

塩水浸漬がクロマツ(*Pinus thunbergii* Parl.)とアカマツ(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)の発芽に及ぼす影響

伊東日向^{1*}・吉崎真司¹

Effects of salt water immersion on seed germination of *Pinus thunbergii* Parl. and *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.

Hyuga Ito^{1*} and Shinji Yoshizaki¹

Abstract: The huge tsunami occurred in 2011 caused a devastating damage to coastal forests. Thereafter, the use of the natural regeneration of the trees, including *Pinus thunbergii* Parl. and *P. densiflora* Sieb. et Zucc., is expected in the restoration plan. But few reports are found on the germination or growth of arboreous plants under influence of strong salt stress. In this study, we carried out germination tests of the seeds of *P. thunbergii* and *P. densiflora* treated with a short-time (1-15days) submergence in salt water. Germination delayed as the period of submergence became longer, and the trend was more obvious in *P. densiflora* than *P. thunbergii*, probably correlating with the difference in salt tolerance. Germination rates of the seeds in the fresh water after the 1-15 days submergence in salt water, however, were at the same levels as those of the untreated seeds in both species. Consequently, the effect of short-time submergence in salt water was not considered to be strong enough to inhibit germination of *P. densiflora*, as well as *P. thunbergii*.

1 はじめに

2011年3月11日に発生した東北地方太平洋沖地震に伴う巨大津波によって多量の海水が内陸部へ浸入し、田畑を中心に塩害が発生したことが知られているが(千葉ら, 2012; 宮本ら, 2012), 海岸林においても樹木に塩害と考えられる事例が認められている(中村, 2014; 中村ら, 2012; 佐々木・田中, 2011)。

塩害は塩水により土壌が冠水することで発生するが(中村ら, 2012), 東北地方太平洋沖地震では、汀線から3~4km内陸で5日間程度冠水していたという報告がある(千葉ら, 2012; 宮本ら, 2012)。大澤ら(2016)は被災した海岸林において、クロマツでは被災年に実生が発生したのに対しアカマツでは被災後1年後経ってからであったことを確認し、両種の海水への冠水に対する耐性の差異がその要因であった可能性を指摘した。一般に塩分ストレスは種子の発芽率を減少させ、発芽を遅延させ、初期生長を抑制することが分かっている(Ahmad *et al.*, 2013)。一方、Tobeら(2001)は、砂漠に生育する低木5種の種子を対象に塩水(-5.0 MPa NaCl)へ5日間浸漬し真水へ播種する実験を行い、真水へ播種した後の発芽率には0~88.8%と大きな樹種間差があることを明らかにした。すなわち、一定期間の塩分ストレスを与えた後に真水へ播種された場合、発芽を再開し高い発芽率を示す樹種と発芽率が著しく低下、もしくは発芽することができなくなる樹種が存在するこ

とが示されている。クロマツとアカマツの種子について浅野(1963)は異なる塩分濃度の培地において50日間培養し、耐塩性の比較を行っている。しかし、津波のように5日間といった短期的な塩水浸漬が樹木に及ぼす影響についての研究例は少ない(吉崎, 2012)。5日間といった短期の塩水浸漬であっても種子の発芽へ与える影響に違いがあれば、発芽後の海岸林の再生速度にも影響が出てくることが考えられる。

そこで本研究では、Tobeら(2001)の研究を参考にクロマツおよびアカマツの種子を対象として短期的な塩水浸漬が発芽率、発芽速度、吸水率に及ぼす影響の把握および短期的な塩水浸漬に対する耐性の比較を試みた。

2 方法

高潮または津波による短期的な塩分ストレスを再現するため、東北地方太平洋沖地震および1953年台風13号における冠塩水期間(千葉ら, 2012; 宮本ら, 2012; 谷口, 1954)をもとに、0日、1日、5日、10日、15日間の塩水浸漬期間を設けた。塩水冠水後、降雨により海岸防災林が成立する砂質土壌中の塩分濃度が容易に低下すると考えられることから、塩水浸漬後に真水へ浸漬させ培養した。

2.1 供試植物

クロマツとアカマツの種子を実験に用いた。クロマツは2014年の秋に神奈川県藤沢市にある藤沢土木事務所汐見台庁舎にて採取したものである。また、アカマツは2015年の秋に岩手県八幡平市安比高原で採種した。クロマツとアカマツともに球果ごと採取し、東京都大学横浜キャンパスにて天日干しにした。乾燥し裂開した球果から種子を脱粒し、翼を取

