

平成 2 5 年度 東京農業大学 博士論文

マングローブ葉生成タンニンの生態系内動態
と溶存鉄供給にかかわる役割

農学研究科 環境共生学専攻

松谷 達馬

主査 濱 野 周泰

副査 牛久保 明邦

中 西 康博

マングローブ葉生成タンニンの生態系内動態と溶存鉄供給にかかわる役割

目次

第1章 緒言	1
第2章 タンニン溶液による土壌からの溶存鉄溶出	8
2.1. 材料と方法	8
2.1.1. 供試土壌の採取及び分析方法	8
2.1.2. 試薬タンニン酸溶液による土壌からの溶存鉄溶出	9
2.1.3. 塩分濃度の異なる試薬タンニン酸溶液による土壌からの溶存鉄溶出	10
2.1.4. 試薬タンニン酸溶液湛水による土壌からの溶存鉄溶出	10
2.1.5. 供試樹種葉の採取及び葉中タンニン含有率の分析方法	10
2.1.6. 樹種葉抽出液による土壌からの溶存鉄溶出	12
2.1.7. 統計解析	12
2.2. 結果	12
2.2.1. 供試土壌の化学特性	12
2.2.2. 試薬タンニン酸溶液による土壌からの溶存鉄溶出	13
2.2.3. 塩分濃度の異なる試薬タンニン酸溶液による土壌からの溶存鉄溶出	15
2.2.4. 試薬タンニン酸溶液湛水による土壌からの溶存鉄溶出	16
2.2.5. 供試樹種葉中のタンニン含有率	16
2.2.6. 樹種葉抽出液による土壌からの溶存鉄溶出	17
2.3. 考察	18
2.4. まとめ	20
第3章 マングローブリター量に占める植食性カニによるリター持去り量の比率	22
3.1. 材料と方法	23
3.1.1. 調査地概要	23
3.1.2. リター量, 林床土壌へのリター現存量, 海域へのリター流出量及び植食性カニによるリター持去り量の通年調査	24
3.1.3. 年間リター量	25

3.1.4. 林床へのリターの現存量	26
3.1.5. 海域へのリター流出量	26
3.1.6. カニによるリター持去り量	26
3.1.7. 統計解析	27
3.2. 結果	28
3.2.1. リター量, 林床土壌へのリター現存量, 海域へのリター流出量及び 植食性カニによるリター持去り量	28
3.2.2. 季節変動	30
3.3. 考察	31
3.3.1. 島尻林帯の年間リター量とカニによる持去り量の他地域との比較	31
3.3.2. 島尻林帯における落葉由来タンニンの年間供給量	32
3.3.3. 樹種の違いによる植食性カニによる葉持去り率	32
3.4. まとめ	33
第4章 植食性カニの樹種葉摂食性向とその葉中タンニンの動向	35
4.1. 材料と方法	36
4.1.1. <i>Neosarmatium smithi</i> の樹種葉摂食性向	36
4.1.2. カニ糞及び巣穴土壌中タンニン含有率	38
4.1.3. カニ糞水抽出液の添加による溶存鉄の土壌溶出量	39
4.1.4. 統計解析	39
4.2. 結果	39
4.2.1. <i>Neosarmatium smithi</i> の樹種葉摂食性向	39
4.2.2. カニ糞及び巣穴土壌中タンニン含有率	40
4.2.3. カニ糞水抽出液の添加による溶存鉄の土壌溶出量	41
4.3. 考察	41
4.3.1. 植食性カニの葉摂食性向における葉中タンニンの影響	41
4.3.2. マングローブにおける葉中タンニンの動態	42
4.4. まとめ	43
第5章 マングローブ植生内表流水中のタンニン含有率と溶存鉄含有率との関 係	45
5.1. 材料と方法	45
5.1.1. 調査地概要	45

5.1.2. 供試水の採取及び水質の分析	48
5.2. 結果	48
5.3. 考察	52
5.4. まとめ	54
第 6 章 タンニンが植物プランクトンの鉄吸収に及ぼす影響	55
6.1. 材料と方法	56
6.1.1. タンニン錯体鉄添加による植物プランクトンの培養試験	56
6.1.2. タンニン錯体鉄の溶存率に関する基礎化学実験	61
6.2. 結果	63
6.2.1. タンニンの添加が植物プランクトンの鉄吸収に及ぼす影響	63
6.2.2. タンニン錯体鉄の溶存率に関する基礎化学実験	68
6.3. 考察	70
6.4. まとめ	72
第 7 章 総合考察	74
第 8 章 摘要	77
Summary	82
謝辞	87
引用・参考文献	89
付図表	95

第1章 緒言

昨今、人間活動による破壊が著しい自然環境の1つにマングローブ生態系が挙げられる。マングローブは、世界123か国の沿岸域152,000 km²を覆っており (Spalding et al., 2010), 陸と海のインターフェースとして、また沿岸域への栄養供給源として非常に重要な役割を果たしている。

