ± 0.21	56.72 ± 5.15	N.D.	N.D.	N.D.	661.71 ± 157.96			
<i>L. racemosa</i>	Mar.	6.26 ± 4.55	N.D.	N.D.	0.17 ± 0.11	0.08 ± 0.08	152.17 ± 15.55	17.03 ± 14.55	167.04 ± 11.74	N.D.	N.D.	N.D.	700.03 ± 170.48			
	May	6.30 ± 0.23	2.52 ± 0.22	N.D.	N.D.	N.D.	11.46 ± 0.39	N.D.	27.21 ± 1.03	N.D.	N.D.	496.11 ± 54.00	312.59 ± 77.67			
	Jul.	2.48 ± 2.48	N.D.	N.D.	N.D.	0.36 ± 0.18	66.08 ± 7.29	1.8 ± 0.38	74.16 ± 6.93	N.D.	N.D.	757.78 ± 409.67	551.40 ± 37.49			
	Sep.	20.89 ± 1.89	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	11.28 ± 1.88	3.26 ± 0.16	26.44 ± 2.62	N.D.	N.D.	620.79 ± 119.49	927.13 ± 214.15			
Dec.	N.D.	N.D.	0.93 ± 0.05	N.D.	1.05 ± 0.07	78.62 ± 10.67	4.37 ± 1.22	73.36 ± 3.80	N.D.	N.D.	N.D.	759.54 ± 26.38				

第4章 酸欠と塩ストレスがマングローブ 2種の苗木の成長と

生理に及ぼす影響

4.1 序論

ヒルギダマシ (*Avicennia marina* (Forssk.) Vierh.) やメヒルギ (*Kandelia obovata* (S. L.)) をはじめとしたマングローブ樹種は潮間帯に生育しており、海水由来の塩や冠水による酸欠の影響を受ける。マングローブ生態系は、その陸上生態系とは異なる特異性と種多様性、あるいは津波などの防災機能の観点から近年ますます重要性が認識されている (Krauss et al. 2008; McIvor et al. 2013)。しかし、開発や全球的気候変動にともなう滞水頻度や滞水時間の増加、土質変化、浸食による衰弱・枯死が問題となっている (Spalding et al. 2014; 沖縄県環境部自然保護課 2015)。これらは海水の滞水が引き起こす根圏の酸欠や塩分の濃縮が要因の一つと考えられている。

酸欠ストレスは、冠水中の酸素の拡散速度が空気中よりも遅いことで起こり、根の代謝不足や還元土壌中の有害金属の蓄積などを引き起こす (Kozlowski 1997)。耐酸欠機構として、酸欠にともなう代謝不足を回避・補填するため、呼吸根や皮目などの通気に関わる組織の発達や、嫌気呼吸速度の増加などが報告されている (Kozlowski 1997; Pezeshki et al. 1997; Krauss et al. 2008)。また、酸欠環境下に置かれた耐酸欠性種の根では嫌気呼吸に関わる酵素活性とともに、糖含有量が高く維持されることも報告されている (Sairam et al. 2008; Ferner et al. 2012)。塩ストレスは、外界水の水ポテンシャルが低いことによる吸水阻害や、過剰 Na イオンの侵入・蓄積などによる生理活性阻害をもたらす。耐塩性機構には適合溶質や浸透圧調節物質と呼ばれる糖・糖アルコール類やベタイン類の蓄積 (Hibino et al. 2001; 岩永ら 2013)、塩腺からの過剰塩分の排出 (Krauss et al. 2008; Reef and Lovelock 2015)、根での除塩 (Krauss et al. 2008; Lang et al. 2014) などが知られている。

潮間帯に成立するマングローブ林の衰弱・枯死には上記の酸欠と塩が単独あるいは複合的に影響している可能性が考えられるが、酸欠と塩の複合的なストレスがマングローブに及ぼす影響については知見が不足している。また、耐塩性機構はエネルギー依存型であるとされており (Krauss et al. 2008)、通気組織の未発達な個体や満潮時に頂芽まで冠水する個体が、酸欠状態でどのように維持・対処しているかは明らかではない。

そこで本研究では、酸欠ストレスと塩ストレスを組み合わせた処理がヒルギダマシとメヒルギの生存と成長にどのような影響を及ぼすのかを検討した。併せて、酸欠と塩処理によるエネルギー需要の変化が、樹体内の糖含有量に及ぼす影響を検討す

るため、器官別総可溶性糖類含有量を比較した。

4.2 材料と方法

4.2.1 材料

実験には3~4年生のヒルギダマシ(実験開始前のサイズは、樹幹長 16.5 ± 1.0 cm、葉数 8 ± 0.3 枚(平均 \pm 標準誤差))とメヒルギ(実験開始前の苗木のサイズは、樹幹長 27.6 ± 1.0 cm、葉数 5 ± 0.3 枚(平均値 \pm 標準誤差))を用いた。

2016年2月28日から同年3月2日に沖縄県うるま市川田にてヒルギダマシを、そして沖縄市泡瀬にてメヒルギの苗木を採取し、鳥取大学乾燥地研究センターに持ち帰って養生および育苗した。2016年3月4日から同年5月21日まで、鳥取大学乾燥地研究センター遺伝子組み換え栽培温室にて気温 20 °C、湿度 40%で養生した。2016年5月21日から同年8月21日までは砂丘未熟土と 1/5,000a ワグナーポットを用いて植栽し、鳥取大学乾燥地研究センター内ガラスハウスにて育苗した(平均気温: 29 °C、平均湿度: 65%)。養生・育苗中は、水道水に食塩(The Salt Industry Center of Japan. NaCl 99%以上)を 0.5 g/100 gAq (%)、微粉ハイポネックス(HYPONeX JAPAN CORP.)を 0.05 g/100 gAq (%)で混合した溶液で地下部を冠水し、エアーコンプレッサーで送気した。育苗期間終了後、個体サイズ、葉の色など衰弱の兆候がみられない健康な個体を選んで実験に使用した。

4.2.2 実験設計

2016年8月21日から同年9月19日までの4週間、鳥取大学乾燥地研究センター内ガラスハウス(実験期間中の平均気温: 27.5 °C、湿度: 70.0%、水温: 26.4 °C)にて、酸欠と塩ストレスを以下のように処理し、マングローブの成長と生理への影響を観察した。

土壌表面まで 0.5 g/100 gAq (%) 食塩水(約 85 mmol/dm³ NaCl)で冠水するがエアーコンプレッサーで送気する処理(対照区: Ct)と、送気しない処理(酸欠処理区: HP)、または 6 g/100 gAq (%) 食塩水(約 1024 mmol/dm³ NaCl)で土壌表面まで冠水するがエアーコンプレッサーで送気する処理(塩処理区: SL)と送気しない処理(酸欠・塩処理区: H&S)の計4処理区($n=5$, 計20本/種)設けた(図4-1)。処理には水槽($75 \times 40 \times 75$ cm³)を2つずつ用いて、環境に偏りが出ないように配置した。

4.2.3 環境条件

土壌 EC をデータロガー Em 50 と土壌水分センサー 5TE (Decagon Devices, Inc., USA) を用いて測定した。冠水溶液中の溶存酸素濃度 (DO) と酸化還元電位 (ORP)、pH を経過観察時に計測した。溶存酸素濃度は pH/DO Meter: D-55 と防水 DO 電極: 9551-100D (HORIBA, Ltd., Japan) で、ORP と pH は AS700 pH/mV Meter (AS ONE Corporation., Japan) に ORP 電極 (301PT-S, AS ONE Corporation.) と pH 電極 (201T-S, AS ONE Corporation.) を使用して測定した。

4.2.4 生存率・葉数変化・乾燥重量

実験開始前、1、3、5、7、10、14、21 および 28 日後の計 9 回経過観察を行った。それぞれの処理区において、(1) 葉の著しい萎凋、褐変および落葉と (2) 幹の褐変および萎凋を確認し、両方が観察された個体を枯死とし、枯死が確認された時点で回収した。

実験開始時、6、10、14、21 および 28 日後の落葉数と着葉数を記録し、実験開始時の葉数を 1 とした時の相対葉数を算出した。

実験終了時のすべての個体の葉と幹、根を採取した。採取した葉、幹、根は、それぞれ生重量を測定後に送風乾燥機にて 80°C で 48 時間乾燥させた乾燥重量を測定した。生重量と乾燥重量から、相対含水率 (gAq/gFW) を算出した。

4.2.5 光合成速度

光合成速度は、LI6400 (LI-COR, Inc., USA.) を用いて 9:00~12:00 に測定した。光合成光量子束密度 (PPFD) は、実験開始前のガラスハウス内の 9:00~12:00 の平均値であった 600 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ で測定した。湿度および二酸化炭素濃度は未調整で測定した。測定は各処理区から 3 個体を光合成測定用に無作為に選抜し、それぞれの第 2 成熟葉 3 枚の平均値を測定日の測定個体の値とした。光合成測定用個体が枯死した場合は同じ処理区内から新たに個体を選抜し、測定を継続した。生存個体数が 3 個体未満になった場合は枯死個体の光合成速度を 0 として算出した。

4.2.6 可溶性糖類

可溶性糖類分析用の葉と根の試料は、採取後速やかに 80%エタノールに浸漬した。その後、細胞破砕機 (Shake Master ver.1.2 : BMS-12、Bio Medical Science Inc., Japan) で粉碎、遠心分離 (5,000 rpm, 15 °C、15 分) し、上澄みと残渣に分けた。上澄みは 60°C の送風乾燥機 (RY-120HL, ALP Co., Inc., Japan) で濃縮し、蒸留水で定容した。試料を孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターを用いてろ過し、高速液体クロマトグラフィー (RF-10 AxL, Shimadzu Co, Japan) にてポストカラム蛍光分析法 (Murata *et al.* 2010) に準拠し、可溶性糖類の分析を行った。葉の生重量と乾燥重量から算出した相対含水率を用いて、エタノール浸漬試料の乾燥重量を算出した。可溶性糖として、スクロース、マルトース、ラクトース、グルコース、フルクトース、ガラクトース、キシロース、ラムノース、マンノースを分析した。検出された可溶性糖の合計を総可溶性糖類含有量として算出した。

4.2.7 統計解析

各処理の成長・生理への影響を考察するため、乾燥重量、総可溶性糖含有量および光合成速度のデータを用いて統計解析を行った (エクセル統計 2010、SSRI: Social Survey Research Information Co., Ltd., Japan)。酸欠および塩の交互作用を検証するため、乾燥重量と総可溶性糖含有量、光合成速度において、Levene 検定による等分散性の検定ののち、2 元配置分散分析を行った。2 元配置分散分析の結果、乾燥重量と可溶性糖含有量、光合成速度に酸欠と塩の交互作用は認められな

かった。実験期間中の葉数変化割合の推移（図 4-3）は、実験開始時の葉数割合を対照として Shirley-Williams 検定をおこない、有意水準は $p < 0.05$ とした。乾燥重量（図 4-2）と総可溶性糖含有量（図 4-5）、および実験終了時の光合成速度（表 4-3）は処理区間の多重比較を Steel-Dwass 検定でおこない、有意水準は $p < 0.05$ とした。

4.3 結果

4.3.1 環境条件

実験期間中の土壌 EC と冠水溶液の pH、溶存酸素濃度（DO）を表 4-1 に示す。溶存酸素濃度は、塩分濃度 6% が測定機器の補正可能範囲を超過していたため、対照区と酸欠処理区の結果のみ示す。

4.3.2 生存率・乾燥重量・葉数変化

ヒルギダマシとメヒルギの生存率を表 4-2 に示す。ヒルギダマシ、メヒルギともに塩処理区と酸欠・塩処理区で対照区より生存率が低かったが、酸欠処理区では対照区との違いは認められなかった。メヒルギの生存率は、塩処理区と酸欠・塩処理区の両方においてヒルギダマシよりも低かった。

ヒルギダマシとメヒルギの各処理区の器官別乾燥重量を図 4-2 に示す。両種とも器官別乾燥重量のいずれにおいても、処理区間に有意差は認められなかった。ヒルギダマシの葉、幹、および根の乾燥重量は、塩処理区と酸欠・塩処理区で対照区より小さい傾向がみられた（Steel-Dwass test, $p > 0.05$ ）。

メヒルギの葉、幹、根の乾燥重量で一貫した傾向は認められなかった。葉の乾燥重量では、塩処理区と酸欠・塩処理区で低い傾向がみられ根の乾燥重量は酸欠処理区で小さい傾向が認められた（Steel-Dwass test, $p > 0.05$ ）。

ヒルギダマシとメヒルギの葉数は、塩処理区および酸欠・塩処理区において著しく減少した（図 4-3）。ヒルギダマシの葉数割合は塩処理区では 1 週目から、酸欠・塩処理区では 4 週目に有意差が認められた（Shirley-Williams test, $p < 0.05$ ）。メヒルギの葉数割合は塩処理区では 3 週目から、酸欠・塩処理区では 2 週目から有意差が認められた（Shirley-Williams test, $p < 0.05$ ）。

4.3.3 光合成速度

ヒルギダマシとメヒルギの実験期間中の光合成速度の相対的变化を図 4-4 に、実験終了時の光合成速度の実測値を表 4-3 に示す。ヒルギダマシ、メヒルギともに塩処理区と酸欠・塩処理区で光合成速度の低下傾向が認められた。ヒルギダマシは、塩処理区では処理後 3 週目に回復する傾向が認められた。メヒルギは、酸欠処理区において光合成速度の低下傾向が認められた（表 4-3, 図 4-4）。ヒルギダマシとメヒルギの実験終了時の光合成速度は、処理区間で統計学的有意差は認められなかった（Steel-Dwass test, $p > 0.05$ ）。

4.3.4 可溶性糖類

総可溶性糖類含有量の結果を図 4-5. に示す。実験終了時の根および葉の糖含有量

で処理区間に有意差は認められなかった。傾向として、ヒルギダマシの葉の総可溶性糖類含有量は、酸欠処理区で対照区のものよりも低く、酸欠・塩処理区で大きかった (Steel-Dwass 検定, $p > 0.05$)。一方で、根の総可溶性糖類含有量は、塩処理区と酸欠・塩処理区で対照区と酸欠処理区より低い傾向がみられた (Steel-Dwass test, $p > 0.05$)。

メヒルギの葉の総可溶性糖類含有量は、酸欠処理区で対照区より大きい傾向がみられた (Steel-Dwass test, $p > 0.05$)。根の総可溶性糖類含有量も葉と同様の傾向がみられた (Steel-Dwass test, $p > 0.05$)。

4.4 考察

4.4.1 生存率・乾燥重量

酸欠に耐性を持つ樹種は、根圏の酸欠による枝葉や根の成長阻害を回避・軽減することがマングローブを含め多くの樹木で報告されている (Kozlowski 1997; He et al. 2007)。本実験のヒルギダマシとメヒルギは、酸欠による乾燥重量と生存率への顕著な影響は認められず、耐酸欠性の高さが示された。

一方で、塩ストレスでは両樹種ともに、生存率と乾燥重量は低くなる傾向が認められた。このことは、ヒルギダマシについては岩永ら (2014)、メヒルギにおいては (川満 et al. 1995) の高塩濃度での成長阻害や葉数の低下の報告と一致した。

メヒルギは、塩ストレスによる光合成速度と成長量の低下が著しく、NaCl 濃度は 200 mmol/dm^3 (約 1.2 %) が生育限界といわれているが (川満 et al. 1995)、本実験においては、 6 g/100 gAq (%) ($1,024 \text{ mmol/dm}^3$) でも 4 週間の生存が確認された。

4.4.2 葉数変化・光合成速度

塩ストレスによる光合成速度の低下は様々な樹種で報告されており (Kozlowski 1997)、マングローブにおいても塩ストレスによる光合成速度の低下のほかに、葉緑体や光合成関連酵素の減少などが報告されている (Luzhen et al. 2005; Suárez and Medina 2006; Tada et al. 2008; Ru et al. 2009; Wang et al. 2014, 2015)。本実験のヒルギダマシでは、塩処理区と酸欠・塩処理区において葉数と光合成速度の低下が認められた (図 4-3, 4-4)。ヒルギダマシの塩処理区では処理後 3 週目に光合成速度の回復がみられたが、酸欠・塩処理区では認められなかった (図 4-4)。このことは、酸欠処理がヒルギダマシの塩ストレスへの順化の過程に影響を及ぼしたことを示唆している。

メヒルギでは、塩処理区と酸欠・塩処理区での葉数および光合成速度の低下が認められた (図 4-3, 4-4)。さらに、酸欠処理区の 4 週目にも光合成速度の低下が認められた。(Pezeshki et al. 1997) は、酸欠環境下においた *Rhizophora mangle* と *Avicennia germinans* において、光合成速度の低下と根乾燥重量の低下が起こることを報告しており、本実験のメヒルギの光合成速度の低下は長期の酸欠による根の機能低下が要因であったと考えられる。

4.4.3 可溶性糖類含有量

一般に、長期の酸欠下に置かれたマングローブを含む耐酸欠性種の根では、嫌気呼吸に関わる酵素活性とともに、糖含有量が高く維持され、非酸欠耐性種では糖含有量が低くなるとされる (McKee and Mendelsohn 1987; Sairam et al. 2008; Ferner et al. 2012)。また葉の糖含有量は長期の酸欠環境下で耐性種か否かに関わらず増加するが、これは他器官での貯蔵糖の分解と糖転流によると報告されている (Ferner et al. 2012)。本実験で、塩処理の有無にかかわらず酸欠による糖含有量の変化が認められなかったのも、同様の機構によるものと示唆される。

Khan ら (2016) は、ヒルギダマシの葉は塩ストレスによって糖含有量の低下とグリシンベタインの増加が引き起こされると報告している。本実験のヒルギダマシの葉においては塩処理区での顕著な糖減少は認められなかった。一方メヒルギの葉では、塩処理区で総可溶性糖類含有量が大きい傾向がみられ、塩ストレスに対する浸透調節物質として可溶性糖含有量を葉に蓄積するとの既報と一致した (Zhu et al. 2011)。

4.5 結論

本実験のヒルギダマシとメヒルギでは、生存率と葉数変化で酸欠ストレスの影響はみられず、塩ストレスの影響が顕著であった。光合成速度においても同様に、両樹種ともに塩ストレスの影響が顕著であった。このことから4週間の酸欠に対する両種の高い耐性が示された一方で、有意ではなかったものの、メヒルギでは酸欠による影響が若干みられたことから、より長期の酸欠に対する反応を把握する必要がある。

本実験において、耐塩性の異なるヒルギダマシとメヒルギで、酸欠環境下の糖代謝の違いは顕著ではなかったが、塩ストレス下においては異なる影響が認められた。糖含有量と糖転流、および糖代謝の関係性を明らかにすることで、マングローブが生育する複合的なストレス環境への適応機構を解明することにつながると考えられる。

4.6 図表

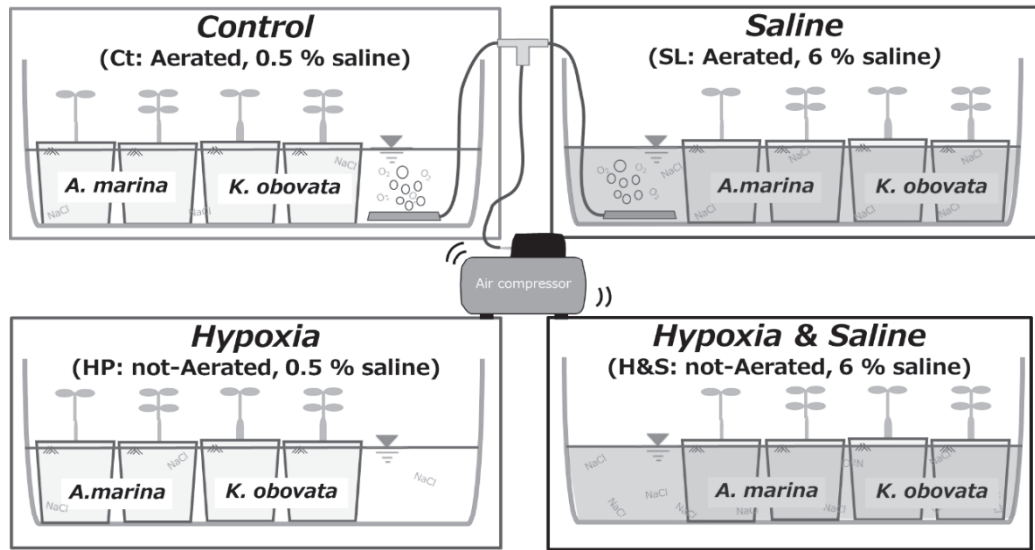


図 4-1 実験デザイン模式図

4 個の枠は各処理区（Control：対照区、Hypoxia：酸欠処理区、Saline：塩処理区、Hypoxia & Saline：酸欠・塩処理区）を表し、括弧内は各処理の略記号（Ct, HP, SL, H&S）と処理内容（Aerated または not-Aerated, および 0.5 または 6 % saline）を示す。

Fig. 4-1 Diagram of experimental design

The four boxes represent each treatment: Control, Hypoxic, Saline and Hypoxic and Saline, and the parentheses indicate the abbreviation and the detail of each treatment.