¹ 東京都大学大学院環境情報学研究所, Graduate School of Environmental and Information Studies, Tokyo City University, 3-3-1 Ushikubo-nishi, Tsuzuki-ku, Yokohama 224-8551, Japan

*Corresponding author: g1593101@tcu.ac.jp

り除いた後、風袋を用いて冷暗所にて保存した。

2.2 実験期間

発芽実験は2016年5月7日から2016年7月27日までの間に3回行った。1回目の実験は2016年5月7日から5月31日までの24日間、2回目および3回目の実験は同年7月3日から7月27日までの24日間行った。ただし、1回目の一部の試験区において異常値と思われる発芽率となった試験区があったので、再試験を7月3日から7月27日まで24日間行った。吸水実験は2016年10月16日から同年10月26日まで行った。

2.3 発芽実験

塩水浸漬期間の差異が種子の発芽へ与える影響を検証するため、対照区である0日区、処理区である1日区、5日区、10日区、15日区を設定した。実験に用いた塩水は、塩分濃度が海水とほぼ同様となるように滅菌水へNaClを3.5%濃度で溶解させたものを用いた。NaClを溶解させた塩水のECは50.37 mS/m、pHは8.43であった。

実験には、直径10cmのシャーレを用いた。シャーレはオートクレーブ（アルプ株式会社、KT30SD）にて120℃で30分間の滅菌処理を行ったものを実験に用いた。シャーレ内の発芽床としてろ紙を敷いた。シャーレには各浸漬処理ごとに塩水または滅菌水を種子が半分浸漬する程度に注水した。1シャーレ当たりの種子数は20粒とした。本実験では1シャーレを1反復とし、1回の実験で試験区ごとに3反復実施した。なお、種子は1日ごとに新しいシャーレに移した。

実験中、試験区ごとに設定した日数の塩水浸漬を行った後、塩水を滅菌水に交換した。塩水を滅菌水に交換する際には種子に付着した塩水を滅菌水によって洗い流したのち、滅菌水を注水したシャーレへ播種した。

実験は25℃に設定した恒温器にて暗条件下で行った。1回目の実験はインキュベーター（SANYO社製、MIR-153）で行った。2回目の実験では1回目の実験と同じインキュベーターを用いた。3回目の実験は2回目の実験と同時にを行うこととしたため、グロスチャンパー（SANYO社製、MLR-351）を用いて1回目、2回目と同じ条件で実験を行った。

2.4 吸水実験

発芽実験と同条件下にて吸水実験を行った。実験は発芽実験と同条件に設定したインキュベーター（SANYO社製、MIR-153）内で行った。実験に用いたシャーレおよび滅菌処理、培養液の交換、設定した試験区は発芽実験と同様である。1シャーレ当たりの種子数は10粒とした。1シャーレを1反復とし、試験区ごとに3反復実施した。

2.5 発芽数の記録と評価

発芽数は実験開始から実験終了時まで毎日記録した。本実験における発芽は既往研究²⁾を参考に種皮が裂けて、わずかに幼根が見え出しているものとした。発芽した種子はシャーレから取り除いた。記録した発芽数から発芽率、発芽指数(GI)、発芽速度(GR)

を算出した。発芽指標(GI)は式(1)により算出した(Kandil *et al.*, 2012; Karim *et al.*, 1992)。発芽指標とは対照区の発芽率を基準として処理区における発芽率への影響を示す指標である。発芽速度(GR)は式(2)により算出した(Guma *et al.*, 2010; Tsegay・Gebrellassie, 2014)。発芽速度とは発芽率の上昇速度を示す。式(2)のExはx日に新たに発芽をした種

$$GI = \frac{\text{試験区ごとの発芽率} (\%)}{\text{対照区の発芽率} (\%)} \times 100 \quad (1)$$

子の発芽率を示す。xは実験開始からExが記録されるまでの日数示す。

$$GR = \frac{E1}{1} + \frac{E2}{2} + \dots + \frac{Ex}{x} \quad (2)$$

2.6 種子重量の記録と吸水率の計算

播種から発芽するまでの種子の重量を実験開始から実験終了時まで毎日記録した。記録した種子の重量から吸水率(内山, 1981)を算出した。吸水率は式(3)により算出した。

$$\text{吸水率}(\%) = \frac{n\text{日目の種子重量}(g)}{0\text{日目の種子重量}(g)} \times 100 - 100 \quad (3)$$