マングローブ生態系は、マングローブのリターを主な始原とする豊富な栄養や、樹根や干潟など多様な生息場所を生物に提供すると共に、多くの生態系サービスも人間に提供している(表1-1)。熱帯・亜熱帯沿岸域を生活の場としてきた住民は、古くからマングローブの恩恵を意識し、沿岸水産資源の保護に、また防潮・防風林としてマングローブの伐採を極力抑え、その保全に努めてきた(中村ら, 1993)。

表 1-1 マングローブの主な用途と機能

用途	
燃料	燃料、木炭、アルコール採取用など
染料	漁網、衣類、帆布の染色
飼料	ヤギ、ラクダの飼料
用材	建築用材、家具材、船材、パルプ材、足場材、枕木、マッチ用材など
食用	蜂蜜生産、野菜、果物、ジュース、酒の製造、薬剤(下痢止め)、調味料など
その他	屋根葺き材、壁葺き材、巻タバコの紙の代用、家畜の寝ワラ、魚毒(魚採り用)、塩の生産、皮なめしなど
機能	
資源生産	森林資源の生産、製塩(製塩場所の提供と製塩)
水産資源の酒養	水産資源(カニ、エビ、稚魚、貝など)の生育の場と餌場の提供
災害防止機能	防風、防潮、飛砂防備、海岸侵食防止、土壌侵食防止、水路の保全、土壌の堆積促進
森林風致機能	観光、レクリエーションの場の提供
地球環境	沿岸生態系の保全、気候緩和
その他	野生動物の棲息の場の提供、渡り鳥の休息の場の提供、動物・植物のジーンプール(遺伝子源)の提供

馬場(1993)

しかし、経済発展に伴い、この豊かなマングローブも1970年から2000年の間に、無秩序な伐採やエビ養殖池への転化により、約30%が消失している(図1-1)(Spalding et al, 2010)。マングローブのエビ養殖池への転化は、短期的には大きな経済利益を住民にもたらすが、集約的な養殖を行うと5年も経たずに養殖池は再生不能になるケースもある。その反省からこれまで様々な植林活動がなされ、マングローブの保全が叫ば

れてきつつあるものの、マングローブの分布面積は依然として減少傾向である。

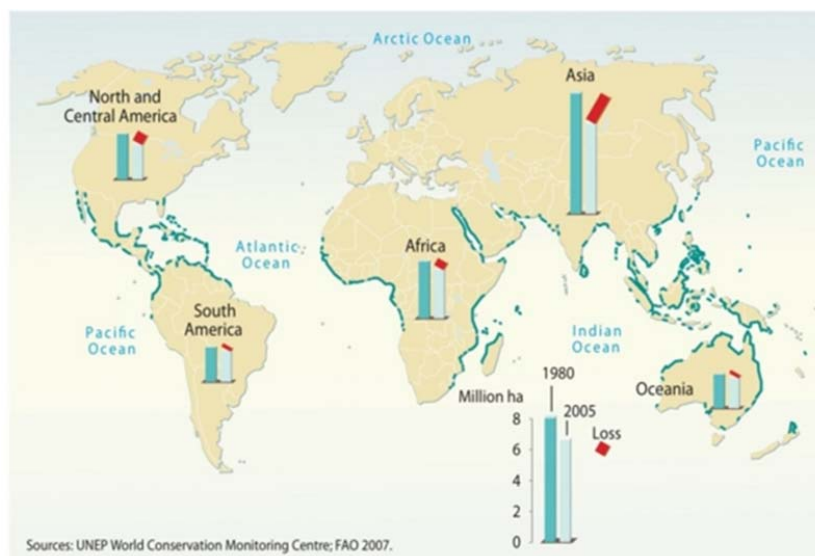


図 1-1 世界のマングローブの分布と 1980 年～2005 年間の減少割合

マングローブの保全を促進するためには、当生態系の機能と価値を正しく理解することが肝要であり、特に森林が存在することによって及ぼされる周辺海洋生産性への影響、すなわち森と海を繋ぐ科学的な根拠を積み重ねることも重要になると考えられる。

近年このような視点の研究は増えつつあり、例えば Mumby et al. (2004) は、サンゴ礁に棲む数種の魚類は、生息域がマングローブと接した場合、そのバイオマスが2倍になること、また Dittmar et al. (2006) は、マングローブ域が沿岸海域への溶存有機物の重要なソースであると報告している。

他方、昨今海洋科学の分野において、陸域由来栄養と海域生産性を繋ぐ科学的な裏付けとして、森林腐植由来のフルボ酸鉄を介した河川と海洋生態系の繋がりを提唱した学説「松永仮説」が有名である (Igarashi et al., 1982; Kuma et al., 1996, 2000; Matsunaga et al., 1982, 1991, 1998, 1999, 松永, 1993)。

鉄は植物プランクトンの呼吸や光合成に不可欠な元素の1つである (Geider and Roche, 1994)。一般的に海水中において鉄は熱力学的に安定

な Fe^{3+} が難溶性の水酸化物を形成して沈殿除去されるため、海水中における鉄の溶解度は 10^{-10}M 以下と極めて小さい(武田, 2007). そのため海水中の溶存鉄量は非常に微量であり、海水中において鉄は植物プランクトンの生育制限因子となりやすい.