表 4-1 実験期間中の土壌電気伝導度（EC）と冠水溶液の溶存酸素濃度（DO）、pH

Table 4-1 Soil electrical conductivity (EC) , dissolved oxygen concentration (DO) and pH in flooding water during the experiment

Treatment	EC (mS/m)	pH	DO (mg/dcm ³)
CT	231.7 ± 2.3	5.9 ± 0.2	6.6 ± 0.3
HP	253.1 ± 14.3	5.9 ± 0.2	3.3 ± 0.2
SL	1322.9 ± 101.8	6.2 ± 0.1	n. d.
H&S	1201.9 ± 73.6	6.0 ± 0.1	n. d.

注) 値は実験期間中の平均値±標準誤差. n. d.は測定機器の補正可能範囲を超過し、測定不能であることを表す。

Mean values are presented ± SE. “n. d.” indicates values were not determined.

表 4-2 実験終了時のヒルギダマシ (*A. marina*) とメヒルギ (*K. obovata*) の光合成速度

Table 4-2 Photosynthetic rate of *A. marina* and *K. obovata* at the end of experiment

Treatment	<i>A. marina</i>		<i>K. obovata</i>	
CT	6.26 ± 0.16		4.77 ± 0.62	
HP	6.44 ± 0.33		2.48 ± 1.01	
SL	2.70 ± 1.49	n.s.	*0.07 ± 0.07	n.s.
H&S	0.31 ± 0.31		*0.19 ± 0.19	

注) n.s. は Steel-Dwass 検定によって統計学的有意差が認められなかったことを示す ($p > 0.05$)。*生存個体が 3 個体未満のため枯死個体の値を 0 として算出。

Mean values of three seedlings for observation are presented ±SE. Multiple comparisons between treatments were conducted by Steel-Dwass test, and the significance level was set at $p < 0.05$. *Mean values were calculated include the photosynthetic rate of the dead individual as 0 since the number of surviving seedlings is less than 3.

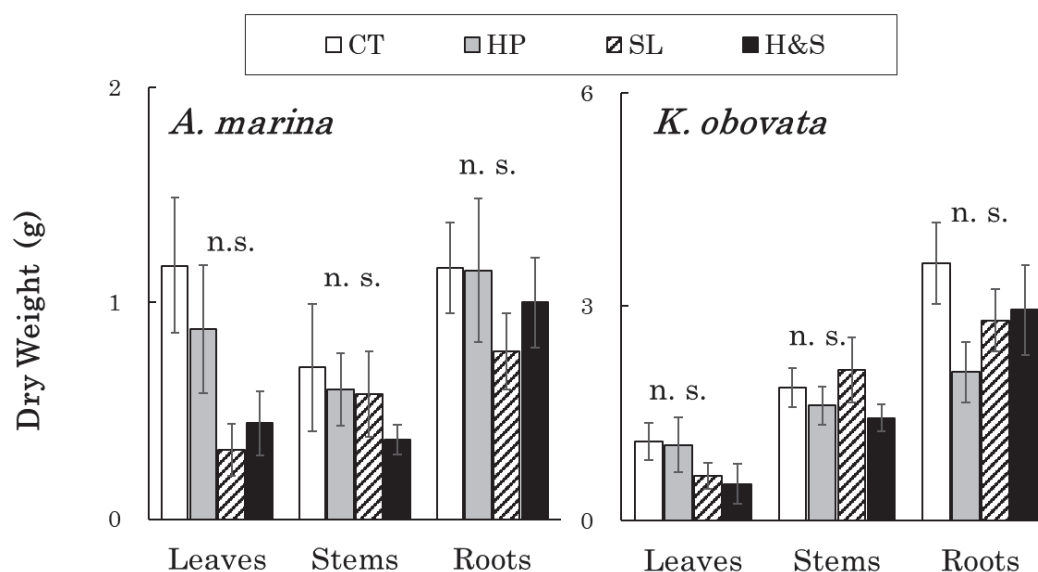


図 4-2 ヒルギダマシ (*A. marina*) とメヒルギ (*K. obovata*) の乾燥重量

図中のエラーバーは標準誤差を表す。図中の n. s. は統計的有意差が認められなかったことを示す (Steel-Dwass test, $p > 0.05$)。

Fig. 4-2 Dry weight of *A. marina* and *K. obovata*

Error bars indicate standard error. "n. s." indicates no significant difference by Steel-Dwass test ($p > 0.05$) .

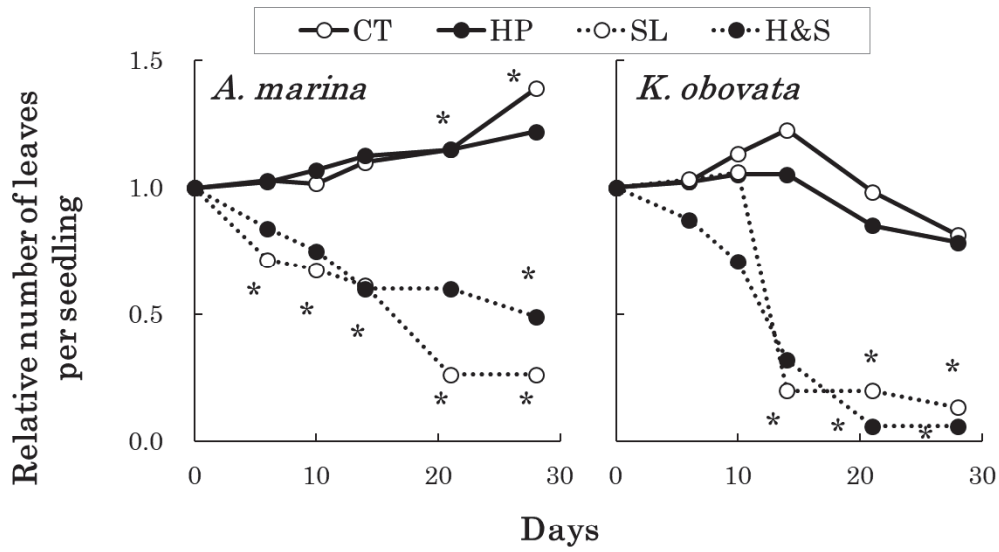


図 4-3 実験期間中のヒルギダマシ (*A. marina*) とメヒルギ (*K. obovata*) の葉数変化割合の推移
 図中のアスタリスクは実験開始時の値との間に統計的有意差が認められたことを示す
 (Shirley-Williams test, $p < 0.05$)。

Fig. 4-3 Relative leaf number per seedling to the start of the experiment

Asterisks indicate significant difference with the value of the start of the experiment by Shirley-Williams test ($p < 0.05$) .

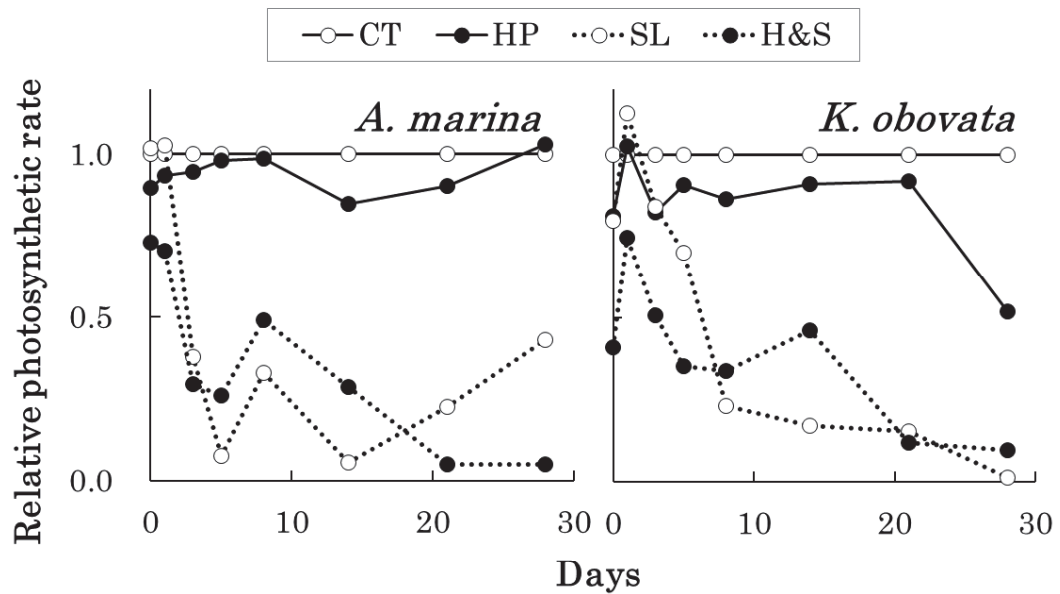


図 4-4 実験期間中のヒルギダマシ (*A. marina*) とメヒルギ (*K. obovata*) の光合成速度の対照区に
 対する処理区の相対値

Fig. 4-4 Relative value of photosynthetic rate to the control during experiment of *A. marina* and
K. obovata

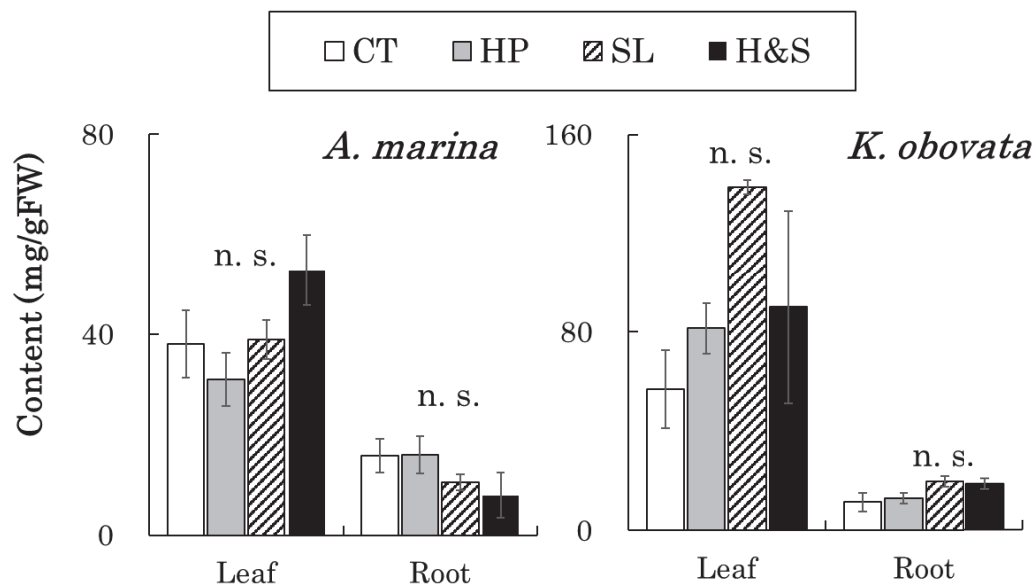


図 4-5 ヒルギダマシ (*A. marina*) およびメヒルギ (*K. obovata*) の葉と根の総可溶性糖類含有量
 エラーバーは標準誤差を示す。図中の n. s. は統計学的有意差が認められなかったことを示
 す (Steel-Dwass test, $p > 0.05$)。

Fig. 4-5 Sugar contents in leaves and roots of *A. marina* and *K. obovata*

Error bars indicate standard error. "n. s." indicates no significant difference by Steel-Dwass test ($p > 0.05$) .

第5章 塩ストレスが冠水にともなう嫌気呼吸代謝産物蓄積に

およぼす影響

5.1 序論

先のスマトラ沖大地震の津波によって、マングローブ樹種がもつ呼吸根などの構造的特性が津波の減衰機能が高いことが示されたことをきっかけに、マングローブ林の生態学的機能だけではなく海岸防災林としての重要性が増してきている。そのため、マングローブ林の衰退と劣化は、防災面でも問題視されており、世界各地で再生と保全が進められているが、マングローブ林の造成および植栽における定着と生存率、林分の持続性などの向上が課題の一つとされている。

マングローブ樹種は潮間帯に生育するため、日常的に潮汐による冠水や水没にさらされる。マングローブ樹種の植栽における定着と生存率の向上には、これらの冠水と水没に対する苗木の応答を把握することとそれらに基づいた植栽計画とゾーニングが必要である。植栽に用いられる苗木は、作業効率の点からも若齢でサイズの小さいものが一般的である。このような苗木では、冠水耐性機構が十分に発達していないか、発達していても樹高が低いために水没する。湿性樹木の多くは、冠水耐性機構の1つとして通気組織と呼ばれる間隙に富んだ組織が発達する（Kozłowski 1997; Kozłowski and Pallardy 2002; Dangremond et al. 2015; Copini et al. 2016; Loreti et al. 2016）。この組織は樹体内外の酸素や二酸化炭素などのガス交換を促進するだけではなく、樹体内でのガス移動の役割も担っている（Kozłowski 1997; Pezeshki 2001）。しかし、頂芽まで水没するような環境では、大気との連続性が断たれるために通気組織によるガス交換機能は不能で、個体のエネルギー供給のほとんどは嫌気呼吸に依存するものと予想される。植物の嫌気呼吸は、酸欠初期には乳酸発酵が行われるが、乳酸の細胞質への蓄積が進み pH が低下することにより次第にアルコール発酵に切り替わる。アルコール発酵は、解糖系の最終産物であるピルビン酸がアセトアルデヒドを経てエタノールへと還元される過程で解糖系に必要な NAD^+ を生成する。アルコール発酵などの嫌気呼吸速度の増加は酸欠時のエネルギー不足を緩和するが、グルコース 1 分子当たりの ATP 生産量は好気呼吸の 18 分の 1 程度である（Lee et al. 2014; Kordyum et al. 2017）。

潮汐による、冠水や水没は海水や汽水によるものであるため、マングローブ樹種も塩ストレスの影響を受ける。一般に、塩ストレスは土壌と根の水ポテンシャル勾配の逆転による吸水阻害や、塩由来の Na や Cl イオンの過剰流入による酵素活性阻害を引き起こす。マングローブ樹種のような耐塩性を持つ植物では、可溶性糖類などの浸透調整物質の蓄積による水ポテンシャル勾配の維持や、塩腺や液胞などを用いた塩類の排出・隔離などの耐塩性機構が発達する（Parida and Das 2005;

Flowers and Colmer 2008, 2015; Liang et al. 2008; Parida and Jha 2010; Nemati et al. 2011; Wang et al. 2011; Maimaiti et al. 2014; Sreeshan et al. 2014; Flowers et al. 2015; Reef and Lovelock 2015)。これらの耐塩性機構のほとんどは、エネルギー依存とされていることから (Shabala et al. 2014; Flowers et al. 2015; Kotula et al. 2015)、海水による水没では淡水による水没に比べてエネルギー需要が増加することが予想される。。

海水への水没では、通気組織の不能に伴うエネルギー供給の嫌気呼吸への依存と同時に、塩ストレスによるエネルギー需要の増加が起こると予想される。植栽後の定着・生育とその後の持続性においては、このような酸欠と塩の複合的なストレスに対するマングローブ樹種の応答に関する知見が必要である。

そこで本実験では、淡水と塩水へそれぞれ水没したときの塩と酸欠の複合ストレスが、マングローブ樹種の嫌気呼吸に及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。