2.7 統計処理

異なる塩水浸漬期間が発芽へおよぼす効果を検定するため発芽指標、発芽速度について同種の5処理区間において多重比較検定を行った。Levene検定により等分散性の検定を行った。等分散性が認められた群間に対してScheffé検定($p < 0.05$)を、等分散性が認められなかった群間に対してはKruskal-Wallis検定を用いた。同一処理区間の供試種2種間における発芽率、発芽指標、平均発芽時間、発芽速度については検定を用いた(IBM SPSS Statistics ver. 19)。

3 結果

3.1 発芽率の推移

図1にクロマツ種子の各試験区における発芽率の経時変化を示す。また、図2にアカマツ種子の各試験区における発芽率の経時変化を示す。クロマツの0日区および1日区は播種から2日後に発芽率が上昇した。また、5日区、10日区、15日区は播種から6日後に発芽率が上昇し始めた。10日区と15日区の発芽率は、はじめ緩やかな上昇傾向を示した後、10日区では播種後10日目に20%、15日区では播種後15日目に28%となり、真水へ播種した後に急激に上昇した。アカマツは全試験区において発芽の開始がクロマツに比べて遅れる傾向を示した。0日区、1日区、5日区では播種から4~6日後に発芽が開始し、10日区では11日後、15日区では16日後に発芽が見られた。すなわち、真水へ播種した後に発芽が始まった。また、発芽率は急速に上昇する傾向を示した。

3.2 発芽指標(GI)