ところが高分子有機化合物と錯結合した鉄は、海水中でも比較的安定して溶存することが知られており、海水における溶存鉄の99%は有機錯体鉄であるとみられている(Van den Berg, 1995). 「松永説」で言及されている土壤腐植中のフルボ酸も、鉄と錯体を形成し得る有機化合物である. 土壤中では鉄と錯化したフルボ酸錯体鉄が河川によって沿岸域に流れ込むことも、河口域周辺の高生産性に寄与していると考えられている.

この説を根拠として白岩ら(2011)は、オホーツク海と親潮でみられる高い基礎生産性を支える主要な要因が、アムール川流域に起源をもつ溶存鉄であるという仮説に基づき、大規模なスケールで大陸と外洋をつなぐ物質輸送とそれに立脚する生態システムを明らかにした(<http://www.chikyu.ac.jp/AMORE/>).

一方、上述したマングローブが生育する熱帯・亜熱帯沿岸域において、陸域由来溶存鉄と沿岸海洋生産性の関係に関する研究はほとんど行われていない. マングローブは、熱帯・亜熱帯沿岸域 $152,000\text{ km}^2$ の陸と海のインターフェースとして非常に重要である. 仮に上述したような、溶存鉄による陸域森林と海洋生産性の関係が明らかになれば、破壊著しいマングローブの保全根拠としても有効である.

そこで本論文では、熱帯・亜熱帯沿岸域における陸域由来栄養と海洋生産性の繋がりを科学的に解明する研究の一環として、マングローブ沿岸域における陸域由来溶存鉄の動態と機能を明らかにすることを目的する一連研究を行うこととした.

その中でまず我々は、マングローブ生態系において鉄と錯体を形成し得る有機化合物として、タンニンに着目した. その理由として、マングローブ樹種の多くは、その樹皮や葉中に比較的多量のタンニンを含む(Hernes and Hedges, 2004)ことが従来知られており、そのタンニンは表1-2に示すように人間生活において多面的に利用されてきていた. 例えばBasak et al. (1999)は9種のマングローブ樹種葉のタンニン含有率

は14.56–40.11% (乾物)であると報告している.

表 1-2 人間生活におけるタンニンの利用

基本作用 (a)タンパク質と難溶性結合
(b)金属イオンとの錯体結合
(c)ポリフェノールによる作用
(d)メカニズム不明の作用(相互作用)

伝統的利用	皮なめし剤(a) 植物染料(b) 漆器の下塗り(a) 渋紙(a) 漁網の補強(a) 生薬(整腸、止血など)(a,c)
最新の作用	抗蟻性(b) 抗菌・消臭作用(b) 気中アルデヒドの吸着能(d) メラニン生成抑制能(d) 抗腫瘍(c) 発がん抑制(c) 抗酸化作用(c)

西岡(1986), 奥田(1995), 田中ら(1999), 秋久ら(2002), 大原(2005)

タンニンは水溶性で高い反応性があるため, 森林生態系における様々な機能は広く知られている(Kuiters, 1990; Kraus et al., 2003). タンニンは植物由来有機化合物として土壌腐食に組み込まれやすく, 腐植の水溶性画分であるフルボ酸の一種でもあり, その性質は類似する.

例えば, 森林においてリターから溶出したタンニンは鉄やマンガンなどの土壌中の金属と錯体結合を形成し, フルボ酸錯体鉄のようにそれらを水溶化させることが知られている(Levanidov, 1957; Arakawa et al., 1993).

さらに, マングローブの年間リター量は $1000 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ 前後($930 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$, Duke et al., 1982; $886 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$, Gong et al., 1984; $1131 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$,

Bunt, 1982)ときわめて高く，上記のような落葉由来タンニンによる土壌からの溶存鉄溶出メカニズムがマングローブにおいても生じる場合，マングローブ落葉由来タンニンによって林床から溶存した鉄は，周辺に生息する植物プランクトンへの重要な鉄供給源となっている可能性がある．

しかしながら，マングローブが豊かなリターを林床に供給し，これに含まれるタンニンが林床土壌中の鉄を可溶化させるとしても，そのリターは河川や潮流により，速やかに海へ流出してしまうのならば，マングローブ由来タンニンと林床土壌中の鉄との接触機会は乏しく制限されてしまう．

ところが，マングローブ生態系に生息する動物の中には，マングローブ葉を摂食するものがあることが知られており，その内の一つが植食性のカニである．これに関し，マングローブに生息する植食性カニによる落葉の摂食は，同生態系の重要な物質循環経路であるとの研究が多数報告されている(Micheli, 1993; Ashton, 2002; Kristensen, 2008; Chen et al., 2008)．

例えばRobertson and Daniel (1989)はオーストラリア北東部のマングローブにおいて，*Cerriops tagel*, *Bruguiera exaristata* 及び *Avicennia marina*の各マングローブ樹種の年間落葉量の71, 79及び32%が植食性カニにより巣穴に持ち運ばれたことを報告している．Slim et al. (1997) もまた東アフリカのマングローブにおいて，*Rhizophora mucronata*の年間落葉量の40.3%が，Lee (1989) は中国南東部のマングローブにおいて，*Kandelia candel*の年間落葉量の57%が植食性のカニにより持去られたことをそれぞれ報告している．