5.2 材料と方法

5.2.1 材料

実験にはマングローブ 2 種 (メヒルギとオヒルギ) の苗木を使用した。苗木は沖縄県うるま市州崎の海水路岸 (北緯 26°20'24.5" 東経 127°51'12.7") に平成 13 年までに植栽された (Spalding et al. 2014; 沖縄県環境部自然保護課 2015a) マングローブ個体から採取した散布体を育成し、使用した。2017 年 3 月に沖縄県うるま市洲崎にて採取した散布体を鳥取大学乾燥地研究センターに持ち帰り、砂丘未熟土を満たしたタンク内に仮植し、実験圃場内の大型ガラスハウスにて水道水で育成した。2017 年 5 月に、1/5000a ワグナーポットに砂丘未熟土を用いて植え替えを行い、液体肥料 (N: P: K= 6: 10: 5, 液体ハイポネックス、ハイポネックスジャパン (株)) を 1000 倍に希釈して 1 個体あたり 200ml ずつ施肥した。液体肥料の施肥は同様に週に一回おこない、4 週間継続した。植え替えから 5 週後に、緩効性肥料 (マグアンプ K 小粒, N: P: K: Mg=6: 40: 6: 15 ハイポネックスジャパン (株)) を 1 個体あたり 5g 施肥し、実験まで育成した。

2017 年 10 月 3 日時点での生存個体すべてにおいて、樹種ごとに番号付けと樹幹長、直径、葉数の計測をおこなった。生存個体は、メヒルギで 88 個体 (平均樹幹長: 19.1 ± 0.4 cm、平均地際径: 9.1 ± 0.2 mm、平均胚軸径: 3.8 ± 0.1 mm、平均葉数: 7 ± 0.2)、オヒルギで 80 個体 (平均樹幹長: 25.2 ± 3.3 cm、平均地際径: 14.0 ± 0.2 mm、平均胚軸径: 4.7 ± 0.1 mm、平均葉数: 10 ± 0.3) 確認され、これらの中から不健康な個体 (葉が黄色い、先枯れしている) を取り除き、各樹種でランダムに (エクセルのランダム関数を使用した番号付けと並び替えにより) 45 個体を選抜し、5 個体ずつ 9 つのグループに分けた。10 月 4 日に処理前のサンプルを各樹種から 5 個体ずつ採取し、残り 40 個体を実験に使用した。処理前のサンプルはガスクロマトグラフィ用に、葉、幹、根を適量採取し、アセトン入りのバイ

アルにいった。

5.2.2 方法

実験は 2017 年 10 月 5 日～10 月 16 日に鳥取大学乾燥地研究センター実験圃場内の大型ガラス室にておこなった。処理前サンプルを除いた 40 個体を、3%食塩水と水道水をそれぞれ満たしたタンクに根鉢ごと沈め、処理後 1, 3, 6, 12 日後に 5 個体ずつ採取し、採取した葉、幹、根試料に含まれるエタノールとアセトアルデヒドの含有量をガスクロマトグラフィによって測定した。

5.2.3 環境条件

大型ガラス室内の気温と湿度、および照度の測定には、照度・紫外線・温度・湿度データロガー: TR-74Ui と照度 UV センサー: ISA-3151、温湿度センサー: THA-3001 (いずれも T&D Corporation., Japan) を使用した。人間の目の感度に合わせた単位である照度から植物が光合成に使用する光の単位である PPF (光合成光子束密度) に変換するため、<https://www.hoshi-lab.info/env/light-j.html> 内の換算ソフトを使用した。溶存酸素量は pH/DO Meter: D-55 と防水 DO 電極: 9551-100D (いずれも HORIBA, Ltd., Japan) で測定し、酸化還元電位 (以下、ORP) と pH の測定は AS700 pH/mV Meter (AS ONE Corporation., Japan) に ORP 電極 (301PT-S, AS ONE Corporation.) と pH 電極 (201T-S, AS ONE Corporation.) を使用した。

5.2.4 アセトアルデヒド、エタノール分析

水没処理が嫌気呼吸速度におよぼす影響を調べるため、試料中のアセトアルデヒドとエタノールの分析をガスクロマトグラフィにて行った。ガスクロマトグラフィには GC-17A (島津製作所) を用い、検出器は FID を使用し、カラムは Pora PLOT U (Agilent Technologies; 10 m × 0.53 mm capillary column with 20 μm film) を使用した。キャリアガスにはヘリウムを、メイクアップガスには窒素を使用し、流量はそれぞれ 4ml/min, 80ml/min とした。注入口、および検出器の温度は 200°C とし、カラム温度は 160°C とした。

5.2.5 統計解析

嫌気代謝産物であるアセトアルデヒドとエタノール含有量に影響する要因を推定するため、各部位のアセトアルデヒドとエタノール含有量、および環境データを用いて統計解析をおこなった (R version 3.3.2, 使用パッケージは base と multcomp, psycho, mycor, scales (R Development Core Team 2014))。解析は、処理および処理後日数の組み合わせ間での多重比較と、アセトアルデヒドおよびエタノール含有量を目的変数とした一般化線形モデルを用いた。多重比較は TukeyHSD test を行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。

メヒルギとオヒルギのアセトアルデヒド含有量およびエタノール含有量に影響する要因について考察することを目的として、一般化線形モデル (以降 GLM) を用いた解析をおこなった。葉と幹、および根に含まれるアセトアルデヒドおよびエ

タノール量に関する各データを正規化したのち、葉と幹、および根のアセトアルデヒド含有量およびエタノール含有量を目的変数とした GLM を作成した。作成した GLM に ElasticNet 正則化を行い、得られた結果から最適な説明変数の組み合わせとその係数の推定値について検討した。GLM を用いた解析は、処理による影響と経時変化に関わる要因の推定をおこなった。葉と幹、および根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の計 6 つを目的変数とした。説明変数候補は、経過日数、処理方法、処理水の溶存酸素量、処理水の ORP、水温、PPFD、各部位の目的変数ではないアセトアルデヒド含有量かエタノール含有量のどちらかとした。処理のデータには、淡水による処理を 0、塩水による処理を 1 としたダミー変数を用い、その他のデータはすべて数値型とした。正則化におけるハイパーパラメータの α と λ は、10 回交差検証法により決定した。

5.3 結果

5.3.1 実験期間中の環境

実験期間中の平均気温は、それぞれ処理当日:23.4 °C、処理後 1 日:22.6°C、3 日:24.6°C、6 日:27.3°C、12 日:18.5°C だった。同様に PPFD は、それぞれ処理当日:316.7 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、処理後 1 日:241.9 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、3 日:211.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、6 日:284.3 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、12 日:50.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ だった。処理前と処理後の処理水の環境は表 5-1 に示す。

冠水中の実験環境の PPFD、溶存酸素量、酸化還元電位、および水温はおおむね同調する傾向を示し、6 日目が最も高く、12 日目が最も低かった。酸化還元電位は、3 日目が最も高かった。食塩水処理の溶存酸素量は水道水処理の溶存酸素量よりも低かった。

5.3.2 アセトアルデヒドおよびエタノール含有量の経時変化

メヒルギとオヒルギの葉と幹、および根に含まれるアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の経時変化を図 5-1 に示す。メヒルギとオヒルギの各処理における、葉、幹、根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の部位間比較を表 5-2 に示す。

メヒルギにおいて、アセトアルデヒド含有量は、葉、幹、根ともに処理前の個体からも検出されたが、どの日数、処理においても部位ごとの含有量に違いは認められず、日数と処理区間で統計学的有意差は認められなかった (Tukey HSD test, $p > 0.05$)。葉のエタノールは、水道水処理で 3 日目に、食塩水処理で 3 と 6 日目に含有量が高い個体が認められたが、ほとんどの個体からは検出されず、統計学的有意差が認められなかった (Tukey HSD test, $p > 0.05$)。幹のエタノールは処理前の個体からも検出され、水道水処理と食塩水処理ともに 12 日目において含有量が低い傾向が認められたが、すべての日と処理区間で統計学的有意差は認められなかった (Tukey HSD test, $p > 0.05$)。根のエタノール含有量も幹と同様に 12 日目で

少ない傾向が認められたが、統計学的有意差は認められなかった (Tukey HSD test, $p > 0.05$)。

オヒルギの葉のアセトアルデヒド含有量は、処理後 6 日目ごろにピークを迎え、12 日目には低下する傾向が認められ、食塩水処理区では 12 日目と、1 日目および 6 日目の間に統計学的有意差が認められた (Tukey HSD test, $p < 0.05$)。幹のアセトアルデヒド含有量は、各処理後日数と両処理区のいずれにも統計学的有意差が認められず (Tukey HSD test, $p > 0.05$)、明確な傾向も認められなかった。根のアセトアルデヒド含有量は、水道水処理の 6 日目と 1 日目の間に統計学的有意差が認められたものの (Tukey HSD test, $p < 0.05$)、実験期間を通しての明瞭な傾向は認められなかった。オヒルギの葉のエタノール含有量は、実験期間を通して明瞭な傾向は認められず、統計学的有意差も認められなかった (Tukey HSD test, $p > 0.05$)。幹のエタノール含有量についても、実験期間中を通しての明瞭な傾向は認められず、統計学的有意差も認められなかった (Tukey HSD test, $p > 0.05$)。根のエタノール含有量は 12 日目の水道水処理と食塩水処理の間に統計学的有意差が認められたものの (Tukey HSD test, $p < 0.05$)、実験期間を通しての明瞭な傾向は認められなかった。

5.3.3 アセトアルデヒドおよびエタノール含有量の種間比較と部位間比較

メヒルギとオヒルギの個体あたりのアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を表 5-2、各部位の含有量を表 5-3 に示す。

両処理区ともに 1 個体あたりの総アセトアルデヒド含有量は、メヒルギよりもオヒルギで高い傾向が認められ、処理前と、水道水処理の 3 日目と 6 日目、および食塩水処理の 3 日目で統計学的有意差が認められた。一方でエタノール含有量においては、両種間で違いは認められなかった。

メヒルギは、葉のアセトアルデヒド含有量が幹と根のそれに比べて低い傾向が認められた。また、処理前と水道水処理の 1 日後、食塩水処理の 3 日後で、葉 < 根 < 幹の順にアセトアルデヒド含有量が高く、どちらも葉と幹の間に統計学的有意差が認められた。メヒルギのエタノール含有量はほとんど部位間で違いが認められなかったが、水道水処理の 1 日後でのみ、葉および幹よりも根で含有量が高く、統計学的有意差が認められた。

オヒルギのアセトアルデヒド含有量は 12 日後を除いて、葉の含有量が幹と根のものよりも高く、水道水処理の 1、6 日後、食塩水処理の 1、3、6 日後で統計学的有意差が認められた。水道水処理の 12 日後においては、葉および幹よりも根での含有量が高く、統計学的有意差が認められた。オヒルギのエタノール含有量は、メヒルギと同様ほとんど部位間で違いが認められなかったが、食塩水処理の 1 日後でのみ根の含有量が葉と幹よりも高く、統計学的有意差が認められた。

5.3.4 GLM と Elastic Net 正則化による解析

正規化したデータを使用した GLM の説明変数の係数の推定値から、目的変数に対する各説明変数の関係性の大きさを比較・検討することを目的として解析を行った。モデル選択は Elastic Net 正則化により行い、 $0.5 < \alpha < 1.0$ のときの最適 λ の選択を交差検証法により行った。GLM および Elastic Net 正則化の結果を表 5-4 に示す。

GLM と Elastic Net 正則化を用いた解析では、両樹種および部位に共通の傾向は認められなかった。メヒルギでは、葉のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量、根のアセトアルデヒド含有量を目的変数とした 3 つの GLM で説明変数が定数項のみで、本解析からはこれらの含有量に影響する要因は示されなかった。幹のアセトアルデヒド含有量を目的変数とした GLM の説明変数は溶存酸素量で、幹のアセトアルデヒド含有量には処理水中の溶存酸素量が負の影響を及ぼしていることが示された。幹のエタノール含有量を目的変数とした GLM の説明変数は、経過日数、溶存酸素量および PPF D で、溶存酸素量 > 経過日数 > PPF D の順に係数の推定値の絶対値が大きかった。このことから、幹のエタノール含有量には、経過日数が負の、溶存酸素量と PPF D が正の影響を及ぼしていることが示され、相対的に溶存酸素量の影響が最も大きいことが示された。根のアセトアルデヒド含有量を目的変数とした GLM の説明変数は PPF D のみで、根のアセトアルデヒド含有量には PPF D が正の影響を及ぼしていることが示された。

オヒルギでは葉のエタノール含有量、幹のアセトアルデヒド含有量、根のエタノール含有量を目的変数とした GLM では、説明変数が定数項で、これらの目的変数に影響する要因は示されなかった。葉のアセトアルデヒド含有量を目的変数とした GLM では PPF D が説明変数であったことから、葉のアセトアルデヒド含有量には PPF D が正の影響を及ぼしていることが示された。幹のエタノール含有量を目的変数とした GLM では水温が説明変数であったことから、幹のエタノール含有量には水温が正の影響を及ぼしていることが示された。根のアセトアルデヒド含有量を目的変数とした GLM では経過日数、溶存酸素量、エタノール含有量が説明変数で、係数の推定値の絶対値は、経過日数 > 溶存酸素量 > エタノール含有量の順に大きかった。このことから、根のアセトアルデヒド含有量には、経過日数と溶存酸素量、および根のエタノール含有量が正の影響を及ぼしていることが示された。

5.4 考察

5.4.1 環境条件とアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の関係

嫌気呼吸にはおもに乳酸発酵とアルコール発酵があり、植物が断続的な冠水状態にある場合はおもにアルコール発酵が行われる。アルコール発酵は解糖系の最終産物であるピルビン酸をアセトアルデヒドへと還元し、アルコール脱水素酵素がさらに還元することで最終産物のエタノールを得る。そのため、冠水処理によるエタノ

ール含有量の増加やアルコール脱水素酵素の活性化が報告されている (Kennedy et al. 1992; Kreuzwieser and Papadopoulou 2004; Yamanoshita et al. 2005; Kang et al. 2009; Ferner et al. 2012; Kordyum et al. 2017)。本研究では、アルコール発酵においてアルコール脱水素酵素が基質としているアセトアルデヒドとエタノール含有量を測定したが、水道水と食塩水の両処理において、処理前と処理後のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量に差異は認められなかった。これは、処理後 6 日目まで溶存酸素量が高く維持されていたことが要因の一つと考えられる。一般に、水温や塩分濃度の上昇は溶存酸素量を低下させる。本研究においては、食塩水処理の溶存酸素量は水道水処理よりも低かったものの、水温と溶存酸素量は同調する傾向を示しており、処理後 12 日目の溶存酸素量は水温および PPFD とともに低下している。これらの溶存酸素の変動には、光合成が影響していることが推察される。マングローブ樹木などの湿生・湿塩生植物の中には、冠水時でも光環境を整えば光合成をおこなう種が報告されている (Voesenek et al. 2006; Colmer and Flowers 2008; Parolin 2009; Colmer et al. 2013; Mangora et al. 2014)。また、メヒルギとオヒルギの光合成の最適葉温度は 30°C 付近で (川満ら 2003)、本実験の溶存酸素量が高い日の水温とも一致する。これらのことから、水温の上昇にともなう光合成活性の増加により、高い溶存酸素量が維持された結果、嫌気呼吸速度が抑制され、処理後もエタノール含有量が変わらなかったものと推察される。しかし、本研究では夜間の溶存酸素量の測定や、昼間の遮光条件を設定しておらず、GLM を用いた解析においても、説明変数に含まれていた溶存酸素量や PPFD、水温などの係数の推定値の符号が正負混在だった。そのため、マングローブ樹種が水中で光合成を行っている可能性については、今後も検証を重ねる必要があると考えられる。

5.4.2 アセトアルデヒドおよびエタノールの毒性と酸欠耐性

アセトアルデヒドは強い毒性をもつため、アルコール発酵ではすぐさま毒性の低いエタノールに還元される。一方で、本研究では両樹種ともに、エタノールに比べて高い含有量のアセトアルデヒドが検出された。アセトアルデヒド含有量の増加は、細胞活性に障害を引き起こすため、これらの毒性物質蓄積の許容量も冠水耐性機構の 1 つとされている (McKee and Mendelsohn 1987; Perata and Alpi 1991; Kreuzwieser and Papadopoulou 2004; Maricle et al. 2014)。本実験では、エタノールの 10 倍以上のアセトアルデヒドが検出されており、両樹種のアセトアルデヒドに対する耐性の高さが示された。また、アセトアルデヒド含有量は、部位ごとに異なり、メヒルギでは幹や根で、オヒルギでは葉で他の部位に比べて含有量が高かったことから、樹種間だけでなく部位間においても許容量に差異があることが示された。処理前の個体からアセトアルデヒドおよびエタノールが検出されたことも、毒性への耐性により、恒常的にアルコール発酵を行うことができるためと推察される。一般的に、マングローブ樹種の生育する潮間帯の泥土では、定期的な冠水や高

い地下水位によって溶存酸素量と酸化還元電位が低い。このような環境において、嫌気呼吸を恒常的に行うことによるエネルギー不足の緩和は、通気組織が発達していない幼齢および若齢の個体においては有用であると考えられる。

一方で、陸生樹木の一部では土壤冠水時に根部で生成されたエタノールを好気環境にある葉部に転流し、酸化したのちにクエン酸回路で基質として再利用することや、強光ストレス時に発生する活性酸素種による脂質過酸化反応などでアセトアルデヒドが生成されることも報告されている (Kreuzwieser et al. 1999; Kreuzwieser and Papadopoulou 2004; Jardine et al. 2009; Kreuzwieser and Rennenberg 2014)。本実験においても GLM を用いた解析では、オヒルギの葉のアセトアルデヒド含有量に PPFD が正の影響を及ぼしていることが示され、前述の報告と同様の可能性も考えられる。これらのことから、葉のアセトアルデヒドやエタノールの蓄積は、必ずしもアルコール発酵にとまなうものではなく、強光ストレスによる活性酸素種の生成と脂質過酸化反応や光合成による酸素濃度の上昇などが影響している可能性がある。

5.4.3 複合ストレスの影響とマングローブ樹種の耐酸欠性

本実験では、水道水か食塩水かに関わらず、水没処理によるアセトアルデヒドおよびエタノール含有量への影響は認められなかった。また、GLM を用いた解析においても、処理方法が説明変数に含まれず、塩ストレスおよび複合ストレスの影響は認められなかった。一方で、水没後も光合成によって溶存酸素量を高く維持することや、アセトアルデヒドやエタノールを高濃度に蓄積することなどが、マングローブ樹種の高い酸欠耐性の 1 つである可能性が示された。これらの酸欠耐性機構は、特に、サイズの小さい幼齢・若齢の個体が遭遇するであろう、水中で外気との連続性が断たれる状況において、重要になると考えられる。

5.5 図表

表 5-1 処理前と処理後の処理水の環境データ

表中の略記は Salt Conc.は塩濃度を、DO は溶存酸素量を、ORP は酸化還元電位を、Temperature は水温を表す。

Table 5-1 Environmental data of treatment water during the experiment

Abbreviations in the table indicate Salt Conc., salt concentration; DO, dissolved oxygen; ORP, oxidation-reduction potential; Temperature, water temperature, respectively.