図3に実験終了時のクロマツとアカマツの発芽指標(GI)を示す。クロマツは1~15日区で95~102となり、塩水浸漬の長い試験区ほどわずかに低くな

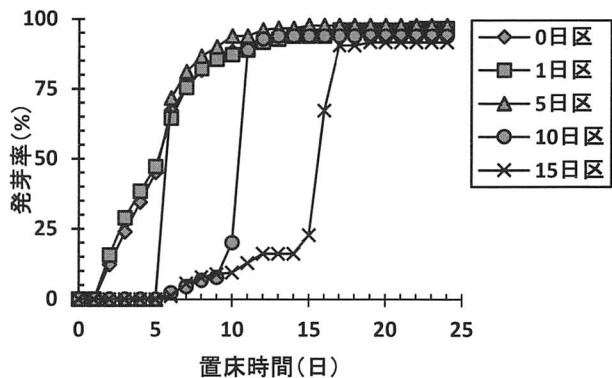


図1 クロマツ種子の各試験区における発芽率の経時変化

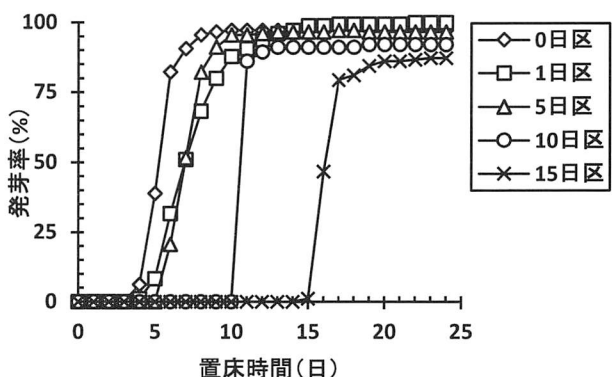


図2 アカマツ種子の各試験区における発芽率の経時変化

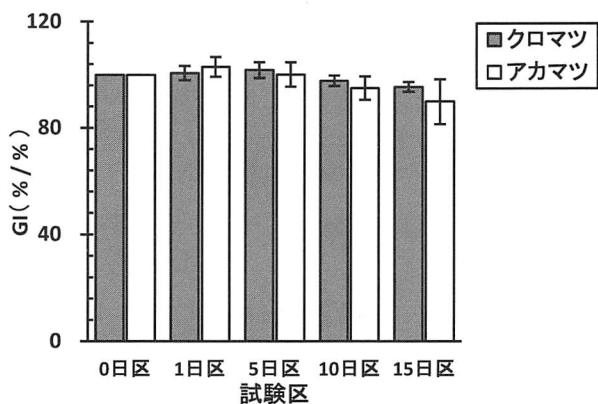


図3 実験終了時の各試験区におけるクロマツとアカマツの発芽指標 (GI) エラーバーは標準偏差を示す。

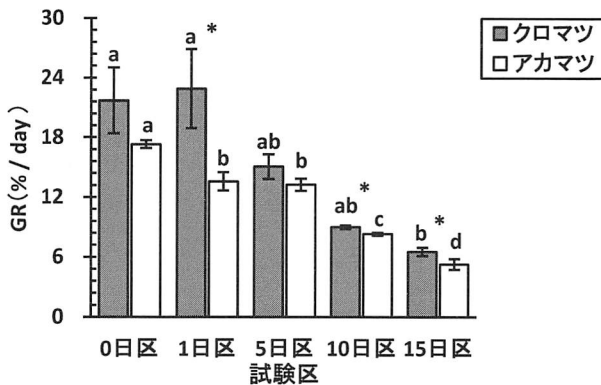


図4 各試験区におけるクロマツとアカマツの発芽速度 (GR) エラーバーは標準偏差を示す。アルファベットの差異は各種ごとに試験区間で有意差があることを示す。(アカマツ Scheffé test, $p < 0.05$, クロマツ Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$) アスタリスクは試験区ごとに樹種間で有意差があることを示す。(t検定, $p < 0.05$)

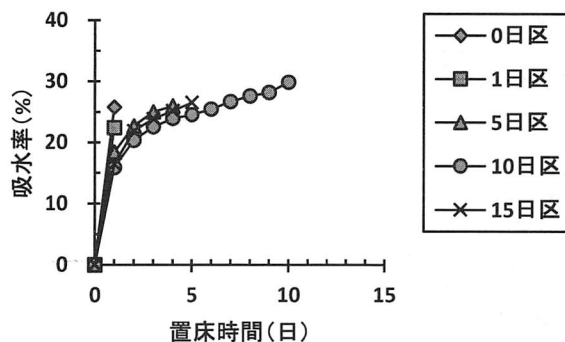


図5 クロマツ種子の各試験区における吸水率の経時変化

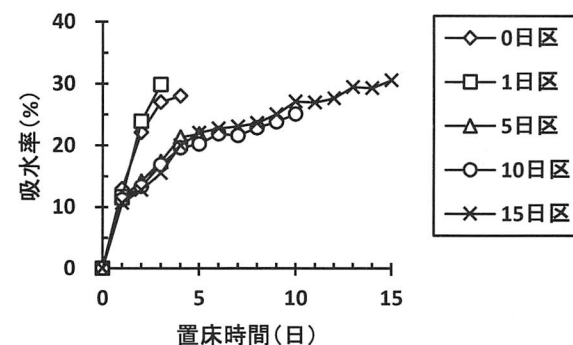


図6 アカマツ種子の各試験区における吸水率の経時変化

3.3 発芽速度 (GR)

図4に各試験区におけるクロマツとアカマツの発芽速度 (GR) を示す。クロマツの発芽速度は塩水浸漬期間の長い試験区ほど、減少する傾向を示した。また、各試験区間の発芽速度を比較した結果、

る傾向を示したが、各試験区間の有意差は認められなかった (Scheffé test, $p < 0.05$)。アカマツは1~15日区で89~102となり、クロマツと同様に塩水浸漬日数が長いほどやや低下する傾向を示したが、各試験区間の有意差は認められなかった (Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$)。また、試験区内ごとのクロマツとアカマツとの間の有意差も認められなかった (t検定, $p < 0.05$)。

15日区と対照区である0日区との間に有意差が認められた (Scheffé test, $p < 0.05$). 一方で, 1日区, 5日区, 10日区と対照区である0日区との間には有意差は認められなかった. アカマツの発芽速度においても塩水浸漬期間が長い試験区ほど減少する傾向を示した. アカマツの各試験区間の発芽速度を比較した結果, 1日区, 5日区, 10日区, 15日区と対照区である0日区との間に有意差が認められた (Scheffé test, $p < 0.05$). また, 各試験区内においてクロマツとアカマツの発芽速度の種間比較を行った結果, 全ての試験区においてクロマツの発芽速度がアカマツの発芽速度を上回り, 1日区, 10日区, 15日区において有意差が認められた (検定, $p < 0.05$).

3.4 吸水率

図5にクロマツ種子の播種から発芽開始までの吸水率の変化を示す. また, 図6にアカマツ種子の播種から発芽開始までの吸水率の変化を示す. クロマツの吸水率は播種から1日後に0日区で26%, 1~15日区で15~22%まで上昇した. その後, 発芽にかけて吸水率が全試験区において上昇する傾向を示した. 0日区と1日区は同様の傾きで上昇し, 5~15日区は0~1日区に比べ緩やかに上昇した. アカマツについても播種から1日後に0日区で14%, 1~15日区で11~14%まで上昇した後, 発芽にかけて吸水率が上昇する傾向が認められた. また, アカマツにおいても吸水率の上昇は全体的にはクロマツ同様緩やかであった.

