

「TTC染色を用いた湿地侵入植生の活性度評価手法」

* 林田 寿文(独)寒地土木研究所水環境保全チーム)
 村上 泰啓(独)寒地土木研究所寒地河川チーム)
 水垣 滋 (独)寒地土木研究所水環境保全チーム)
 赤岩 孝志(北海道開発局夕張シューパロダム総合建設事業所)
 杉原 幸樹(㈱福田水文センター)

要旨：

近年の農業排水路整備などが原因で地下水が低下した結果、湿原が乾燥化・縮小化し湿地植生の急激な変化が問題化している。たとえば、北海道の釧路湿原では、ハンノキ(*Alnus japonica*)の樹高成長による湿原植生の樹林化、サロベツ湿原ではササ(クマザサ節: *Sasa (eusasa)*)の湿原植生生息域への侵入が挙げられる。

今後、自然再生事業の1つである河川の蛇行復元や、地球温暖化などの水文環境の変化で地下水位の再上昇も予想され、湿原植生を保全するためには、地下水変動による植生の挙動を把握することは重要である。既往研究では、ハンノキやササは地下水が高い箇所では生息域の縮小や侵入が抑制されることが報告されているものの定性的な評価にとどまり、地下水位に対する植生ごとの応答を定量的に評価した研究事例は数少ない。

本研究では、湿原植生の地下水位に対する応答(活性)について定量的評価手法の開発を目的とした。地下水位と湿原植生の活性度(植物の生死)の関係を調べるために、主に農業分野で簡便に作物の活性度評価に用いられるTTC(トリフェニルテトラゾリウムクロライド)をハンノキやササに適用し、室内実験を行った。

実験は、TTC を用いてハンノキの地下根及び、ササの地下茎を染色し、異なる冠水条件下での吸光度を測定することで、活性度を評価した。ハンノキについて、5年生のヤチハンノキの地下部を完全に冠水させ、室温 20°C の恒温室に植物培養灯(12時間の点消灯の繰り返し)のもと培養した。枯死するまで8回、地下根 1g を4サンプル採取した。対照条件として、地下部を冠水させないハンノキについても同様に試料を採取した。ササは地上部を除いた 20cm 程度の地下茎を用い、冠水状態で 50 日目まで 10 日毎に地下茎 1g を3サンプル採取した。

採取した試料にTTC溶液を加え脱気、遮光して放置した後、2N硫酸を加え反応を停止し、上澄み液を抽出した。抽出液について分光光度計で波長 400~600 nm における吸光度を測定した。抽出の際、ハンノキはタンニンが発生し上澄み液が染色するため、可能な限り試料を非破壊とし、ササは粉碎した試料で上澄み液を抽出した。

その結果、ハンノキの場合、冠水条件では培養日数の増加により吸光度が減少しており、細胞の活性が徐々に低下し、91 日後に枯死したことが示唆される(図-1)。しかし、冠水面上の植物体には枯死する状況は見られず、不定根を形成するなど、根が失活しても生体を維持する機能が発現することが確認された。不定根は冠水 14 日後には形成され、このことは既往研究とも一致していた。一方対照条件では、吸光度は 70 日までほぼ一定であった。このことは生細胞の活性がほぼ同程度か、新たな伸長根がみられるなど細胞活性が高まっていることが考えられる。70 日以降の吸光度の急激な低下は、カビの発生により細胞の活性が低下したと考えられる。ササの場合、採取直後から吸光度は低下し続け、波長 480 nm での吸光度ピークも小さくなるが、冠水期間が 30 日を超えると、冠水期間が長くなっても吸光度に大きな変化は認められなかった。すなわち、冠水が 30 日を越えると、ササ活性度が失われ、枯死したと判断できる(図-2)。ハンノキ、ササはともに、吸光度(480 nm)が 0.2 以下で、ピークが明瞭でなくなった場合を枯死と判断した。またハンノキ・ササともに吸光度 480 nm で最も吸光度の変化が大きかったため、活性度判断には、この波長での比較が有効だと判断した。

これらのことから、ハンノキの地下根およびササ地下茎は、TTC による染色が可能であり、活性度を定量的に判定できた。今後は、様々な湿原植生に TTC 評価手法を用い、地下水位に対する活性応答を検証することが必要であるほか、現地試験での検証を進めることが必要である。

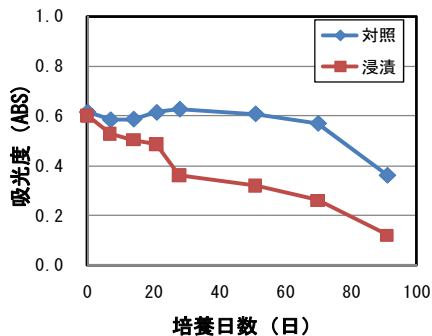


図-1 ハンノキの活性度推移(吸光度 480 nm)

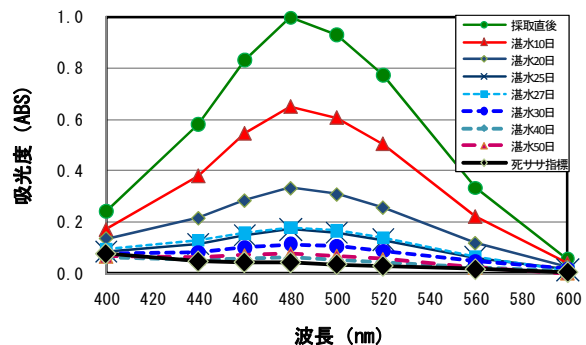


図-2 冠水期間によるササの活性度