Treatment	Past days (days)	Salt Conc. (%)	DO (mg/L)	pH	ORP (mV)	Temperature (°C)
Control	0 (Before)	0.1	4.66	6.4	94	23.5
	1	0.1	3.68	6.6	83	24.5
	3	0.1	5.56	6.9	103	24.7
	6	0.1	5.62	6.5	96	29.6
	12	0.1	3.27	5.8	99	22.1
Saline	0 (Before)	3.1	3.64	5.9	63	23.3
	1	2.9	2.70	6.2	81	24.6
	3	2.9	3.14	6.3	120	24.5
	6	3.0	4.18	6.2	63	29.5
	12	2.8	1.29	5.0	16	20.7

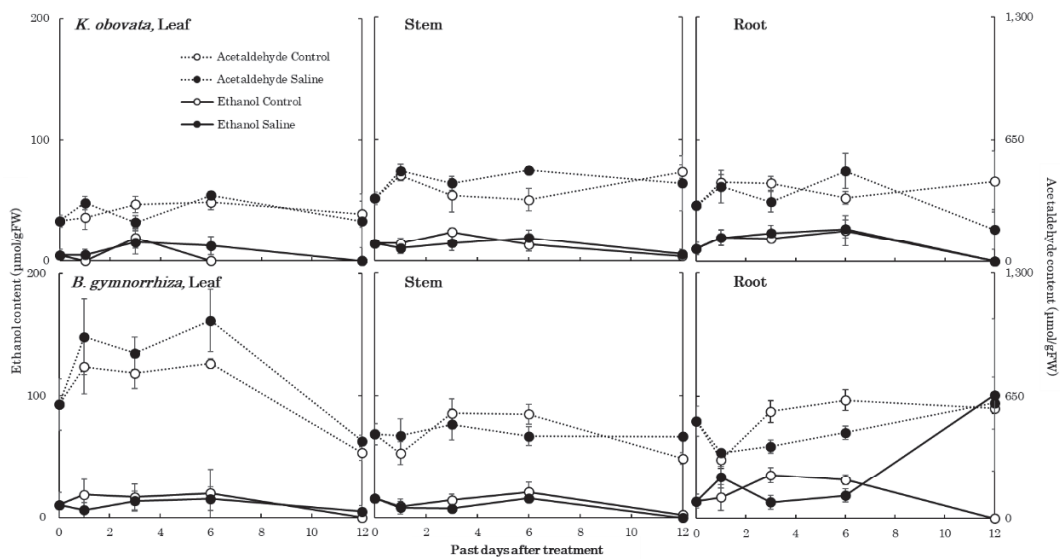


図 5-1 メヒルギ (上段) とオヒルギ (下段) の葉 (左)、幹 (中)、根 (右) に含まれるアセトアルデヒドおよびエタノール量の経時変化

図の第 1 縦軸 (左) はエタノール含有量、第 2 縦軸 (右) はアセトアルデヒド含有量を表す。図の横軸は処理後日数を表し、0 は処理前を表す。図中の実線はエタノールを、点線はアセトアルデヒドを表し、白丸は対照区を、黒丸は塩処理区を表す。図中のエラーバーは標準誤差を表す。

Fig. 5-1 Change of Acetaldehyde and ethanol content in leaves (left) , stems (center) , and roots (right) of *K. obovata* (upper) and *B. gymnorhiza* (lower) before and after treatment

The first vertical line (left) indicates ethanol contents, and the second vertical line indicates acetaldehyde content. The horizontal line shows past days after treatment: 0 indicates before treatment. Each legend indicates solid line, ethanol content; dotted line, acetaldehyde content; blank, control; filled, saline treatment, respectively, and error bars indicate standard error.

表 5-2 メヒルギとオヒルギの個体あたりのアセトアルデヒドおよびエタノール含有量

数値は平均±標準誤差で示し、*p*は樹種間でのTukey HSD testによる帰無仮説の有意確率を示す。

Table 5-2 Acetaldehyde and ethanol content of *K. obovata* and *B. gymnorhiza*

The values show mean ± SE. The *p* indicates *p* value by Tukey HSD test between species.

	Control				Saline			
	<i>K. obovata</i>	<i>B. gymnorhiza</i>	<i>p</i>		<i>K. obovata</i>	<i>B. gymnorhiza</i>	<i>p</i>	
Acetaldehyde	before	855.60 ± 42.36	1571.96 ± 155.49	0.004	855.60 ± 42.36	1571.96 ± 155.49	0.055	
	1 day after	1119.34 ± 136.44	1465.40 ± 148.02	0.570	1201.03 ± 88.49	1756.12 ± 274.55	0.269	
	3 days after	1080.42 ± 70.96	1899.24 ± 139.75	< 0.001	947.78 ± 139.05	1761.33 ± 64.64	0.018	
	6 days after	988.53 ± 72.26	2005.10 ± 102.15	< 0.001	1326.59 ± 87.01	1946.54 ± 157.44	0.151	
	12 days after	1162.90 ± 184.76	1252.38 ± 38.78	0.999	806.51 ± 221.2	1460.88 ± 144.33	0.108	
Ethanol	before	29.84 ± 6.55	40.21 ± 13.16	0.999	29.84 ± 6.55	40.21 ± 13.16	1.000	
	2 day after	34.51 ± 7.28	45.12 ± 15.44	0.999	35.08 ± 10.52	48.19 ± 10.36	1.000	
	3 days after	62.29 ± 9.42	66.65 ± 11.46	1.000	54.00 ± 9.04	34.15 ± 10.85	0.999	
	6 days after	38.98 ± 16.35	72.99 ± 25.31	0.688	58.80 ± 11.54	49.86 ± 11.78	1.000	
	12 days after	4.00 ± 4.00	2.34 ± 1.44	1.000	5.69 ± 3.52	105.79 ± 64.82	0.084	

(μmol/gFW)

表 5-3 各処理におけるメヒルギとオヒルギの各部位のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量

数値は平均±標準誤差で示し、表中の異なるアルファベットは、Tukey HSD test により葉、幹、根の間に統計学的有意差が認められたことを示す ($p < 0.05$)。

Table 5-3 Acetaldehyde and ethanol content of each part of *K. obovata* and *B. gymnorrhiza*

The values show mean ± SE. Different alphabets indicate significantly difference among parts by Tukey HSD test ($p < 0.05$).

Pastdays	<i>K. obovata</i>			<i>B. gymnorrhiza</i>		
	Leaf	Stem	Root	Leaf	Stem	Root
Before	217.66 ± 32.85 b	336.67 ± 10.25 a	301.28 ± 21.87 ab	605.67 ± 137.22 a	447.40 ± 55.40 a	518.91 ± 80.67 a
1	235.45 ± 63.91 b	459.13 ± 55.23 a	424.77 ± 40.16 ab	805.27 ± 145.03 a	346.14 ± 61.23 b	314.01 ± 44.86 b
3	306.91 ± 43.15 a	353.06 ± 35.28 a	420.47 ± 36.87 a	771.52 ± 82.35 a	557.95 ± 77.57 a	569.78 ± 57.96 a
6	317.83 ± 40.52 a	329.18 ± 37.35 a	341.53 ± 34.25 a	822.05 ± 25.88 a	553.15 ± 51.79 b	629.92 ± 55.06 b
12	255.44 ± 69.23 a	478.77 ± 89.97 a	428.69 ± 160.71 a	348.19 ± 41.65 b	317.59 ± 30.62 b	586.61 ± 25.63 a
Before	4.73 ± 4.73 a	14.62 ± 2.39 a	10.5 ± 5.15 a	10.29 ± 10.29 a	15.81 ± 0.63 a	14.12 ± 5.87 a
1	0.00 ± 0.00 b	14.63 ± 4.41 b	19.89 ± 6.43 a	18.78 ± 12.79 a	9.17 ± 5.96 a	17.18 ± 10.61 a
3	19.25 ± 8.64 a	24.22 ± 2.87 a	18.84 ± 1.37 a	16.79 ± 10.59 a	14.34 ± 4.81 a	35.53 ± 6.56 a
6	0.00 ± 0.00 a	13.43 ± 5.57 a	25.56 ± 12.65 a	20.03 ± 20.03 a	21.14 ± 7.98 a	31.83 ± 4.13 a
12	0.00 ± 0.00 a	4.00 ± 4.00 a	0.00 ± 0.00 a	0.00 ± 0.00 a	2.34 ± 1.44 a	0.00 ± 0.00 a
Before	217.66 ± 32.85 b	336.67 ± 10.25 a	301.28 ± 21.87 ab	605.67 ± 137.22 a	447.40 ± 55.40 a	518.91 ± 80.67 a
1	315.29 ± 35.41 a	483.64 ± 28.54 a	402.12 ± 86.45 a	964.91 ± 200.22 a	440.22 ± 88.04 b	351.00 ± 15.85 b
3	210.58 ± 37.02 a	416.87 ± 88.15 a	320.84 ± 54.66 a	877.71 ± 86.52 a	499.4 ± 81.24 b	384.23 ± 33.95 b
6	355.98 ± 18.76 a	486.98 ± 59.19 a	483.65 ± 93.45 a	1051.78 ± 166.31 a	436.51 ± 50.05 b	458.26 ± 35.20 b
12	216.43 ± 146.18 a	417.94 ± 35.48 a	172.15 ± 106.58 a	411.91 ± 30.43 a	434.57 ± 15.32 a	614.41 ± 136.54 a
Before	4.73 ± 4.73 a	14.62 ± 2.39 a	10.5 ± 5.15 a	10.29 ± 10.29 a	15.81 ± 0.63 a	14.12 ± 5.87 a
1	4.81 ± 4.81 a	10.55 ± 4.36 a	19.73 ± 6.75 a	6.16 ± 6.16 b	8.18 ± 5.04 b	33.86 ± 9.18 a
3	15.57 ± 9.84 a	14.77 ± 6.27 a	23.68 ± 6.56 a	13.47 ± 8.31 a	7.47 ± 3.13 a	13.23 ± 5.73 a
6	12.55 ± 7.74 a	19.11 ± 6.65 a	27.16 ± 7.52 a	15.31 ± 9.53 a	15.87 ± 1.93 a	18.69 ± 5.47 a
12	0.00 ± 0.00 a	5.69 ± 3.52 a	0.00 ± 0.00 a	4.86 ± 4.86 a	0.00 ± 0.00 a	100.94 ± 61.84 a

表 5-4 各部位のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を目的変数とした GLM の各説明変数の係数の推定値

説明変数の略記はそれぞれ、Acetaldehyde, アセトアルデヒド含有量; Ethanol, エタノール含有量; Pastdays, 経過日数; DO, 溶存酸素量; PPF, 光合成光量子束密度; WTemp., 水温を示す。

Table 5-4 The estimate coefficient of explanatory variables of GLM using the total acetaldehyde and ethanol content as objective variable.

Each estimate variables indicates Acetaldehyde, Acetaldehyde content; Ethanol, Ethanol content; Pastdays, Past days after treatment; DO, Dissolved oxygen; PPF, Photosynthetic photon flux density; WTemp., Water temperature.

Species	Part	Model		alpha	lambda	Estimate	
		Objective	Explanatory variables				
<i>K. obovata</i>	Leaf	Acetaldehyde	~ 1	0.50	0.54	(Intercept)	0.015
		Ethanol	~ 1	0.50	0.02	(Intercept)	0.047
	Stem	Acetaldehyde	~ Pastdays + DO + PPF	0.50	0.51	(Intercept)	0.013
			Pastdays				-0.098
			DO				0.163
			PPF				0.086
		Ethanol	~ DO	0.50	0.01	(Intercept)	0.080
	Root		DO				-0.082
		Acetaldehyde	~ PPF	1.00	0.53	(Intercept)	0.115
Ethanol		~ 1	0.50	0.14	(Intercept)	0.502	
<i>B. gymnorhiza</i>	Leaf	Acetaldehyde	~1	0.50	0.46	(Intercept)	0.008
		Ethanol	~ PPF	0.73	0.62	(Intercept)	0.093
			PPF				0.295
	Stem	Acetaldehyde	~ Wtemp.	1.00	0.59	(Intercept)	-0.062
			WTemp.				0.097
	Root	Ethanol	~ 1	0.50	0.96	(Intercept)	0.001
		Acetaldehyde	~ 1	0.50	0.18	(Intercept)	0.038
		Ethanol	~ Pastdays + DO + Ethanol	0.96	0.80	(Intercept)	-0.105
			Pastdays				0.475
		DO				0.365	
		Ethanol				0.185	

第6章 ヒルギダマシの呼吸根切除が葉と根のアセトアルデヒドとエタノール含有量に及ぼす影響

ドとエタノール含有量に及ぼす影響

6.1 序論

マングローブ樹種の生育する潮間帯は、高い地下水位や潮汐による影響による酸欠ストレスがマングローブ樹種の生育に影響を及ぼしている。一般に、植物の酸欠耐性機構には、呼吸根や通気組織の発達、不定根の形成、代謝経路の変化などが知られている (Crawford and Baines 1977; Toma et al. 1991; Kozłowski 1997; Vartapetian and Jackson 1997; Kitaya et al. 2002; Kozłowski and Pallardy 2002; Colmer and Flowers 2008)。中でも、呼吸根の発達はマングローブ樹種に広く認められる特徴的な機構で、根圏のガス交換の役割を担っているとされている (Kitaya et al. 2002; Purnobasuki and Suzuki 2005)。呼吸根の形態は種によって多様であるが、根の一部が局所的に成長することによって地上に裸出する点で共通しており (Saifullah and Elahi 1992; Kitaya et al. 2002; Krauss et al. 2003)、このような形態的特徴は、津波に対する減衰効果が高いことが報告されている。

ヒルギダマシはマングローブ樹種の中でも他種に比べて海側の水深の深いところまで分布しており、酸欠耐性が高いと考えられている (Naidoo et al. 1997, 1998; 沖田ら 2017)。また、ヒルギダマシは非常に多くの呼吸根を裸出させることでも知られており、呼吸根の発達が酸欠耐性の高さに関与していることが予想される。そのため、呼吸根の破損や損失が、マングローブ樹種の生育と生理に影響を及ぼすと予想される。特に、ヒルギダマシの呼吸根は、物理的に脆弱であるため、容易に破損すると考えられる。しかし、呼吸根の破損や損失が、マングローブ樹種の生態生理学にどのような影響をおよぼすのかに関する知見はない。

そこで本調査では、酸欠耐性機構とされているヒルギダマシの呼吸根の切除が生存におよぼす影響と、呼吸根切除による葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量への影響から、呼吸根の代謝における役割を考察した。

6.2 調査地と方法

6.2.1 調査地

調査、処理、およびサンプル採取は 2016 年 9 月 27 日～2017 年 1 月 23 日に、沖縄県うるま市川田にある干潟のヒルギダマシ群生地で行った (北緯 26°20'31.3" 東経 127°51'55.7")。

6.2.2 環境条件、個体サイズ測定

採取日の気温、降水量、日照時間は、気象庁データベースより調査地に最も近い気象庁宮城観測所のデータ (<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn>) を使用した。平均気温は採取日前 7 日間の移動平均を、降水量と日照時間は採取日前 7 日間

の合計値をそれぞれ使用した。2016年9月27日と28日に個体選抜と番号付け、GPS座標、樹高、直径、樹冠サイズ、および直立根密度の測定とアセトアルデヒドおよびエタノール分析用の処理前サンプルの採取を行った。同様に、9月28日に各個体付近の土壤酸化還元電位（ORP）の測定を、29日に各個体付近の土壤pH、土壤温度を測定した。個体選抜は、直立根群が他個体から孤立しているものを基準に14個体選抜し、北から順に番号付けをおこなった。ORPとpHの測定はAS700 pH/mV Meter (AS ONE Corporation., Japan) にORP電極（301PT-S、AS ONE Corporation.）とpH電極（201T-S、AS ONE Corporation.）を使用し、各個体の近傍で2か所以上の測定値の平均値を解析に使用した。各個体のGPS座標の測定にはスマートフォンアプリ”Geographica”（keiziweb 2015年7月13日リリース）、を使用した。直立根密度は、50 cm × 50 cmのコドラートを使用して樹冠下と樹冠外でおおよそ東西南北4か所になるように写真を撮影し、画像解析ソフト“かちかちかうんたー ve.2.71”（GTSOFT, http://www.geocities.jp/gen_0715）を使用して直立根の数を計測した。

6.2.3 処理区

処理区は、直立根を切除する“切除区”と“対照区”の2処理区で繰り返しはそれぞれ7個体ずつとした。それぞれの個体の位置関係は図6-1に示す。切除区では、対照個体の直立根を地際から剪定鋏、および草刈り鎌で切り取った。2016年9月28日の干潮の間に全個体の処理をおこなった。

6.2.4 アセトアルデヒド、エタノール分析

アセトアルデヒドおよびエタノール分析のためのサンプルを各個体の葉、および根から採取した。採取日は平成28年9月28日（処理前）、29日（処理後1日）、10月1日（3日）、4日（6日）、7日（9日）、11月1日（33日）、平成29年1月23日（97日）の計7回で、採取時間は9時~12時の干潮時とした。葉のサンプルは東西南北から成熟葉を選んで直径1 cmの穴あけパンチで採取した。根のサンプルは生存・生育への影響が比較的少ない樹冠外2か所を移植ごとで掘り起こし、水道水で洗浄し水気をふき取り適当な大きさに切った細根と水平根を適量採取した。根のサンプル採取時の穴はサンプル採取後に毎回埋め戻した。葉、および根サンプルは10ml容蓋つきバイアル中のアセトン（和光、クロマトグラフ用）5mlに浸漬させて持ち帰り、超音波洗浄機（Ultra Sonic Cleaner AS38A, AS ONE Corp.）を使用して3分間の超音波抽出をおこなった。超音波抽出後、孔径0.45 μmのフィルター（Millex-LH 0.45μm SLLHH13NL, Merck KGaA）を用いて抽出液を濾過した。

葉、および根に含まれるアセトアルデヒドおよびエタノールの分析はガスクロマトグラフィにより行った。ガスクロマトグラフィには、ガスクロマトグラフ（GC-17A、島津製作所）を、検出器はFIDを使用し、カラムはPora PLOT U（Agilent Technologies; 10 m * 0.53 mm capillary column with 20 μm film）を使用した。キャリアガスにはヘリウムを、メイクアップガスには窒素を使用し、流量はそれぞれ