このように，マングローブにおける落葉の大部分は，植食性のカニにより巣穴に運ばれる可能性が高いと言える．その場合，マングローブにおける葉中タンニンと土壌中の鉄との接触/反応過程において，植食性カニの存在は無視できないと考えられる．

以上の背景に基づき，本論文では，マングローブ樹種葉中タンニンの動態と溶存鉄の土壌溶出機能及び，これらと沿岸海洋生産性との関係を理解する上で，以下のような仮説を立てて研究を進めることとした．

すなわち、

「マングローブに生息する植食性のカニが樹種葉と林床土壌との接触機会を増加させる結果、その葉中タンニンが林床土壌中の鉄を溶存化させ、この溶存鉄が植物プランクトンの増殖に寄与している」

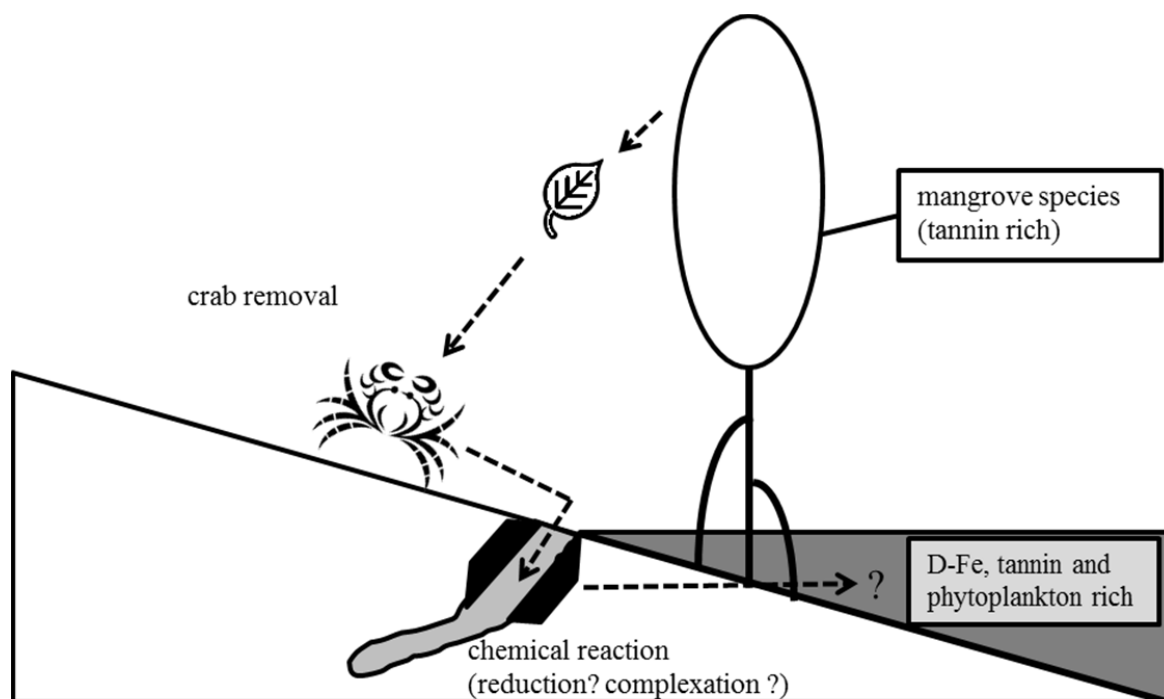


図 1-2 本研究における仮説の概念図

仮に上記のような、マングローブ沿岸域における陸と海を繋ぐ科学的なメカニズムが証明されれば、マングローブは周辺の海洋生産性に貢献しているのみならず、全球的な物質循環や生物生産に重要な役割を果たしている可能性があり、このメカニズムが破壊著しいマングローブの保全根拠としても非常に有効になることが期待される。

そこで本論文では、上記の一連仮説を立証するため、沖縄県宮古島の島尻林帯をメインフィールドとし、葉中タンニンの動態から溶存鉄の役割まで5つの課題を設け、第2章から第6章までの各章において、それぞれの課題の仮説を検証した。以下、各章の仮説を述べる。

第2章「マングローブ林床土壌にタンニン溶液を添加すると溶存鉄の土壌溶出は促進される」

第3章「マングローブ落葉の50%以上は植食性のカニにより巣穴に運ばれる」

第4章「(1)植食性のカニはタンニン含有率の高い樹種葉を選択的に摂食し、(2)葉中タンニンの一部はカニ糞中に残存し巣穴に蓄積される、(3)林床土壌とカニ糞中のタンニンの反応により溶存鉄溶出が促進される」

第5章「マングローブ水域中の溶存鉄含有率とタンニン含有率は共に高く、両者の間には正の相関関係がある」

第6章「タンニンと結合した鉄は海水条件においても溶存率が高く、植物プランクトンに吸収利用可能である」

これらの結果を踏まえ、第7章では上記一連仮説の可能性を議論した。

なお、主な調査地である島尻林帯は、1)沖縄県により保護されており人為的なかく乱が少ないこと、2)我々の研究拠点である東京農業大学宮古亜熱帯農場からの利便性も良いことから、調査地として選定した。