4 考察

本研究では, 短期的な塩水浸漬がクロマツ, アカマツの発芽に及ぼす影響を実験的に評価しようとした. 種子を1~15日間塩水浸漬した後真水に移す発芽実験では, クロマツとアカマツともに発芽率は真水浸漬後に急速に上昇し, 両種とも最終的な発芽指標に塩水浸漬期間の長さの違いによる有意差は認められなかった (図3). なお, 塩水中での発芽はクロマツでのみ見られた (図1, 図2). 発芽速度は塩水浸漬日数が長いほど減少し, クロマツで10日以上, アカマツで1日以上浸漬で対照区に比べ有意に低くなった (図4). 加えて, 発芽実験と同条件におかれたクロマツ, アカマツ種子の吸水実験の結果, 両種ともに種子内へ塩水が侵入している可能性が示された (図5, 図6). 種子内へ塩水が侵入すると代謝が攪乱されることによる発芽率の低下 (Ahmad *et al.*, 2013; Kandil *et al.*, 2012; Karim *et al.*, 1992) や発芽速度の減少 (Guma *et al.*, 2010; Kandil *et al.*, 2012; Meloni *et al.*, 2008; Tsegay・Gebrel assie, 2014) が発生すると言われている. クロマツおよびアカマツにおいても種子内への塩水の侵入による代謝攪乱の可能性が浅野 (1963) により指摘されており, 培地の塩分濃度が高いほど発芽の開始が遅延し発芽率が低下することが明らかになっている. よって, 本研究で見られたクロマツ, アカマツの発芽速度の低下も, 発芽前の短期的な塩水浸漬期間中に種子内に侵入した塩水により代謝が攪乱されたことの効果と考えられる.

本研究において, 種子の塩水浸漬による発芽遅延はクロマツで塩水浸漬期間が5~15日以上試験区

で認められたのに対し, アカマツでは1日以上試験区において認められた (図4). また, クロマツの種子は塩水浸漬中に発芽を開始するものが見られた (図1). これらのことから, クロマツはアカマツに比べ塩水冠水への耐性が高いことが示された. 一方, クロマツ, アカマツともに15日までの短期的塩水浸漬の後に真水に移した種子の発芽率は高かった (図3). Tobeら (2001) による中国の沙漠に生育する低木の種子を対象とした発芽実験では, 塩水により培養した後真水に浸漬することで発芽能力が回復する樹種と回復しない樹種が存在することが確認されている. 本研究の結果は, クロマツ, アカマツでは発芽前の塩水浸漬により発芽阻害ないし発芽速度低下が発生するが, 早期に脱塩されれば発芽が回復することを示したものである.

大澤ら (2016) は2011年3月の津波で被災した東北地方の海岸林において被災年に実生が発生したのはクロマツのみであったこと, およびアカマツは被災年の翌年から実生が発生したことを確認し, この違いの原因として両種の発芽あるいは実生の初期生長における耐潮性の差が関与した可能性を指摘している. しかし, 本研究の結果は, 短期間の塩水浸漬によりクロマツ, アカマツの発芽指標は低下せず種間の差はない. すなわち両種とも塩水浸漬直後に発芽できることを示している. したがって, 塩水浸漬した種子の発芽率のみから, 大澤ら (2016) が報告したクロマツ, アカマツの回復状況の違いを説明することはできないかもしれない. 一方, 塩分ストレスは発芽後の初期生長に対しても害作用を及ぼすことが既往研究 (KATEMBE *et al.*, 1998; Kertabadi *et al.*, 2012; Mahdavi・Sanavy, 2007; Meloni *et al.*, 2008) により明らかにされている. よって, 今後は短期的塩水浸漬が初期生長におよぼす影響について把握する必要があると考えられる.