れ 4ml/min, 80ml/min とした。注入口、および検出器の温度は 200°Cとし、カラム温度は 160°Cとした。

6.2.5 統計解析

以下の統計解析にはフリーソフトの R (R Development Core Team 2014) を使用し、glmnet, psych, tidyverse, useful, doParallel パッケージを使用した。

各採取日における、処理区間での葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を比較するために、t test を行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。

葉と根に含まれるアセトアルデヒドおよびエタノール量に影響する要因について考察するために、各データを正規化したのち葉と根のアセトアルデヒド含有量およびエタノール含有量を目的変数とした GLM に ElasticNet 正則化を行い、それぞれの最適な説明変数の組み合わせとその係数の推定値について検討した。GLM を用いた解析は、(1) 個体サイズや生育環境の微小な違いがアセトアルデヒドおよびエタノール含有量に及ぼす影響と、(2) 処理による影響の経時的変化に関する要因の推定をおこなった。(1) では、葉と根のそれぞれの処理前のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の計 4 つを目的変数とした。説明変数候補には、処理方法、樹冠下の呼吸根密度、樹冠外の呼吸根密度、樹高、地際直径、樹冠面積、枝下高、土壤酸化還元電位、土壤 pH、土壤温度、処理前の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量のうち目的変数ではないものを使用した。(2) では、葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の計 4 つを目的変数とした。説明変数候補は、経過日数、日平均気温、日降水量、日照時間、樹冠下の呼吸根密度、樹冠面積、処理方法、葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量のうち目的変数ではないものとした。(1)、(2) とともに、処理方法のデータには、対照区を 0、切除区を 1 としたダミー変数を用い、その他のデータはすべて数値型である。日平均気温は、前 7 日間の日平均気温の移動平均を使用し、日降水量および日照時間は前 7 日間の合計を使用した。正則化におけるハイパーパラメータの α と λ は、交差検証法により決定した。

6.3 結果

6.3.1 呼吸根切除処理による葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量への影響

各処理の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の変化を図 6-3 に、各処理の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を表 6-3 に示す。

対照区と切除区の葉において、アセトアルデヒド含有量とエタノール含有量は同調し、対照区では処理後 1 日で高い傾向が、切除区では処理後も変わらない傾向が認められた。根においては、切除区のアセトアルデヒド含有量とエタノール含有量はおおむね同調する傾向が認められた。切除処理後の対照区では、葉のアセトアル

デヒドおよびエタノール含有量と根のエタノール含有量が処理後 1 日で増加し、処理後 3 日には低下する傾向が認められた。切除処理区では、根のエタノール含有量は対照区と同様に処理後 1 日に増加したが、処理後 3 日ではさらに増加しており、処理後 6 日で低下する傾向が認められた。処理後 6 日に増加する傾向は根のアセトアルデヒドにも認められた。切除処理区の葉のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量は処理後も明確な変化は認められなかった。

処理前において切除区のほうが対照区よりも高く $p = 0.05$ で有意差がみとめられた。処理後 1 日では、対照区のほうが切除区よりも高い傾向が認められ、 $p = 0.06$ であった。葉のエタノール含有量は、処理後 9 日目で切除区のほうが対照区よりも高く、 $p = 0.04$ で統計学的有意差が認められた。根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量はどの採取日においても処理区間で有意差が認められず、処理による明瞭な影響は認められなかった。

6.3.2 GLM と Elastic Net 正則化を使用した解析

6.3.2.1 生育環境がアセトアルデヒドおよびエタノール含有量に及ぼす影響

生育環境がアセトアルデヒドおよびエタノール含有量に及ぼす影響について、処理前の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を目的変数とした GLM と Elastic Net 正則化を用いた解析結果を表 6-4 に示す。

処理前の葉のアセトアルデヒド含有量を目的変数としたモデルでは、樹冠下呼吸根密度と樹高、地際直径、土壤酸化還元電位、土壤 pH、土壤温度、処理前の葉のエタノール含有量、処理前の根のアセトアルデヒド含有量が説明変数に含まれた。係数の推定値は処理前の葉のエタノール含有量>樹高>樹冠下の呼吸根密度>地際直径の順に大きく、処理前の根のアセトアルデヒド含有量に対して、処理前の葉のエタノール含有量と樹高は正の、樹冠下の呼吸根密度と地際直径は負の影響を及ぼしていることが示された。葉のエタノール含有量を目的変数としたモデルでは、説明変数が定数項のみのモデルが最適とされた。根の総アセトアルデヒド含有量を目的変数としたモデルでは、根の総エタノール含有量が説明変数として採択された。根のエタノール含有量を目的変数としたモデルでは、樹冠下の呼吸根密度、樹冠面積、土壤酸化還元電位、葉の総アセトアルデヒド含有量、根の総アセトアルデヒド含有量が説明変数として採択された。これらのことから、根のアセトアルデヒド含有量とエタノール含有量はお互いにポジティブな影響を受けていること、根のエタノール含有量は樹冠下の呼吸根密度や樹冠面積、葉の総アセトアルデヒド含有量の増加によって減少し、土壤酸化還元電位にはポジティブな影響を受けていると考えられた。

6.3.2.2 アセトアルデヒドおよびエタノール含有量の経時変化に及ぼす影響

処理によるアセトアルデヒドおよびエタノール含有量に及ぼす影響について、葉

と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量をそれぞれ目的変数とした GLM と Elastic Net 正則化を用いた解析結果を表 6-5 に示す。

葉のアセトアルデヒド含有量を目的変数としたモデルでは、葉のエタノール含有量が、葉のエタノール含有量を目的変数としたモデルでは、葉のアセトアルデヒド含有量がそれぞれ説明変数に含まれた。これらのことから、葉のアセトアルデヒド含有量とエタノール含有量はそれぞれ正の影響を受けていることが示された。根のアセトアルデヒド含有量を目的変数としたモデルでは根のエタノール含有量が、根のエタノール含有量を目的変数としたモデルでは根のアセトアルデヒド含有量が説明変数に含まれた。このことから、根のアセトアルデヒド含有量とエタノール含有量もお互いに正の影響を受けていることが示された。根のエタノールを目的変数とした GLM では、日照時間も説明変数に含まれていたが、係数の推定値が非常に小さかったことから、日照時間が根のエタノール含有量に及ぼす影響は非常に小さいことが示された。

6.4 考察

6.4.1 呼吸根の役割と嫌気呼吸

マングローブ樹種はヒルギダマシの直立根に代表されるように板根、支持根、匍根、膝根などと呼ばれる地上部に突出した根（以下、まとめて呼吸根とする）をもち、呼吸根を通じたガス交換が促進されることにより根圏の酸欠状態を緩和するとされている（Toma et al. 1991; Saifullah and Elahi 1992; Skelton and Allaway 1996; Pereira et al. 2000; Allaway et al. 2001; Kitaya et al. 2002; Krauss et al. 2003; Purnobasuki and Suzuki 2005; Dahdouh-Guebas et al. 2007）。本調査では呼吸根を地際で切除したことにより冠水時の根圏と大気の連結が断たれ、嫌気代謝産物であるアセトアルデヒドおよびエタノール含有量が増加することが予想された。実際に、根のアセトアルデヒドとエタノール含有量は処理後 3 日目に切除処理区で対照区よりも高くなる傾向が認められ、呼吸根の切除による影響が示唆された。処理後 1 日において、対照区と切除処理区の両方で根のエタノール含有量が処理前より増加する傾向が認められ、葉では対照区でのみアセトアルデヒドおよびエタノール含有量が増加する傾向が認められた。これらのことから、処理後 3 日目に認められた根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の増加傾向は、呼吸根の切除が葉へのアセトアルデヒドとエタノールの転流とその再利用に影響を及ぼしたと推察される。土壌冠水を施した陸生樹木において、根で生成されたエタノールのほとんどが樹幹流で葉に転流され、非酸欠部位で酸化されたのちクエン酸回路に再利用されるとの報告がある（Kreuzwieser et al. 1999; Kreuzwieser and Rennenberg 2014）。本調査の処理後 1 日目に対照区の葉で認められたアセトアルデヒドおよびエタノール含有量の増加はこのような転流と再利用によるものと考えられる。

生育環境がアセトアルデヒドおよびエタノール含有量に及ぼす影響についての GLM と Elastic Net 正則化を用いた解析の結果、葉のアセトアルデヒド含有量は葉のエタノール含有と比例関係にあることが示された。また、アセトアルデヒドおよびエタノール含有量の経時変化へに関する GLM と Elastic Net 正則化を用いた解析では葉と根のそれぞれにおいて、アセトアルデヒド含有量とエタノール含有量のうち目的変数ではない方が説明変数に含まれた。アルコール発酵の過程であるアセトアルデヒドの還元によるエタノールの生成は、アルコール脱水素酵素によって触媒される可逆性の反応であることから、上述のようなアセトアルデヒド含有量とエタノール含有量の同調や、GLM における目的変数と説明変数の関係が認められたと考えられる。

呼吸根による根圏の酸欠状態の緩和機能が報告されている (Toma et al. 1991; Saifullah and Elahi 1992; Skelton and Allaway 1996; Pereira et al. 2000; Allaway et al. 2001; Kitaya et al. 2002; Purnobasuki and Suzuki 2005; Dahdouh-Guebas et al. 2007) 一方で、呼吸根切除では枯死しないことや、たとえ衰弱しても回復することが報告されている (Saenger 2002)。本調査では、切除区と対照区の間の一部でアセトアルデヒド含有量とエタノール含有量に違いが認められたものの、処理前の個体の含有量にも有意差が認められたことや、GLM において処理の有無が説明変数に含まれなかったことから、呼吸根切除処理による嫌気呼吸への影響は小さく、生存には影響しないと考えられた。これらには、本調査の切除処理行った 9 月下旬時点で代謝活性が低下していた可能性や、呼吸根の切断面が裸出していたことによる根圏のガス交換への影響も考えられるため、成長期や夏季の代謝が活発な時期における呼吸根切除や、呼吸根切断面の密封などの影響を検証する必要があると考えられる。

6.5 図表

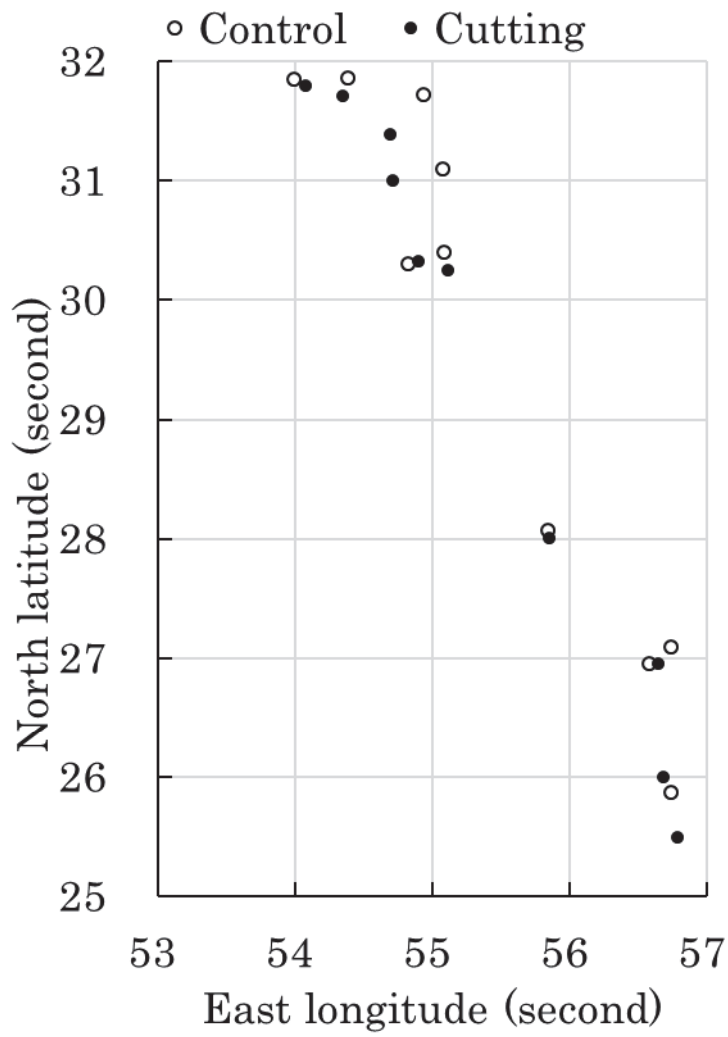


図 6-1 処理個体の位置図

Fig. 6-1 Treated tree location map



図 6-2 各処理区の処理後の冠水状態

Fig. 6-2 Picture of flooded condition of each treatment after treatment



図 6-3 対照区の個体の様子（処理後 33 日目）

Fig. 6-3 Picture of control treatment (33 days after treatment)



図 6-4 除去区の個体の様子（処理後 33 日目）

Fig. 6-4 Picture of removal treatment (33 days after treatment)

表 6-1 採取日の気象条件

Pastdays は、処理後の経過日数を示す。Temperature は日平均気温で採取日前 7 日間の移動平均を、Precipitation は日降水量、ASD は日照時間で、採取日前 7 日間の合計値をそれぞれ示す。

Table 6-1 Weather condition during the experiment

Pastdays shows the past days after the treatment. Temperature shows that moving average of the 7 days before the day of sampling, and Precipitation and ASD shows that total value of the 7 days.

Date	Pastdays (days)	Temperature (°C)	Precipitation (mm)	ASD (hour)
2016/9/28	Before	27.5	6.9	5.6
2016/9/29	1	27.7	6.9	6.3
2016/10/1	3	28.2	4.8	7.8
2016/10/4	6	28.1	4.6	6.3
2016/10/7	9	28.0	2.0	5.9
2016/11/1	33	26.2	0.0	7.2
2017/1/23	97	16.2	5.9	2.6

表 6-2 各個体のサイズと呼吸根密度、および根圏の土壌条件

TR は対照区を 0、切除処理を 1 としたダミー変数で表し、その他の変数名は ORP, 土壌の酸化還元電位、pH, 土壌 pH、STem, 土壌温度、Height, 樹高、Diam, 地際直径、CArea, 樹冠面積、CHHeight, 枝下高、DensUC, 樹冠下の呼吸根密度、DensOC, 樹冠外の呼吸根密度をそれぞれ表す。呼吸根密度は東西南北 4 地点の算術平均±標準誤差で示す。

Table 6-2 Tree size, density of pneumatophore, and soil condition

TR indicates dummy variable in which the control group is 0 and the pneumatophore removal treatment is 1. The other variables indicate ORP, soil redox potential; pH, soil pH; Stem, soil temperature; Height, tree height; Diam, crown diameter; CArea, crown area; CHHeight, branch height; DensUC, pneumatophore density under the canopy; DensOC, pneumatophore density outside the crown, respectively. Pneumatophore density shows arithmetic mean ± standard error of 4 points, north, south, east, and west.

ID	TR	ORP (mV)	pH	STem (°C)	Height (cm)	Diam (cm)	CArea (m ²)	CHHeight (cm)	DensUC (number/m ²)	DensOC (number/m ²)
1	1	-74	7.5	31.9	137.0	10.8	6.9746	30.5	200 ± 51	100 ± 26
2	0	-229	7.6	33.3	125.0	9.8	9.6712	20.2	291 ± 45	168 ± 123
3	1	-113	7.5	32.8	147.5	10.5	6.8195	20.0	277 ± 24	133 ± 50
4	0	-202	7.6	32.8	130.0	8.4	4.7055	30.0	307 ± 34	59 ± 26
5	1	-230	7.5	33.5	116.5	10.8	5.8642	30.0	144 ± 29	72 ± 0
6	0	-166	7.5	32.3	110.0	7.3	5.5238	30.0	190 ± 20	116 ± 24
7	1	-146	7.7	34.6	158.5	13.8	8.4702	20.5	357 ± 78	114 ± 6
8	0	-219	7.8	32.2	130.0	11.4	5.8185	20.5	340 ± 11	116 ± 29
9	1	-168	7.7	31.5	130.0	8.7	5.2427	40.0	239 ± 12	162 ± 44
10	0	-212	7.9	30.0	140.0	25.2	6.4332	30.0	256 ± 26	40 ± 8
11	1	-20	7.6	33.2	151.0	34.9	10.1788	21.0	334 ± 36	103 ± 7
12	0	-34	7.6	33.0	146.5	30.0	6.4602	30.0	281 ± 28	98 ± 11
13	1	-34	7.6	33.0	87.0	15.6	1.8530	28.0	88 ± 11	23 ± 4
14	0	-34	7.6	33.0	93.5	16.8	1.8433	21.0	103 ± 12	51 ± 9

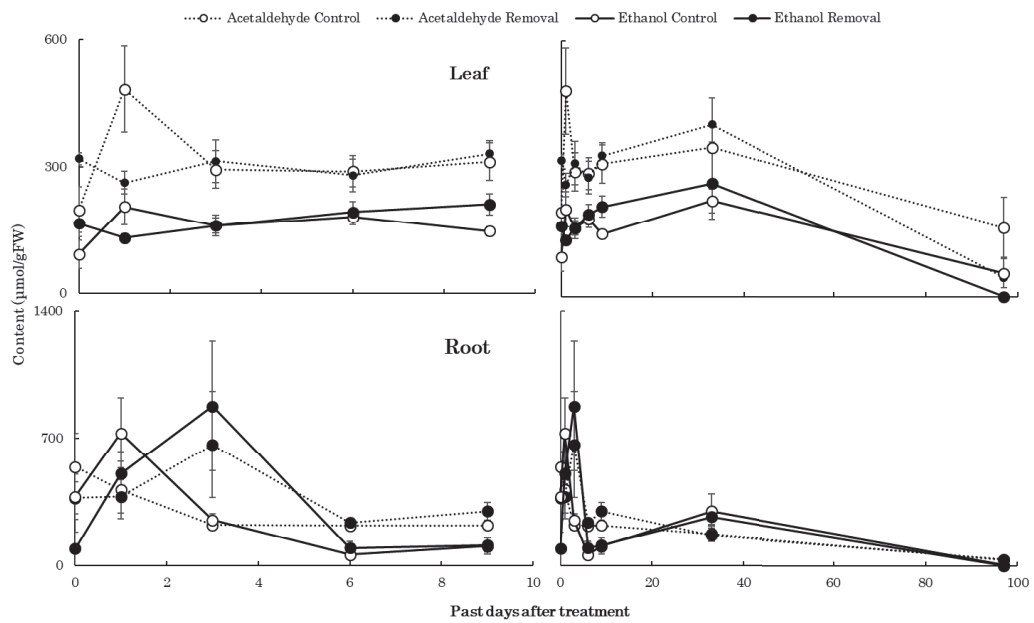


図 6-5 各処理区における葉（上）と根（下）のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量変化
 横軸の0日目は処理前を表す。図中の白丸は対照区、黒丸は切除区、点線はアセトアルデヒド、実線はエタノールを表す。

Fig. 6-5 Change of acetaldehyde and ethanol content in leaves (upper) and root (lower) with each treatment

Zero on horizontal line indicates before treatment. In the figure, the legend shows opened symbols, control; closed symbols, removal; dotted line, acetaldehyde content; solid line, ethanol content, respectively.