第2章 タンニン溶液による土壌からの溶存鉄溶出

本章では，マングローブ落葉由来タンニンによる溶存鉄の土壌溶出が，沿岸海洋生産性に寄与している，との説を提唱するための一連研究の端緒として，タンニン溶液による溶存鉄の土壌溶出促進効果を室内実験により検証した．本章の仮説は以下の通りである．

「マングローブ林床土壌にタンニン溶液を添加すると溶存鉄の土壌溶出は促進される」

本章では上記仮説を検証するため，具体的に以下のような手法で研究を進めた．すなわち，沖縄に生育する6種のマングローブ樹種と16種の非マングローブ樹種の葉を用いて，その水抽出液を宮古島の島尻マングローブ上流域の土壌と，その対照として暗赤色土及び黒ボク土の3種の土壌に添加した際に，土壌から溶出する溶存鉄量を検証した．

ここで，特殊環境であるマングローブ林床下を考慮するため，湛水日数及び塩分濃度の異なる条件下における，タンニン溶液による溶存鉄の土壌溶出特性も併せて検討した．

2.1. 材料と方法

2.1.1. 供試土壌の採取及び分析方法

土壌試料は島尻地区河口域林帯において2010年11月に採取した．当林帯は主にマングローブ樹種を含む以下5種の混成林である．すなわち樹種数の多い順に*Rhizophora stylosa*，*Bruguiera gymnorrhiza*，*Derris trifoliata*，*Avicennia marina*及び*Kandelia candel*である．樹高2m以上の*R. stylosa*の樹木密度は $11,700 \pm 2,465$ trees ha⁻¹である．Spalding et al. (2010) の分類によると，*D. trifoliata*以外はマングローブ樹種である．

島尻地区林床の表層0～10cmの土壌(以下マングローブ土)を無作為に1kgずつ3試料採取した．その対照として，暗赤色土と黒ボク土をそれぞれ，島尻林帯畑地と東京(35°38'N，139°37'E)の畑地の心土(表層50～60cm)から，無作為に1kgずつを3試料採取した．なお，このうち暗赤色土は，島尻地区河口域林帯の母材土壌と推定される．これらの土壌試

料は室温(25±5℃)で風乾後、湿りが残ったマングローブ土壌のみ通風乾燥機(DKN602, YAMATO)により60℃ 2日間乾燥した。これら乾燥後の試料は大きな根や石などを取り除き、メノウのすり鉢で粉碎後2mmメッシュの篩にかけ、供試した。

土壌 pH(Potential Hydrogen, 水素イオン濃度指数)と EC(Electric Conductivity, 電気伝導度)は、土壌：蒸留水を1:5(W/V)で混合し1時間振とう後、pH計(F-21, Horiba)とEC計(DS-e14, Horiba)により測定した。土壌中の全炭素(T-C)と全窒素(T-N)は、試料を105℃に設定した通風乾燥機を用いて2時間乾燥後、CN analyzer (NC-900, Sumigraph)により測定した。熱硝酸溶存性鉄は、土壌：濃硝酸を1:100 (W/V)の割合で混合し、220℃のホットプレートにより1時間熱した後、1.7μmのガラス繊維フィルター(GF/A, Whatman)によりろ過したろ液をフレイム原子吸光光度計により測定した。全ての実験は3連土壌試料により行い、平均と標準誤差はこの値を用いて算出した。土壌試料の粒径分布は、砂画分は篩法により、シルト画分と粘土画分はピペット法により決定した(Indorante et al., 1990)。

2.1.2. 試薬タンニン酸溶液による土壌からの溶存鉄溶出

試薬は関東化学のタンニン酸(Chinese gallotannin, 分子量1701.2)を用い、各種濃度のタンニン酸溶液(1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 150, 及び 200 mM)を調整した。これらの溶液40mlを上記3土壌(マングローブ土、暗赤色土と黒ボク土)4gに添加し、1時間振とう後、孔径0.2μmのメンブレンフィルターに通過後のろ液に、10Mギ酸－2.4Mギ酸アンモニウム溶液(Nishioka and Takeda, 2000)を0.25ml/50mlの割合で混合させpH3.2に調整し、溶液中の鉄を溶解した後、フレイム原子吸光光度計により溶液中の鉄含有率を測定した。

Nishioka and Takeda (2000)によると、孔径0.2μmのろ紙でろ過後、10Mギ酸－2.4Mギ酸アンモニウム溶液を添加しpH3.2で溶解する鉄には、植物プランクトンに利用可能な溶存鉄種が含まれるとされている。

2.1.3. 塩分濃度の異なる試薬タンニン酸溶液による土壌からの溶存鉄溶出

人口海水(Instant Ocean; <http://www.instantocean.com/>)を用いて、塩分濃度の異なる10mMタンニン酸溶液 (0, 5, 15及び35‰)を作成した。この溶液40 mLを土壌4gに混合し、2.1.2と同様の方法で土壌から溶出する溶存鉄を測定した。