引用文献

- [1] Ahmad, P., Azooz, M. M., and Prasad, M. N. V., (2013): Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress, Springer, pp.32-33.
- [2] 浅野二郎(1963): 種子の耐塩性を中心とした海岸地帯におけるアカマツおよびクロマツ林の成立に関する研究, 香川大学農学部紀要, pp. 1-64.
- [3] 千葉克己・冠秀昭・加藤徹 (2012): 津波被災農地における暗渠を利用した雨による浸透水除塩, 土壌の物理性, (121), pp. 29-34.
- [4] Guma, I. R., Mederos, M. A. P., Guerra, A. S. and Betancort, J. A. R., (2010): Effect of temperature and salinity on germination of *Salsola vermiculata* L. (Chenopodiaceae) from Canary Islands, *J. Arid Environ.*, 74(6), pp. 708-711.
- [5] Kandil, A. A., Sharief, A. E., and Ahmed S. R. H. (2012): Germination and Seedling Growth of Some Chickpea Cultivars (*Cicer arietinum* L.) under Salinity Stress, *J. Basic & Appl. Sci.*, 8(2), pp. 561-571.
- [6] Karim, M. A., Utsunomiya, N., and Shigenaga, S., (1992): Effect of Sodium Chloride on Germination and Growth of Hexaploid Triticale at Early Seedling Stage, *Jpn. J. Crop Sci.*, 61(2), pp. 279-284.
- [7] KATEMBE, W. J., UNGAR, I. A., and MITCHELL, J. P., (1998): Effect of Salinity on Germination and Seedling Growth of two *Atriplex* species (*Chenopodiaceae*), *Ann.*

- Bot., 82(2), pp. 167-175.
- [8] Kertabad, S. S., Ghanbari, A., Mohasel, M. H. R., Mahallati, M. N., and Gherekhloo, J., (2012):Effect of Desiccation and Salinity Stress on Seed Germination and Initial Plant Growth of *Cucumis melo*, *Planta daninha*, 31 (4), pp. 833-841.
- [9] Mahdavi, B and Sanavy, S. A., (2007):Germination and Growth in Grasspea (*Lathyrus sativus*):Cultivars under Salinity Conditions, *Pak. J. Biol. Sci.*, 10(2), pp. 273-379.
- [10] Meloni, D. A., Gulotta, M. R., and Martinez, C. A., (2008):Salinity tolerance in *Schinopisis quebracho Colorado* : Seed germination, growth, ion relations and metabolic responses, *J. Arid Environ.*, 72(10), pp. 1785-1792.
- [11] 宮本輝仁・亀山幸司・塩野隆弘 (2012) :平成 23 年 (2011 年) 東北地方太平洋沖地震による津波で冠水被害を受けた砂質畑の土壤塩分モニタリング, 農村工学研究所技報, (213), pp. 73-78.
- [12] 中村克典 (2014) :東日本大震災津波による海岸マツ林の被害と再生に向けた植栽試験, 森林立地, 56(1), pp. 21-26.
- [13] 中村克典・小谷英司・小野賢二 (2012) :津波被害を受けた海岸林における樹木の衰弱・枯死, 森林科学 : 日本林学会会報, (66), pp. 7-12.
- [14] 大澤啓志・上野滯・七海絵里香 (2016) :仙台湾岸の津波被災海岸林におけるマツ類の実生分布, 日本緑化工学会誌, 42(1), pp. 122-127.
- [15] 佐々木寧・田中規夫 (2011) :東北地方太平洋沖地震と津波災害が海岸林や植生へ与えた影響～リアス海岸 (宮城県・岩手県) における被害状況調査、速報～, 日本植生学会, http://shokusei.jp/_userdata/20110912.pdf (2017年6月閲覧) .
- [16] 谷口森俊 (1954) :台風13号及び異常高潮に依る植物の被害調査報告, 植物生態学会報, 3(4), pp. 282-289.
- [17] Tobe, K., Zhang, L., Qiu, G. I., Shimizu, H., and Omasa K., (2001) :Characteristics of seed germination in five non-halophytic Chinese desert shrub species, *J. Arid Environ.*, 47(2), pp. 191-201.
- [18] Tsegay, B. A., and Gebrellassie, A., (2014):The effect of salinity (NaCl) on germination and early seedling growth of *Lathyrus sativus* and *Pisum sativum* var. *abyssinicum*, *Afr. J. Plant Sci.*, 8(5), pp. 225-231.
- [19] 内山泰孝 (1981) :Saltbushes, *Atliplex* 属植物の発芽に関する研究, 熱帯農業, 25(2), pp. 62-67.
- [20] 吉崎真司 (2012) :今日の海岸林の課題, 水利科学, 56 (3), pp. 14-27.
- [受付 平成29年8月24日, 受理 平成29年12月2日]