表 6-3 各処理の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量

表中の p は処理区間の t 検定における帰無仮説の有意確率を表す。

Table 6-3 Acetaldehyde and ethanol content in leaf and root with each treatment.

The p in the table indicates p value as a result of t test between control and removal.

	Pastdays	Acetaldehyde			Ethanol			p
		Control	Removal	p	Control	Removal	p	
Leaf	Before	198.75 ± 54.86	319.59 ± 14.33	0.05	92.97 ± 33.21	165.75 ± 30.53	0.13	
	1	483.08 ± 100.84	263.05 ± 27.18	0.06	205.69 ± 42.16	131.71 ± 9.37	0.11	
	3	293.86 ± 44.47	313.76 ± 50.79	0.77	161.12 ± 25.03	161.20 ± 17.88	1.00	
	6	289.68 ± 36.77	280.35 ± 38.99	0.86	181.89 ± 18.83	193.63 ± 23.96	0.71	
	9	312.25 ± 44.55	331.79 ± 30.14	0.72	147.23 ± 10.67	212.07 ± 25.37	0.04	
	33	350.70 ± 12.83	404.86 ± 61.14	0.40	225.64 ± 27.94	266.87 ± 83.98	0.65	
	97	161.60 ± 69.79	44.90 ± 5.41	0.12	54.92 ± 33.69	0.00 ± 0.00	0.13	
Root	Before	541.25 ± 187.12	319.59 ± 14.33	0.43	377.65 ± 123.78	91.47 ± 91.47	0.64	
	1	415.43 ± 157.61	263.05 ± 27.18	0.85	729.37 ± 192.17	505.06 ± 121.87	0.34	
	3	222.45 ± 27.30	313.76 ± 50.79	0.16	249.04 ± 35.48	877.21 ± 357.34	0.11	
	6	218.53 ± 24.16	280.35 ± 38.99	0.56	57.86 ± 8.68	95.16 ± 35.34	0.33	
	9	219.94 ± 18.51	331.79 ± 30.14	0.16	104.96 ± 44.66	112.29 ± 40.86	0.91	
	33	173.28 ± 42.89	404.86 ± 61.14	0.89	299.07 ± 95.00	266.52 ± 42.07	0.76	
	97	33.22 ± 4.94	44.90 ± 5.41	0.86	4.23 ± 2.97	0.00 ± 0.00	0.18	

表 6-4 各部位の処理前のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を目的変数とした GLM の各説明変数の係数の推定値

説明変数の略記はそれぞれ、DensUC, 樹冠下の呼吸根密度; Height, 樹高; Diam, 地際直径; ORP, 土壤酸化還元電位; pH, 土壌 pH; Tem, 土壌温度; LEtha_BT, 処理前の葉のエタノール含有量; RAcet_BT, 処理前の根のアセトアルデヒド; LAcet_BT, 処理前の葉のアセトアルデヒド含有量を示す。

Table 6-4 The estimate coefficient of explanatory variables of GLM using the acetaldehyde and ethanol content before the treatment as objective variable.

Each estimate variables indicates DensUC, pneumatophore density under the crown; Height, tree height; Diam, diameter at the ground level; ORP, soil oxidation-reduction potential; pH, soil pH; Tem, soil temperature; LEtha_BT, ethanol content in leaves before the treatment; RAcet_BT, acetaldehyde content in roots before the treatment; LAcet_BT, acetaldehyde content in leaves before the treatment.

Part	Objective	Variables		Estimate	
		Explanatory	alpha lambda		
Leaf	Acetaldehyde ~ DensUC + Height + Diam + ORP + pH + Tem + LEtha_BT + RAcet_BT	(Intercept)	0.97	-5.15×10^{-16}	
		DensUC		-5.26×10^{-1}	
		Height		6.53×10^{-1}	
		Diam		-3.82×10^{-1}	
		ORP		-2.14×10^{-1}	
		pH		1.87×10^{-1}	
		Tem		-4.79×10^{-2}	
		LEtha_BT		8.08×10^{-1}	
		RAcet_BT		1.19×10^{-2}	
		(Intercept)	0.98	0.5579	-9.10×10^{-17}
	Ethanol ~ LAcet_BT			LAcet_BT	1.81×10^{-1}
Root	Acetaldehyde ~ 1	(Intercept)	0.5	-6.94×10^{-17}	
			0.5	1.2507	
				6.94×10^{-17}	

表 6-5 各採取日の葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量をそれぞれ目的変数とした GLM の各説明変数の係数の推定値

説明変数の略記は、LEtha, 各採取日における葉のエタノール含有量; LAcet, 各採取日における葉のアセトアルデヒド含有量; REtha, 各採取日における根のエタノール含有量; DASD, 日照時間; RAcet, 各採取日における根のアセトアルデヒド含有量を示す。日照時間は採取日前 7 日間の合計を使用した。

Table 6-5 The estimate coefficient of explanatory variables of GLM using the acetaldehyde and ethanol content in each sampling day as objective variable.

Each estimate variables indicates LEtha, ethanol content in leaves; LAcet, acetaldehyde content in leaves; REtha, ethanol content in roots; DASD, actual sunshine duration; RAcet, acetaldehyde content in roots. The data of TR using GLM analysis is dummy variable in which the control group is 0 and the pneumatophore removal treatment is 1. The data of ASD used the analysis is total value of the 7 days before sampling day.

Part	Variables		alpha	lambda	Estimate	
	Objective	Explanatory				
Leaf	Acetaldehyde ~ LEtha		0.97	0.0238	(Intercept)	1.84×10^{-16}
					LEtha	3.38×10^{-1}
	Ethanol ~ LAcet		0.98	0.5579	(Intercept)	-5.34×10^{-17}
					LAcet	4.13×10^{-1}
Root	Acetaldehyde ~ REtha		0.8	0.4180	(Intercept)	-1.20×10^{-16}
					REtha	4.06×10^{-1}
	Ethanol ~ DASD + RAcet		0.94	0.1403	(Intercept)	1.12×10^{-16}
					DASD	3.94×10^{-2}
					RAcet	6.28×10^{-1}

第7章 総合考察

近年の気候変動やそれにともなう災害の大型化、巨大地震とそれによる津波に対して、防災・減災機能の高い海岸林の造成と管理が求められている。特に塩性湿地における疎林化や衰弱の問題は、津波などに対する防災能力の穴となる危険性があり、樹種ごとの生理生態的特性の把握とそれに基づいた造成計画の考案が喫緊の課題である。本研究では、中生樹木から構成されるクロマツ林と塩生樹木から構成されるマングローブ林を具体例として、塩性湿地特有の環境条件と、津波を想定した冠水や水没に対する樹木種の応答性について実験・調査によって検証した。中生樹木であるクロマツは冠水環境では衰弱が著しいものの、海水への水没には高い耐性を示した一方で、ヌマスギはクロマツよりも短い時間の水没による衰弱が認められたものの、冠水環境下での生存と短時間の水没後の回復が認められた。湿塩生樹木であるマングローブ樹種では、メヒルギとヒルギダマシにおいて土壌冠水に対する高い耐性が、オヒルギとメヒルギにおいては水没に対する高い耐性が認められた。オヒルギ、メヒルギ、ヤエヤマヒルギのヒルギ科3種と、ヒルギダマシ、ヒルギモドキの耐塩性機構の異なる3つのグループにおいて、浸透調整物質に季節変動が認められた。また、酸欠と塩の複合ストレスは嫌気呼吸速度の増加を招くことが予想されたものの、オヒルギとメヒルギ、ヒルギダマシにおいてそのような傾向は認められなかった。

津波に対しては、密な林分による減衰や漂流物の捕捉などのほか、根返りや枯損が起こりにくい樹木の生育が必要である。しかし、海岸の塩性湿地における造林・植林では、複雑な水文条件や海水の滞水が起こりやすい地形のため、適さない樹木の植栽は、衰弱や生育不良などによる津波に対する防災能力の低下を招く危険性がある。塩性湿地における防災能力の向上には、植栽環境への適応性や費用対効果などを考慮した樹種選抜とゾーニングが必要である。海岸林における塩性湿地特有の環境条件である酸欠と塩の複合ストレスに対する、植栽樹木の生理生態的応答の把握が重要である。

日本の温帯クロマツ林を具体例とした第2章では、塩性湿地を想定した冠水環境でのクロマツの衰弱と、同様の環境でのヌマスギの生存が確認された。クロマツは、冠水環境では葉の伸長や幹の肥大が阻害されていたことから、塩性湿地での生育が可能であるが脆弱な個体が多くなると考えられるため、津波の減衰効果は低く、幹の枯損の危険性が高い林分となることが予想される。ヌマスギでは、土壌冠水による幹の肥大が認められたことや、冠水環境でも根を深く伸ばすとされていること(小田 2000; 小森谷, 福島 2013)などから、塩性湿地の土壌冠水環境においても津波の減衰効果や漂流物の捕捉といった機能を発揮することが可能だと考えられる。熱帯・亜熱帯のマングローブ林を具体例とした第4章では、メヒルギとヒルギダマ

シの土壤冠水による酸欠に対して高い耐性が認められた。潮間帯に生育するマングローブ樹種では、潮汐にともなう土壤冠水に日常的に曝されることから、酸欠耐性が高いと考えられる。土壤冠水にともなう酸欠に対して耐性の高かったヌマスギやメヒルギ、ヒルギダマシは、通気組織や呼吸根を発達させることで根圏の酸欠を緩和しているとされている(Kitaya et al. 2002; Purnobasuki and Suzuki 2005)。一方で、第4章と第6章のヒルギダマシでは、通気組織の未発達な生育ステージでの高い酸欠耐性や、呼吸根の切除が個体の生存と嫌気呼吸に及ぼす影響が限定的であることが示された。これらのことから、呼吸根の発達は必ずしも酸欠耐性の高さに必要なものではない可能性が示された。同様に、呼吸根を介して流入する酸素量が好気呼吸に必要な量のごくわずかでしかないことも報告されており(Allaway et al. 2001)、湿塩生樹木の酸欠耐性の高さは、本研究で示された嫌気呼吸の持続性にあると考えられる。また、呼吸根の存在は、津波の減衰効果が高いとされており(Mazda et al. 1997, 2006; Danielsen et al. 2005; Kathiresan and Rjendram 2005; Hashim and Shahruzzaman 2016)、下層植生や低木種が少ない塩性湿地のような環境においては、呼吸根を発達させる樹種の植栽が防災機能の向上につながると考えられる。第6章において、呼吸根の切除が嫌気呼吸に及ぼす影響が極めて限定的であったことから、呼吸根の損傷が個体の生存に及ぼす影響は軽微であると考えられ、林分密度の低さを呼吸根によって補うことや、津波による呼吸根の損傷が著しい場合においても個体の生存する蓋然性が高いことが考えられる。これらのことから、塩性湿地における樹種選抜では、冠水耐性の高さや呼吸根の発達を基準の1つとすることで、立木密度の低さの改善と林分下層の疎らさを補うことが可能になり、津波に対する防災機能がより高くなると考えられる。

塩性湿地では、上記の土壤冠水に加えて、海水や汽水に含まれる塩、および海水や汽水への水没などのストレス要因も考えられる。津波に対する防災力の持続性の点においては、津波被災後の復旧コストおよび復旧時間の小ささも重要な評価基準であり、海水への水没による地上部からの塩の流入や、被災後の海水の滞水などは、被災後の長期にわたって樹木の生育に深刻な傷害を引き起こす。そのため、植栽樹木は滞水や水没にともなう酸欠と、海水に含まれる塩の複合的なストレスに耐性のある種が望ましい。本研究では、中生樹木では海水への水没に対して、クロマツが高い耐性を示し、ヌマスギは短時間の水没であればその後の回復が認められた。酸欠耐性の高いヌマスギがクロマツよりも水没に対して敏感であったことは、海水への水没では地上部からの脱水と塩の流入を防ぐ能力が重要であることが考えられる。クロマツ同様に水没に対する高い耐性が認められたマングローブ樹種のメヒルギ、オヒルギにおいて、葉のクチクラ層が発達していることや気孔密度が低いことが知られている(Naskar and Palit 2015)。葉のクチクラ層の発達は乾燥地の植物などにもみられ、葉からの水分の蒸発を防ぐ役割を果たしており(Parida and Jha 2010)、これらの形態的特徴が葉からの脱水と塩の流入を防ぐ役割を果たしたと推

察される。そのため、海岸林造成においては、海水への水没が考えられる環境では発達したクチクラ層をもつ樹種が有効である。しかし、クロマツのように水没には高い耐性を示すが、土壌冠水には耐性を持たない樹種も存在するため、土壌冠水と水没のそれぞれの耐性を考慮する必要がある。以上のことから、クチクラ層の発達が水没に強い樹種の基準の1つと考えられるが、水没への耐性と土壌冠水への耐性は必ずしも両立しない。

クチクラ層が比較的発達していないヌマスギにおいても、第2章では、水没時間によっては水没後も回復が認められ、かつ土壌冠水に対する高い耐性が示された。しかし、土壌冠水環境下では水没に耐えられる時間が短くなった。これは、ヌマスギの葉からの塩の流入とその回復プロセスによるものと考えられる。ヌマスギのような落葉性樹木の多くは、クチクラ層が発達しておらず塩の流入や脱水が起りやすいため、塩の流入があった葉の脱落と潜伏芽の開芽によって回復する (Iwanaga et al. 2009; 2011)。これらの回復や既知の耐塩性機構の多くはエネルギー依存とされており、中生樹木でも塩性樹木でも塩ストレス環境ではエネルギー要求が増加する (Krauss et al. 2008)。そのため、ヌマスギで見られた土壌冠水環境下での水没に耐えられる時間の減少は、酸欠にともなうエネルギー生産量の低下により、塩の流入に対処するためのエネルギーが不足したことが要因の一つであると考えられる。このように、冠水耐性を持つ樹種の塩性湿地への植栽では、耐塩性機構の発達と維持におけるエネルギー消費を賄うだけの冠水耐性機構の十分な発達が樹種選抜において考慮すべき点と考えられる。

潮間帯に生育し、通気組織などが未発達な状態で日常的に水没を経験しているマングローブ樹種においては、塩水での水没に対しても高い耐性が認められた。通気組織が発達していても、地上部がすべて水没すると、大気との連続性が断たれることで、通気組織が十分に機能しない。第5章のメヒルギとオヒルギでは、水没時の塩の有無で嫌気呼吸への影響は認められなかったことから、水没時にはエネルギー消費量を抑えるか、エネルギー消費量の低い耐塩性機構を有している可能性が示された。一方で、オヒルギとメヒルギの水没では、日中に溶存酸素濃度が上昇する傾向が認められたことから、水中での光合成の可能性も示唆されており、マングローブ樹種の水没に対する耐性の高さや水中での光合成の可能性を視野に入れた研究が今後必要と考えられる。以上のことから、マングローブ樹種の水没への耐性の高さや、物理的な損傷が深刻でなければ津波による水没後も生存できると考えられ、マングローブ樹種の存在は威力減衰だけではなく、被災後の復旧コストの点においても有用であることが示された。また、このようなエネルギー需要および供給の変化は、樹種特性や生育環境だけではなく、季節的な変動の影響が予想される。

ヌマスギのような落葉樹は、季節によって生理的特性と形態的特性が大きく変化することから、ストレスに対する応答性も季節によって変動すると考えられる。ヌマスギでは、開芽前の個体を水道水へ2年間水没しても排水後は生存していたこと

(Iwanaga et al. 2015)などが報告されており、落葉樹ではとくに季節的な応答の違いが顕著であることが考えられる。また、第3章のマングローブ樹種において、浸透調整物質のうち、糖や糖アルコールにおいては樹種間の違いだけではなく季節変動も確認された。このことは、季節によって形態的な違いが認められない常緑樹においても、津波などに対する生理的な応答が季節変動する可能性を示しており、海岸林の防災能力が季節変動しないような樹種選抜の必要性や植栽時期の重要性が、耐性機構の点からも示された。

ヌマスギやマングローブ樹種などの湿塩生樹木は、土壌冠水による酸欠に対して、通気組織の発達や嫌気呼吸量の維持などの耐性機構を発達させることで対処しており、水没に対しては、これらの機構に加えて休眠や水中での光合成をおこなうことで対処していると考えられた。塩ストレスにたいしては、クチクラ層の発達（クロマツ）や落葉と萌芽による回復（ヌマスギ）、海水中の塩類のろ過、海水由来塩を利用した浸透調整（マングローブ樹種）などの生態生理的特性が明らかになった。津波などの際に想定される海水への冠水や水没などの酸欠と塩の複合ストレスに対しては、エタノールなどの毒性への耐性による嫌気呼吸速度の維持およびエネルギー生産の維持によって対処していることが明らかになった。これらの生態生理学的特性から、防災上の弱点となりやすい塩性湿地においては、（1）高い地下水位や海水の滞水に対する酸欠耐性の高さ、（2）クチクラ層の発達や海水を利用した浸透調整などの安定した耐塩性機構を持つこと、（3）嫌気呼吸速度の維持や水中での好機呼吸維持などによる酸欠と塩の複合ストレスでもエネルギー不足にならないこと、（4）季節による耐性の変化が少ないことの4点に留意した樹種選抜が有用であると考えられる。また、酸欠ストレスの影響を受ける点において共通する土壌冠水と水没であるが、両者の樹木への影響が異なることが示され、持続的な防災能力のある海岸林造成のためには、さらに多くの樹種の海水への水没に対する応答の把握が必要である。温帯の海岸林に限らず、熱帯のマングローブ樹種内でも、自然条件下では樹種特性に従ったすみわけが認められることから、ゾーニングが有効であると考えられる。本研究では、マングローブ樹種の浸透調整物質の蓄積パターンが種間で異なることが明らかになったが、冠水耐性と水没に対する耐性について、すみわけ条件に関わる樹種ごとの生理的なメカニズムの違いは不明だった。酸欠と塩の複合ストレスにともなうエネルギー生産と分配、水中での光合成の可能性などについてさらに追及することで、環境ストレスと代謝の点からマングローブ樹種のすみわけ条件を明らかにすることにつながると考えられる。