2.1.4. 試薬タンニン酸溶液湛水による土壌からの溶存鉄溶出

タンニン酸溶液湛水土壌から溶出する溶存鉄量は原子吸光法で測定した。50mlの蓋付きガラスビンに土壌4gを投入し、10mMタンニン溶液により満水にし、パラフィルム(LMS Co., Ltd)を用いて密閉後蓋をし、インキュベーター(CR-32LS, HITACHI: 25°C, dark)に静置後、1, 2, 5, 10, 20日後の上澄み液中の溶存鉄を2.1.2と同様の方法で測定した。

2.1.5. 供試樹種葉の採取及び葉中タンニン含有率の分析方法

供試葉としてマングローブ樹種(n=6; Spalding et al., 2010)は沖縄島の億首川河口域林帯(26°27'N, 127°56'E)及び宮古島の島尻地区(24°52'N, 125°17'E)と川満地区(24°45'N, 125°17'E)河口域林帯において、2010年の8月と9月に採取した(図2-1)。その際、非マングローブ樹種(n=16)もマングローブ河口域林帯近くで採取した。各樹種名と採取地点は表2-1に示した。

各樹種において樹高が同程度の個体5本を選択し、緑色の第2, 3葉を10枚ずつ各個体から採取した。試料は60°Cに設定した通風乾燥機(DKN602, YAMATO)により24時間乾燥後、粉砕機(WB-1, OSAKA CHEMICAL)を用いて粉砕した。

試料100mgに10mlのアセトン溶液(7:3 v/v; Yi et al. 2007)を加え1時間振とう後、孔径1.7µmのガラス繊維フィルター(GF/A, Whatman)によりろ過した。この抽出操作を3回繰り返す、この値を基に平均と標準誤差を作成した。

タンニン含有率として、全フェノール含有率をフォーリンチオカルト法(Julkunen-Tiitto, 1985)により測定した。すなわち、上述過程で得られたろ過試料1mlにフォーリンチオカルト試薬(関東化学)1mlを加え、3

分放置後，炭酸ナトリウム(2:8 w/v)1mlを加え，室内(25±5℃)において1時間放置した．放置後，標準試薬としてタンニン酸(Chinese gallotannin, 分子量1701.2, 関東化学)を用い，分光光度計(U-5100, 日立)を用いて波長700nmの試料吸光度を測定した．このような方法で試料を測定したタンニンの分析値を本研究ではタンニン含有率と定義した．

表 2-1 供試樹種名とその採取場所

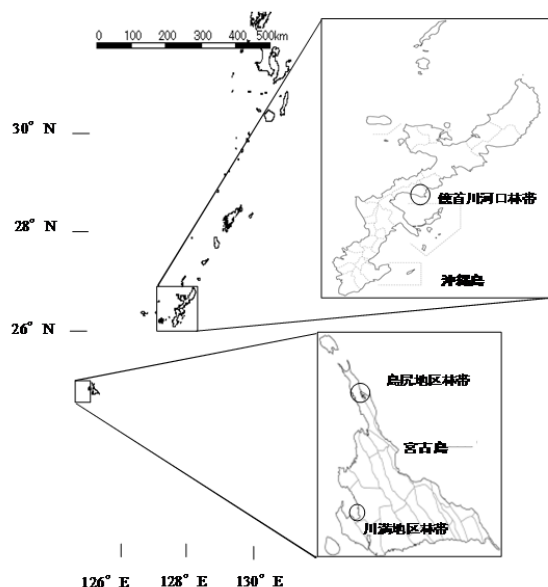


図 2-1 供試葉の採取場所

学名		場所 [‡]
マングローブ樹種 [†]		
1	<i>Rhizophora stylosa</i>	S
2		K
3		O
4	<i>Excoecaria agallocha</i>	K
5	<i>Kandelia candel</i>	S
6		K
7		O
8	<i>Lumnitzera racemosa</i>	O
9	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	S
10		K
11		O
12	<i>Avicennia marina</i>	S
非マングローブ木本植物		
13	<i>Elaeagnus decipiens</i>	O
14	<i>Terminalia catappa</i>	K
15	<i>Casuarina equisetifolia</i>	S
16	<i>Leucaena leucocephala</i>	O
17	<i>Calophyllum inophyllum</i>	K
18	<i>Diospyros egbert</i>	S
19	<i>Machilus thunbergii</i>	O
20	<i>Veitchia merrillii</i>	K
21	<i>Garcinia subelliptica</i>	S
22	<i>Hibiscus tiliaceus</i>	S
23	<i>Scaevola frutescens</i>	S
24	<i>Ficus retusa</i>	K
25	<i>Pandanus odoratissimus</i>	S
26	<i>Ficus viragata</i>	O
27	<i>Derris trifoliata</i>	S
28	<i>Pongamia pinnata</i>	K

[†] マングローブ樹種の分類はSpalding et al. (2010)に準じた．

[‡] S、K及びOはそれぞれ島尻地区、川満地区及び億首川河口域の略語である．前者2地域は宮古島、後者は沖縄島に属する．

2.1.6. 樹種葉抽出液による土壌からの溶存鉄溶出

葉抽出液は島尻河口域林帯のマングローブ樹種4種(*R. stylosa*, *K. candel*, *B. gymnorhiza*及び*A. marina*)を, また2.1.5.において葉中タンニン含有率を測定した22種の樹種葉のうち, タンニン含有率の高低により分類した宮古島の非マングローブ樹種6種(*T. catappa*, *E. decipiens*, *G. subelliptica*, *C. inophyllum*, *D. trifoliata*及び*P. pinnata*)を供試した.

それぞれの葉試料は粉末状にし, 蒸留水と1:100(W/V)の割合で混合し, 1時間振とう後, 孔径1.7 μ mのガラス繊維ろ紙(Whatman, GF/A)でろ過して供試した. それぞれの抽出液40mlを4gのマングローブ土壌に添加し, 1時間振とう後, 2.1.2と同様の方法で土壌から溶出する溶存鉄量を評価した.

2.1.7. 統計解析

本章の実験における平均と標準誤差は3連の分析試料から求めた. 2.1.2. と2.1.6. はタンニン溶液の濃度の違いを要因として, 2.1.4. は湛水期間の違いを要因として, 2.1.3. は塩分濃度の違いを要因としてANOVA解析を行い, Tukey - Kramer法を用い, エクセル統計2010(SSRI 2010 for Windows)を使用して有意差検定を行った.

2.2. 結果

2.2.1. 供試土壌の化学特性

供試土壌の物理化学性を表2-2に示した. 国際土壌学会法による土性分類によると, Clay, Silt及びSandの割合から, 暗赤色土と黒ボク土は重埴土, マングローブ土は軽埴土に分類される.

暗赤色土, 黒ボク土及びマングローブ土のpHはそれぞれ7.62, 6.31及び6.70であり, ECはそれぞれ0.09, 0.05及び2.59dSm⁻¹であった. 母材が琉球石灰岩である暗赤色土は他土壌よりpHが高く, 海水の影響を受けているマングローブ土壌は他土壌より際立ってECが高かった.

暗赤色土, 黒ボク土及びマングローブ土のT-Cはそれぞれ13.7, 40.0及び59.3mgg⁻¹であり, マングローブ林床土壌のT-Cが他土壌より高かった.

暗赤色土, 黒ボク土及びマングローブ土の熱硝酸抽出性鉄量はそれ

ぞれ63.5, 46.8及び34.8mgg⁻¹であり, 暗赤色土はマングローブ土の1.8倍高かった.

表 2-2 供試土壌の物理化学特性

	pH	EC	T-C [†]	T-N [†]	C/N	Fe ^{†‡}	Clay	Silt	Sand
	H ₂ O	dSm ⁻¹	mgg ⁻¹	mgg ⁻¹		mgg ⁻¹	%	%	%
暗赤色土	7.62	0.09	13.7 ±0.5	1.7 ±0.1	8.2	63.5 ±0.8	66.8	22.2	11.0
黒ボク土	6.31	0.05	40.0 ±0.7	3.2 ±0.4	12.4	46.8 ±1.6	55.3	10.5	34.2
マングローブ土	6.70	2.59	59.3 ±0.4	2.6 ±0.2	23.0	34.8 ±1.3	39.1	16.4	44.5

† データは平均(n=3)と標準誤差を示す.

‡ 熱硝酸抽出.

2.2.2. 試薬タンニン酸溶液による土壌からの溶存鉄溶出

図2-2に示したように, マングローブ土壌からの溶存鉄溶出量(〜20 µgg⁻¹)は, タンニン酸溶液濃度を高める(〜100mM)とともに増加した. しかし, 土壌からの溶存鉄溶出量は, 添加したタンニン酸溶液の濃度を100mM以上増加させても大きく変わらなかった.

図2-3に3種の土壌試料に濃度の異なるタンニン酸溶液を添加した際に土壌からの溶存鉄溶出量の違いを示した. これによると溶液中のタンニン酸濃度が高くなるほど, それぞれの土壌から溶出する溶存鉄量は有意に増加した. 特に, マングローブ土壌から溶出する溶存鉄量は, その他2種の土壌より極めて多かった. 100mMタンニン酸溶液を添加した際にマングローブ土壌から溶出した溶存鉄量はその母材土壌である暗赤色土より5.51倍高かった. しかし, それぞれの土壌から溶出する溶存鉄量の比率は同様の傾向を示した.