第8章 摘要

近年の全球的気候変動にともなう災害の大型化や海面上昇の脅威により、減災・防災能力の高い沿岸植生の保全・再生が急務とされる。沿岸林構成種は海塩に対する高い耐塩性と浸水に対する耐酸欠性を有する特異な植物群であり、これらの樹木のストレス生理の知見の蓄積は、生態系サービスを最大限享受するための適地適木の観点からも重要である。本研究では、沿岸低地域から汽水域にかけて成立する森林の構成樹種において、酸欠と塩の単独あるいは複合的なストレスがおよぼす影響の解明と複合ストレス耐性機構の一端を明らかにすることを目的として行った。

冠水に伴う酸欠ストレスは酸素の拡散速度の低下に伴って代謝不良を引き起こす。また、ナトリウムイオンの隔離・輸送やベタイン類などの浸透調整物質蓄積など、既知の耐塩性機構のほとんどがエネルギー依存型と考えられているため、酸欠と塩の複合ストレスの影響が代謝にも現れると予想された。

第2章では、非塩生樹木でありながら高い耐塩性から国内の主要な海岸林植栽種であるクロマツと、高い耐酸欠性から海岸林後背地への植栽が検討されている北米原産のヌマスギを対象に、模擬海水への水没と土壌冠水による複合ストレス処理を行い、津波や高潮とその後の過湿条件が生存と回復へおよぼす影響を検討した。その結果、クロマツは模擬海水への水没による生存率への影響は認められず、高い耐塩性を示した。一方、水没処理後に土壌冠水条件におかれると模擬海水への水没時間に関わらず枯死がみられ、おおむね既報に沿うものであった。ヌマスギは、淡水での水没や土壌冠水、6時間の模擬海水への水没だけでは枯死が認められなかったが、6時間以上の模擬海水への水没に土壌冠水も組み合わせると枯死が認められた。以上のことから、クロマツとヌマスギは複合的なストレスを受けた場合に単独ストレスの場合とは異なる応答を示すことが明らかになった。海岸林後背地でのヌマスギ植栽による防災能力向上が示唆されたが、耐塩性の点で課題があり、クロマツなどの耐塩性の高い樹種とのゾーニングの必要があると考えられた。

第3章以降では酸欠と塩の複合ストレスが湿塩性植物であるマングローブ樹種の代謝に及ぼす影響について検討した。第3章では国内に自生するマングローブ5樹種を対象として、耐塩性機構の1つである浸透調整物質蓄積に及ぼす季節変動と、それにとともなう代謝変化の影響について調査した。Naを含む葉内陽イオン含有量は、マングローブ5樹種の間では異なったが、それぞれの種において明らかな季節変動は認められなかった。一方で、可溶性糖および糖アルコール含有量は季節変動が大きかった。これらのことから、陽イオンの蓄積は代謝の影響を受けにくい、可溶性糖・糖アルコールは、冬季の代謝活性の低下やフェノロジーによる影響を受けると考えられた。

第4章では、酸欠と塩の複合ストレスがマングローブ樹種のメヒルギとヒルギダ

マシの生存と生理に及ぼす影響を検討した。両樹種とも、塩処理では光合成速度の低下など既報に沿う結果が認められたが、その影響は限定的で、高い酸欠耐性が示された。複合ストレス処理では、ヒルギダマシの光合成速度の回復傾向に塩処理と異なる影響が認められたものの、おおむね同様の影響が認められた。両樹種ともに葉と根の可溶性糖含有量においては、複合ストレスの影響が認められ、酸欠ストレスにともなう代謝の経路や活性の変化が示唆された。

マングローブ樹種の酸欠耐性機構には、通気組織や呼吸根といった組織発達が重要な役割を担っていると考えられている。そこで、第5章と第6章では、通気組織や呼吸根が代謝、特に嫌気呼吸におよぼす影響を明らかにするために実験を行った。

第5章では、通気組織が未発達なマングローブ樹種の苗木は、水没処理による酸欠ストレス時に、嫌気呼吸の増加によってエネルギー不足を解消または緩和しているのかどうかについて検証する実験を行った。模擬海水に頂芽まで冠水させたときのメヒルギとオヒルギの当年生苗木における、葉、幹、根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量に及ぼす影響について実験を行った。GLM解析から、葉、幹、根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量が、日中の水温上昇やPPFDの増加の影響を受けることが示された。また、処理後6日後までは日中の溶存酸素量が高く維持されており、光合成や通気組織などを通じた酸素濃度維持機構の寄与も示唆された。

第6章では、ヒルギダマシの酸欠耐性機構である呼吸根の切除が葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノールの含有量に及ぼす影響について実験を行った。呼吸根の切除処理の前後で葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量に違いは認められなかった。また、葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量は、切除区と切除しなかった対照区間でも違いは認められなかった。葉と根のアセトアルデヒドおよびエタノール含有量を目的変数としたGLM解析でも、処理は説明変数として残らなかったことから、樹体内外のガス交換を担っているとされている呼吸根であるが、呼吸根の切除が嫌気呼吸へ及ぼす影響は極めて限定的であると考えられた。

複合ストレスの影響は、クロマツとヌマスギでは生存や成長に認められ、それぞれの樹種が持つ耐性によって応答が異なった。マングローブ樹種では生存や成長に複合ストレスの影響はほとんど認められなかったものの、可溶性糖含有量など生理活動において認められた。酸欠と塩の複合ストレス下ではマングローブ樹種は、アセトアルデヒドやエタノールなどの毒性に対する耐性の高さや、光合成や酸素濃度維持機構の発達もマングローブの酸欠耐性機構の一つであると考えられた。また、代謝の影響を受けにくい耐塩性機構を持つことが示唆された。このようなマングローブ樹種に特徴的な耐性機構は、酸欠と塩の複合ストレス下におけるエネルギー問題解決の一端を担っていると考えられた。酸欠と塩の複合ストレスへの応答と耐性機構の発達について明らかにするためには、本研究中で示唆された水中での光合成

や、酸欠時の耐塩性機構の経時的、強度的変動などの可能性とその詳細をさらに追求していく必要がある。

第9章 Summary

Recent global climate changes and rising sea levels have shown an urgent need to conserve and restore ecosystem services, especially coastal vegetation with disaster mitigation and prevention capabilities. The accumulation of knowledge on stress physiology of trees is also important from the viewpoint of planting suitable trees at right spot to benefit from ecosystem services as much as possible.

The purpose of these studies is to clarify effects of combined stresses of soil oxygen deficiency and saline on growth and physiology of coastal tree species, and to clarify mechanisms of stress tolerance against combined stresses in mangrove species. I conducted experiments and investigations to provide physiological knowledge and contribute to the conservation and regeneration of coastal vegetation.

In Chapter 2, in order to clarify the effects of combined stresses of high salt concentration and oxygen deficiency in the soil that occur when coastal tree species planted in swamps are flooded by *tsunami* or storm surge, I conducted experiments on effects of total submergence in artificial saline water and soil flooding after the submergence on the survival, growth and physiology of *Taxodium distichum* and *Pinus thunbergii* saplings. As a result, the survival rate of *P. thunbergii* was not affected by submergence in saline water, but high mortality rate was observed by soil flooded condition regardless of the submergence periods. These results were similar to the previous reports. All individuals survived even if *T. distichum* saplings were submerged in saline water for 6 hours or less. However, in the experiment combining total submersion and soil flooding, dead saplings were observed. These results suggest that planting *T. distichum* species in coastal swamp region may enhance the disaster prevention function more than *P. thunbergii* species. However, because *T. distichum* species have a problem in salt tolerance, it seems to be better to plant them alternately in combination with salt-tolerant tree species such as *P. thunbergii*. Furthermore, the combined stresses of total submersion in saline water for 6 hours or more and soil flooding had a considerable effect on the content of betaines in the leaves of *P. thunbergii* saplings and the diameter growth of *T. distichum* saplings.

Since the oxygen deficiency stress caused by the flooding reduces the diffusion rate of oxygen, the plant body is deficient in metabolism. In addition, most of the known salt tolerance mechanisms, including the accumulation of leaf betaines in *P. thunbergii*, are considered to be energy dependent. For this reason, it was

expected that the combined stress of oxygen deficiency and salt would also appear in metabolism. Therefore, effects of combined stresses on the metabolism of mangrove tree species were examined in Chapter 3 and subsequent chapters.

First, in Chapter 3, I investigated the seasonal variation on the accumulation of osmolytes such as cations, soluble sugars and sugar alcohol, which is one of the salt tolerance mechanisms of mangrove species, and the influence on the metabolic change associated with it. The cation content was different among the five mangrove species, but no seasonal variation was observed. On the other hand, total soluble sugar and total sugar alcohol contents showed seasonal fluctuation. From these facts, it was thought that, although the accumulation of cations was not susceptible to metabolism, that of soluble sugars and sugar alcohols was affected by the reduction of metabolic activity in winter and phenology.

In Chapter 4, effects of combined stresses of hypoxia and salt on the survival and physiology of two mangrove tree species, *Kandelia obovata* and *Avicennia marina*, were examined by experiments. In both tree species, it was confirmed that salt treatment reduces the rate of photosynthesis as previously reported. However, the effect of the hypoxia treatment was limited. This result indicates that both tree species have high hypoxia tolerance. The effect of the salt treatment observed was similar to those of the combined stress treatment, however, the recovery tendency of the photosynthetic rate of *A. marina* under the combined stress treatment was affected differently from the salt treatment. In both tree species, the effects of combined stress were observed in the soluble sugar content of the leaves and roots, suggesting that metabolic pathways and activities may be changed due to anoxic stress.

Aerenchyma tissue in respiratory roots such as pneumatophore play important roles in the mechanism of tolerance against stresses caused by rhizospheric oxygen deficiency in mangrove species. In Chapters 5 and 6, several experiments were conducted to clarify the effects of aerenchyma tissue of pneumatophore on metabolism, especially anaerobic respiration.

In Chapter 5, experiments were performed to verify whether the energy deficit was resolved or alleviated by increasing anaerobic respiration in an oxygen-deficient environment caused by complete submersion of mangrove tree seedlings whose aerenchyma structure is underdeveloped. Further experiments were conducted to determine the effect of complete submersion in artificial seawater on changes in acetaldehyde and ethanol content in leaves, stems and roots of *K. obovata* and *A. marina* seedlings. In the both tree species, there were

no significant effects of saline water treatment on acetaldehyde or ethanol content in leaves, stems and roots, and no significant difference for each part of organs. In the GLM analysis, however, PPF, water temperature, dissolved oxygen amount, etc. are adopted as explanatory variables in the model that uses acetaldehyde and ethanol contents of leaves, stems and roots as objective variables respectively, and acetaldehyde and ethanol contents in tissues are adopted. It has been shown that it is affected by rising water temperature and PPF during the daytime. Up to 6 days after treatment, the amount of dissolved oxygen in the daytime was maintained, and in addition to the development of aerenchyma tissue of mangrove tree species, maintaining the oxygen concentration in plant body and water by photosynthesis in water, suggesting one of the tolerance mechanisms under oxygen deficiency.

In Chapter 6, an experiment was conducted on the effect of the removal of pneumatophores, which are responsible for the mechanism of resistance to hypoxia in *A. marina*, on the acetaldehyde and ethanol contents of leaves and roots. There was no difference in acetaldehyde or ethanol content in leaves and roots before and after excision of respiratory roots. Also, acetaldehyde and ethanol content did not differ between the excised and non-resected control groups. Treatment did not remain as an explanatory variable even in GLM analysis with the acetaldehyde and ethanol contents of leaves and roots as the objective variable. From this, it is thought that although pneumatophores are considered to be responsible for gas exchange inside and outside the roots of *Avicennia* species, the influence of the removal of them on anaerobic respiration is extremely limited. The salinity tolerance mechanism of mangrove species has been found to be less susceptible to metabolism, and to have high anoxic tolerance that is not dependent solely on aerenchyma tissue. The tolerance of mangrove tree species to cytotoxic compounds such as acetaldehyde and ethanol and photosynthesis in water were also considered to be one of the mechanisms of tolerance to oxygen deficiency.

Future research will need to pursue further details on photosynthesis in water and variations in the mechanism of salt tolerance in an oxygen deficient soil environment.

第10章 謝辞

本研究を進めるにあたり、鳥取大学乾燥地研究センターの山中典和教授には多大なるご支援とご指導を賜りました。ここに厚くお礼申し上げます。また、島根大学の川口英之教授、久保満佐子准教授、鳥取大学乾燥地研究センターの谷口武士准教授、鳥取大学農学部岩永史子講師にはそれぞれ、ご専門の立場から貴重なご意見をいただきました。厚くお礼申し上げます。琉球大学農学部谷口真吾教授、山人塾塾長山本福壽氏にはそれぞれご専門の立場からの貴重なご意見と、調査・実験に関する環境やご助言の数々をいただきました。厚くお礼申し上げます。

琉球大学農学部松本准教授、琉球大学農学部造林学研究室の学生の方々、野口よしの氏、岡崎（立石）麻紀子氏、鳥取大学農学部造林学研究室の学生の方々、鳥取大学乾燥地研究センターの技術職員や教職員、学生の方々には、温かいご支援と研究へのご協力をいただきました。厚くお礼申し上げます。

第11章 引用文献

- Ajonina, G.N., Aya, F.A., Diame, A., Armah, A.K., Camara, S., Amegankpoe, C., Zabbey, N., and Kaya, P. (2016) Overview of experience of mangrove reforestation in West and Central Africa. Proceedings of the 38th Annual Conference of the Forestry Association of Nigeria Held in Port Harcourt, Rivers State. Nigerian J. Forestry, 12–21
- Allaway, W.G., Curran, M., Hollington, L.M., Ricketts, M.C., and Skelton, N.J. (2001) Gas space and oxygen exchange in roots of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. var. *australasica* (Walp.) Moldenke ex NC Duke, the Grey Mangrove. Wetl. Ecol. Manag. 9 : 211–218
- Bashan, Y., Moreno, M., Salazar, B., and Alvarez, L. (2013) Restoration and recovery of hurricane-damaged mangroves using the knickpoint retreat effect and tides as dredging tools. J Environ Manag 116 : 196–203
- Basyuni, M., and Sulistiyono, N. (2018) Deforestation and reforestation analysis from land-use changes in North Sumatran Mangroves, 1990-2015. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 309 : 012018
- Chaves, M.M., Flexas, J., and Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Ann. Bot. 103 : 551–560
- Chowdhury, A., and Maiti, S.K. (2014) Mangrove reforestation through participation of vulnerable population: engineering a sustainable management solution for resource conservation. Int. J. Environ. Res. Dev. 4 : 1–8
- Colmer, T.D., and Flowers, T.J. (2008) Flooding tolerance in halophytes. New Phytol. 179 : 964–974
- Colmer, T.D., Pedersen, O., Wetson, A.M., and Flowers, T.J. (2013) Oxygen dynamics in a salt-marsh soil and in *Suaeda maritima* during tidal submergence. Environ. Exp. Bot. 92 : 73–82
- Crawford, R.M.M., and Baines, M.A. (1977) Tolerance of anoxia and the metabolism of ethanol in tree roots. New Phytol. 79 : 519–526
- Dahdouh-Guebas, F., Kairo, J.G., De Bondt, R., and Koedam, N. (2007) Pneumatophore height and density in relation to micro-topography in the grey mangrove *Avicennia marina*. Belg. J. Bot. 140 : 213–221
- Danielsen, F., Sørensen, M.K., Olwig, M.F., Selvam, V., Parish, F., Burgess, N.D., Hiraishi, T., Karunagaran, V.M., Rasmussen, M.S., Hansen, L.B.,

- Quarto, A., and Suryadiputra, N. (2005) The Asian Tsunami: A Protective Role for Coastal Vegetation. *Science* 310 : 643–643
- Derksen - Hooijberg, M., Angelini, C., Lamers, L.P., Borst, A., Smolders, A., Hoogveld, J.R., Paoli, H., Koppel, J., Silliman, B.R., and Heide, T. (2018) Mutualistic interactions amplify saltmarsh restoration success. *J Appl Ecol* 55 : 405–414
- Elster, C. (2000) Reasons for reforestation success and failure with three mangrove species in Colombia. *Forest Ecol. Manag.* 131 : 201–214
- FAO (2007) The world's mangroves 1980-2005 -A thematic study prepared in the framework of the Global Forest Resources Assessment 2005-
- Fauzi, A., Skidmore, A.K., Heitolönig, I.M.A., Gils, H. van, and Schlerf, M. (2014) Eutrophication of mangroves linked to depletion of foliar and soil base cations. *Environ. Monit. Assess.* 186 : 8487–8498
- Ferner, E., Rennenberg, H., and Kreuzwieser, J. (2012) Effect of flooding on C metabolism of flood-tolerant (*Quercus robur*) and non-tolerant (*Fagus sylvatica*) tree species. *Tree Physiol.* 32 : 135–145
- Flowers, T.J., and Colmer, T.D. (2008) Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol.* 179 : 945–963
- Flowers, T.J., and Colmer, T.D. (2015) Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. *Annals of Botany* 115 : 327–331
- Flowers, T.J., Munns, R., and Colmer, T.D. (2015) Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Ann. Bot.* 115 : 419–431
- Gilman, E., Ellison, J., Duke, N., and Field, C. (2008) Threats to mangroves from climate change and adaptation options: A review. *Aquat. Bot.* 89 : 237–250
- Gucci, R., Lombardini, L., and Tattini, M. (1997) Analysis of leaf water relations in leaves of two olive (*Olea europaea*) cultivars differing in tolerance to salinity. *Tree Physiol.* 17 : 13–21
- Hashim, A., and Shahruzzaman, D. (2016) Effectiveness of Mangrove Forest as Coastal Protection along the West Coast of Northern Peninsular Malaysia. *MATEC Web of Conferences* 87 : 01014
- He, B., Lai, T., Fan, H., Wang, W., and Zheng, H. (2007) Comparison of flooding-tolerance in four mangrove species in a diurnal tidal zone in the Beibu Gulf. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 74 : 254–262
- Hibino, T., Meng, Y.-L., Kawamitsu, Y., Uehara, N., Matsuda, N., Tanaka, Y., Ishikawa, H., Baba, S., Takabe, Tetsuko, Wada, K., Ishii, T., and Takabe, Teruhiro (2001) Molecular cloning and functional characterization of two

- kinds of betaine-aldehyde dehydrogenase in betaine-accumulating mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. Plant Molecul. Biol. 45 : 353–363
- Hoepfner, S.S., Shaffer, G.P., and Perkins, T.E. (2008) Through droughts and hurricanes: Tree mortality, forest structure, and biomass production in a coastal swamp targeted for restoration in the Mississippi River Deltaic Plain. Forest Ecol. Manag. 256 : 937–948
- Iwanaga, F., Hirazawa, M., Takeuchi, T., and Yamamoto, F. (2011) Effects of irregular saltwater submergence on *Taxodium distichum* seedlings. JCR 27 : 193–198
- Iwanaga, F., Takeuchi, T., Hirazawa, M., and Yamamoto, F. (2009) Effects of total submergence in saltwater on growth and leaf ion content of preflooded and unflooded *Taxodium distichum* saplings. Landsc.Ecol. Eng. 5 : 193–199
- Iwanaga, F., Tanaka, K., Nakazato, I., and Yamamoto, F. (2015) Effects of submergence on growth and survival of saplings of three wetland trees differing in adaptive mechanisms for flood tolerance. Forest Systems 24 : 1–9
- 岩永史子, 山本福壽, Maimaiti, A., 吉田佑美, 森信寛, 谷口真吾, 山中典和 (2013) 西表島に生育するマングローブ 4 種の浸透調節物質の濃度変化と陽イオンとの関係. 日緑工誌 39 : 21–26
- Janssen, R., and Padilla, J.E. (1999) Preservation or Conversion? Valuation and Evaluation of a Mangrove forest in the Philippines. Environ. Resour. Econ. 14 : 297–331
- Jardine, K., Karl, T., Lerdau, M., Harley, P., Guenther, A., and Mak, J. (2009) Carbon isotope analysis of acetaldehyde emitted from leaves following mechanical stress and anoxia. Plant Biol. 11 : 591–597
- Kang, Y.-Y., Guo, S.-R., Li, J., and Duan, J.-J. (2009) Effect of root applied 24-epibrassinolide on carbohydrate status and fermentative enzyme activities in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings under hypoxia. Plant Growth Regulation 57 : 259–269
- Kathiresan, K., and Estuarine, N. (2005) Coastal mangrove forests mitigated tsunami. Estuar. Coast. Shelf Sci. 65 : 601–606
- 川満芳信, 川元知行, 吉原徹, 村山盛一 (1997) 植物体中の各種イオン動態からみたマングローブ 3 種の耐塩性の比較. 琉球大学農学部学術報告 44 : 91–105
- 川満芳信, 北原良太, 野瀬昭博 (1995) 沖縄産マングローブの葉の光合成速度および水ポテンシャルに及ぼす NaCl 濃度の影響—Effect of NaCl on leaf gas exchange rate and water potential in Okinawan mangroves.—. 琉球大学農学部学術報告 42 : 9–22

- 川満芳信, 吉原徹, 川元知行, 徳丸慶太郎 (2003) マングローブ 3 樹種の葉のガス交換特性に与える NaCl 濃度および環境要因の影響. 琉球大学農学部学術報告 50 : 7-19
- Kennedy, R., Rumpho, M., and Fox, T. (1992) Anaerobic metabolism in plants. *Plant Physiol.* 100 : 1-6
- Khan, F., Adnan, M. Y., and Aziz, I. (2016) Metabolic implications of salt induced osmolyte accumulation in *Avicennia marina*. *Pak. J. Bot.* 48(1): 29-36
- Kitaya, Y., Yabuki, K., Kiyota, M., Tani, A., Hirano, T., and Aiga, I. (2002) Gas exchange and oxygen concentration in pneumatophores and prop roots of four mangrove species. *Trees* 16 : 155-158
- 香口成美, 岡田憲和, 山本福壽, 山中典和 (2013) 高塩濃度環境が *Salix psammophila* と *Salix matsudana* 挿し木苗の成長・光合成およびベタイン蓄積におよぼす影響. 日緑工誌 39 : 44-49
- 小森谷あかね, 福島成樹 (2013) 海岸防災林の低湿地に植栽したヌマスギ (*Taxodium distichum* (L.) Rich) の成長. 関東森林研究 64 : 49-52
- Kordyum, E., Kozeko, L., Ovcharenko, Y., and Brykov, V. (2017) Assessment of alcohol dehydrogenase synthesis and aerenchyma formation in the tolerance of *Sium* L. species (Apiaceae) to water-logging. *Aquat. Bot.* 142 : 71-77
- Kotula, L., Clode, P.L., Striker, G.G., Pedersen, O., Läuchli, A., Shabala, S., and Colmer, T.D. (2015) Oxygen deficiency and salinity affect cell - specific ion concentrations in adventitious roots of barley (*Hordeum vulgare*) . *New Phytologist* 208 : 1114-1125
- Kozłowski, T., and Pallardy, S. (2002) Acclimation and Adaptive Responses of Woody Plants to Environmental Stresses. *Botanical Rev* 73 : 270-334
- Kozłowski, T.T. (1997) Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree physiology Monograph No.1*
- Krauss, K.W., Allen, J.A., and Cahoon, D.R. (2003) Differential rates of vertical accretion and elevation change among aerial root types in Micronesian mangrove forests. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 56 : 251-259
- Krauss, K.W., Lovelock, C.E., McKee, K.L., López-Hoffman, L., Ewe, S.M., and Sousa, W.P. (2008) Environmental drivers in mangrove establishment and early development: a review. *Aquat. Bot.* 89 : 105-127
- Kreuzwieser, J., and Papadopoulou, E. (2004) Interaction of flooding with carbon metabolism of forest trees. *Plant Biol.* 6 : 299-306
- Kreuzwieser, J., and Rennenberg, H. (2014) Molecular and physiological responses of trees to waterlogging stress. *Plant Cell Environ.* 37 : 2245-2259

- Kreuzwieser, J., Scheerer, U., and Rennenberg, H. (1999) Metabolic origin of acetaldehyde emitted by poplar (*Populus tremula* × *P. alba*) trees. *J. Exp. Bot.* 50 : 757–765
- Lang, T., Sun, H., Li, N., Lu, Y., Shen, Z., Jing, X., Xiang, M., Shen, X., and Chen, S. (2014) Multiple signaling networks of extracellular ATP, hydrogen peroxide, calcium, and nitric oxide in the mediation of root ion fluxes in secretor and non-secretor mangroves under salt stress. *Aquat. Bot.* 119 : 33–43
- Liang, S., Zhou, R., Dong, S., and Bulletin, S.S. (2008) Adaptation to salinity in mangroves: Implication on the evolution of salt-tolerance. *Chin. Sci. Bull.* 53: 1708.
- Loreti, E., van Veen, H., and Perata, P. (2016) Plant responses to flooding stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 33 : 64–71
- Lovelock, C.E., Krauss, K.W., Osland, M.J., Reef, R., and Ball, M.C. (2016) The physiology of mangrove trees with changing climate. *Tropical Tree Physiol.* 6 : 149–179
- Luzhen, C., Wenqing, W., and Peng, L. (2005) Photosynthetic and physiological responses of *Kandelia candel* L. Druce seedlings to duration of tidal immersion in artificial seawater. *Environ. Exper. Bot.* 54 : 256–266
- Maimaiti, A., Yunus, Q., Iwanaga, F., Mori, N., Tanaka, K., and Yamanaka, N. (2014) Effects of salinity on growth, photosynthesis, inorganic and organic osmolyte accumulation in *Elaeagnus oxycarpa* seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 36 : 881–892
- Mangora, M.M., Mtolera, M.S.P., and Björk, M. (2014) Photosynthetic responses to submergence in mangrove seedlings. *Mar. Freshwater. Res.* 65 : 497–504
- Maricle, B., White, S., Meraz, A., Maforo, N., Biggs, T., Martin, N., and Caudle, K. (2014) Effect of Ethanol Toxicity on Enzyme Activity in Anaerobic Respiration in Plants. *Trans. Kans. Acad. Sci.* 117 : 237–244
- Mazda, Y., Magi, M., Ikeda, Y., Kurokawa, T., and Asano, T. (2006) Wave reduction in a mangrove forest dominated by *Sonneratia* sp. *Wetl Ecol Manag* 14 : 365–378
- Mazda, Y., Magi, M., Kogo, M., and Hong, P. (1997) Mangroves as a coastal protection from waves in the Tong King delta, Vietnam. *Mangroves Salt Marshes* 1 : 127–135
- McIvor, A., Möller, I., Spencer, T., and Spaldings, M. (2013) Mangroves as a sustainable coastal defence. *Proceedings of the 7th International Conference*

- on Asian and Pacific Coasts (APAC 2013) Bali, Indonesia, September 24-26, 2013
- McKee, K.L., and Mendelssohn, I.A. (1987) Root metabolism in the black mangrove (*Avicennia germinans* (L.) L.) : Response to hypoxia. *Environ. Exp. Bot.* 27 : 147–156
- Naskar, S., and Palit, P. (2015) Anatomical and physiological adaptations of mangroves. *Wetl. Ecol. Manag.* 23 : 357–370
- Nemati, I., Moradi, F., Gholizadeh, S., Esmaeili, M.A., and Bihamta, M.R. (2011) The effect of salinity stress on ions and soluble sugars distribution in leaves, leaf sheaths and roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant Soil Environ.* 57 : 26–33
- Nguyen, H.-H. (2014) The relation of coastal mangrove changes and adjacent land-use: A review in Southeast Asia and Kien Giang, Vietnam. *Ocean Coast. Manag.* 90 : 1–10
- 小田隆則 (2000) クロマツ海岸林の低湿地におけるヌマスギの初期成長特性. *日砂丘誌* 47 : 91–101
- 沖縄県環境部自然保護課 (2015) マングローブ植栽指針 p. 12- 20., 沖縄県環境部自然保護課
- 沖縄県環境部自然保護課 (2015a) マングローブ植栽指針 p.21 - 29., 沖縄県環境部自然保護課
- 沖縄県環境部自然保護課 (2015b) マングローブ植栽指針 p. 38 - 45., 沖縄県環境部自然保護課
- Parida, A.K., and Das, A.B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 60 : 324–349
- Parida, A.K., and Jha, B. (2010) Salt tolerance mechanisms in mangroves: a review. *Trees* 24 : 199–217
- Parolin, P. (2009) Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian floodplains. *Ann. Bot.* 103 : 359–376
- Perata, P., and Alpi, A. (1991) Ethanol-induced injuries to carrot cells -The roll of acetaldehyde-. *Plant Physiol.* 95 : 748–752
- Pereira, L.A.R., Calbo, M.E.R., and Ferreira, C.J. (2000) Anatomy of pneumatophore of *Mauritia vinifera* Mart. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 43 : 327–333
- Pezeshki, S., and DeLaune, R. (2012) Soil Oxidation-Reduction in Wetlands and Its Impact on Plant Functioning. *Biology* 1 : 196–221
- Pezeshki, S.R., DeLaune, R.D., and Meeder, J.F. (1997) Carbon assimilation

- and biomass partitioning in *Avicennia germinans* and *Rhizophora mangle* seedlings in response to soil redox conditions. *Environ. Exper. Bot.* 37 : 161–171
- Pi, N., Tam, N.F.Y., Wu, Y., and Wong, M.H. (2009) Root anatomy and spatial pattern of radial oxygen loss of eight true mangrove species. *Aquat. Bot.* 90 : 222–230
- Primavera, J., and Esteban, J. (2008) A review of mangrove rehabilitation in the Philippines: successes, failures and future prospects. *Wetl. Ecol. Manag.* 16 : 345–358
- Purnobasuki, H., and Suzuki, M. (2005) Aerenchyma tissue development and gas-pathway structure in root of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *J. Plant Res.* 118 : 285–294
- R Development Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reef, R., and Lovelock, C.E. (2015) Regulation of water balance in mangroves. *Ann. Bot.* 115 : 385–395
- Ru, Q., Xiao, Q., Lin, P., Pei, Z., and Zheng, H. (2009) Short- and long-term effects of NaCl on physiological and biochemical characteristics in leaves of a true mangrove, *Kandelia candel.* *Rus. J. Plant Physiol.* 56 : 363–369
- Saenger P. (2002) Adapting to the ‘Mangrove Environment’. In: *Mangrove Ecology, Silviculture and Conservation*. Springer, Dordrecht 49-100
- Saifullah, S.M., and Elahi, E. (1992) Pneumatophore density and size in mangroves of Karachi, Pakistan. *Pak. J. Bot.* 24 : 5–10
- Sairam, R.K., Kumutha, D., Ezhilmathi, K., Deshmukh, P.S., and Srivastava, G.C. (2008) Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. *Biol Plant.* 52 : 401
- 佐々木寧, 田中規夫, 坂本知己 (2013) 津波と海岸林ーバイオシールドの減災効果ー 共立出版株式会社
- Scholander, P. (1968) How Mangroves Desalinate Seawater. *Physiol. Plant.* 21 : 251–261
- Shabala, S., Shabala, L., Barcelo, J., and Poschenrieder, C. (2014) Membrane transporters mediating root signalling and adaptive responses to oxygen deprivation and soil flooding. *Plant Cell Environ.* 37 : 2216–2233
- Skelton, N.J., and Allaway, W.G. (1996) Oxygen and pressure changes measured in situ during flooding in roots of the Grey Mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. *Aquat. Bot.* 54 : 165–175

- Spalding, M.D., Ruffo, S., Lacambra, C., Meliane, I., Hale, L., Shepard, C.C., and Beck, M.W. (2014) The role of ecosystems in coastal protection: Adapting to climate change and coastal hazards. *Ocean Coast. Manag.* 90 : 50–57
- Sreeshan, A., Meera, S., and Augustine, A. (2014) A review on transporters in salt tolerant mangroves. *Trees* 28 : 957–960
- Suárez, N., and Medina, E. (2006) Influence of salinity on Na⁺ and K⁺ accumulation, and gas exchange in *Avicennia germinans*. *Photosynthetica* 44 : 268–274
- Tada, Y., Yamanaka, T., and Miyama, M. (2008) 塩処理したマングローブ（オヒルギ）の遺伝子発現プロファイリングと耐塩性遺伝子の同定 - Transcriptional profiling of salt-treated burma mangrove, *Bruguiera gymnorhiza* and identification of the salt resistance genes. 東京工科大学研究報告 3 : 77–84
- 田中規夫, 武村武, 佐々木寧, Mowjood (2006) スリランカ海岸林の樹種による破壊条件と津波到達遅延時間の相違. *海岸工学論文集* 53 : 281–285
- Toma, T., Nakamura, K., Patanaponpaiboon, P., and Ogino, K. (1991) Effect of Flooding Water Level and Plant Density on Growth of Pneumatophore of *Avicennia marina*. *TROPICS* 1 : 75–82
- Vartapetian, B.B., and Jackson, M.B. (1997) Plant adaptations to anaerobic stress. *Ann. Bot.* 79 : 3–20
- Vernberg, F.J. (1993) Salt - marsh processes: a review. *Environ. Toxicol. Chem.* 12 : 2167–2195
- Voesenek, L., and Bailey-Serres, J. (2013) Flooding tolerance: O₂ sensing and survival strategies. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16 : 647–653
- Voesenek, L.A.C.J., Colmer, T.D., Pierik, R., Millenaar, F.F., and Peeters, A.J.M. (2006) How plants cope with complete submergence. *New Phytol.* 170 : 213–226
- Wang, G.-B., and Cao, F.-L. (2012) Formation and function of aerenchyma in baldcypress (*Taxodium distichum* (L.) Rich.) and Chinese tallow tree (*Sapium sebiferum* (L.) Roxb.) under flooding. *South African J. Bot.* 81 : 71–78
- Wang, H., Xiao, X., Yang, M., Gao, Z., Zang, J., Fu, X., and Chen, Y. (2014) Effects of salt stress on antioxidant defense system in the root of *Kandelia candel*. *Botanical Studies* 55 : 1–7
- Wang, L., Pan, D., Li, J., Tan, F., Hoffmann-Benning, S., Liang, W., and Chen, W. (2015) Proteomic analysis of changes in the *Kandelia candel* chloroplast

proteins reveals pathways associated with salt tolerance. *Plant Science* 231 : 159–172

Wang, W., Yan, Z., You, S., Zhang, Y., Chen, L., and Lin, G. (2011) Mangroves: obligate or facultative halophytes? A review. *Trees* 25 : 953–963

Yamamoto, F. (1992) Effects of depth of flooding on growth and anatomy of stems and knee roots of *Taxodium distichum*. *IAWA Journal* 13 : 93–104

Yamanoshita, T., Masumori, M., Yagi, H., and Kojima, K. (2005) Effects of flooding on downstream processes of glycolysis and fermentation in roots of *Melaleuca cajuputi* seedlings. *J. Forest Res.* 10 : 199–204

Zhu, Z., Pei, Z., and Zheng, H. (2011) Effect of salinity on osmotic adjustment characteristics of *Kandelia candel*. *Rus. J. Plant Physiol.* 58 : 226–232

Zulfikar, H.C., Sakamoto, K., and Yoshikawa, K. (2002) Physiological, morphological and growth responses of several tree species to flooding stress. *J. Jpn. Soc. Reveget. Tech.* 28 : 109–114

第12章 学位論文の基礎となる学術論文

12.1 「模擬海水に水没後の土壌の冠水環境がヌマスギ (*Taxodium distichum* (L.) Rich.) とクロマツ (*Pinus thumbergii* Parl.) 苗木の生存と成長におよぼす影響」

沖田総一郎、半澤綾菜、坂口未紗、井上美那、山本福壽、山中典和、岩永史子
2015年 8月 日本緑化工学会誌 41 (1) :67-72. (第2章)

12.2 「酸欠と塩ストレスがマングローブ2種の苗木の成長と生理に及ぼす影響」

沖田総一郎、谷口真吾、谷口武士、岩永史子、山本福壽、山中典和
2017年 10月 樹木医学研究 21 (4) :193-200. (第4章)

12.3 「沖縄県内に植栽されたマングローブ樹種5種における葉の浸透調整物質蓄積の季節変動」

沖田総一郎、野口よしの、谷口真吾、山本福壽、山中典和、岩永史子
2019年 4月 樹木医学研究 23 (2) :83-92. (第3章)