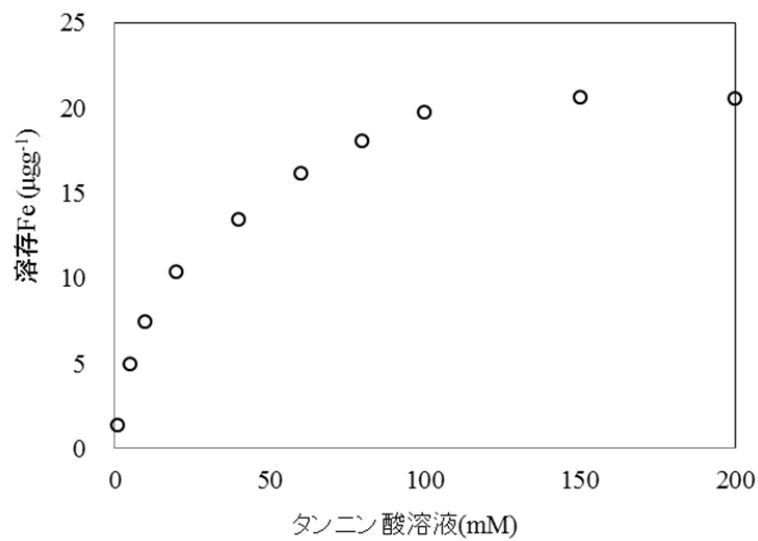


図 2-2 マングローブ土壤に添加したタンニン酸溶液の濃度と土壤から溶出した溶存鉄量との関係

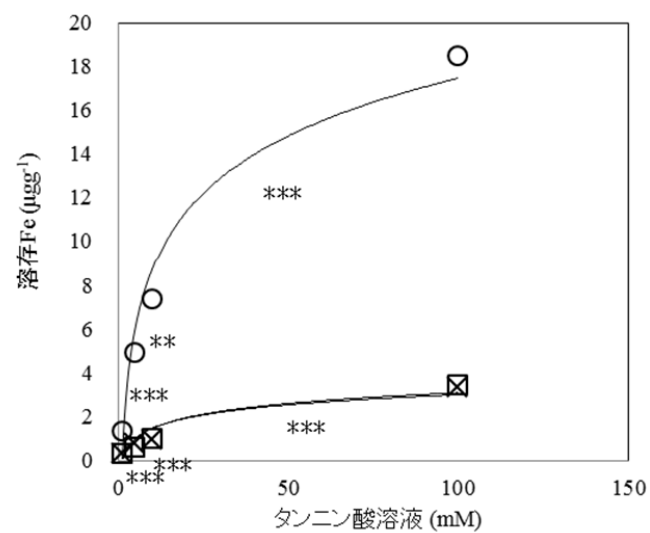


図 2-3 各土壤試料に添加したタンニン酸溶液の濃度と土壤から溶出した溶存鉄量との関係. ***, **, と *はそれぞれ $P < 0.001$, 0.01 , と 0.05 で 2 区間の差が有意であることを示す.

□黒ボク土 ×暗赤色土 ○マングローブ土

2.2.3. 塩分濃度の異なる試薬タンニン酸溶液による土壌からの溶存鉄溶出

図2-4に塩分濃度の異なる10mMタンニン酸溶液を土壌に添加した際の土壌からの溶存鉄溶出量を示した。その結果において、マングローブ土壌からの溶存鉄溶出量は、同塩分濃度の溶液を添加した他の2種の土壌より多かった。全ての土壌試料において、塩分濃度が増加するにつれて土壌から溶出した溶存鉄量は減少したが、塩分濃度35‰のタンニン酸溶液添加時においても、マングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は、同濃度の暗赤色土から溶出した溶存鉄量より6.1倍高かった。

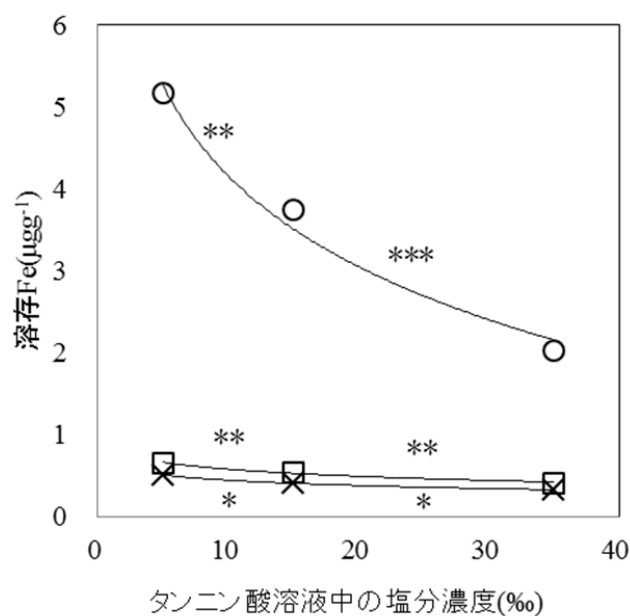


図 2-4 タンニン酸溶液(10mM)中の塩分濃度と土壌から溶出する溶存鉄量の関係. ***, **, 及び*はそれぞれ $P < 0.001$, 0.01, 及び 0.05 の水準で有意であることを示す.

□黒ボク土 ×暗赤色土 ○マングローブ土

2.2.4. 試薬タンニン酸溶液湛水による土壌からの溶存鉄溶出

図2-5は蒸留水もしくはタンニン酸溶液を土壌に湛水させた際に土壌から溶出した溶存鉄量を湛水日数毎に示した。蒸留水添加区では、湛水後2日目以降、マングローブ土壌からのみ溶存鉄溶出量が増加した。他方で、10mMタンニン酸溶液添加区では湛水日数の経過に伴い、それぞれの土壌から溶出した溶存鉄量は増加し、特にマングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は他の2種の土壌より多かった。

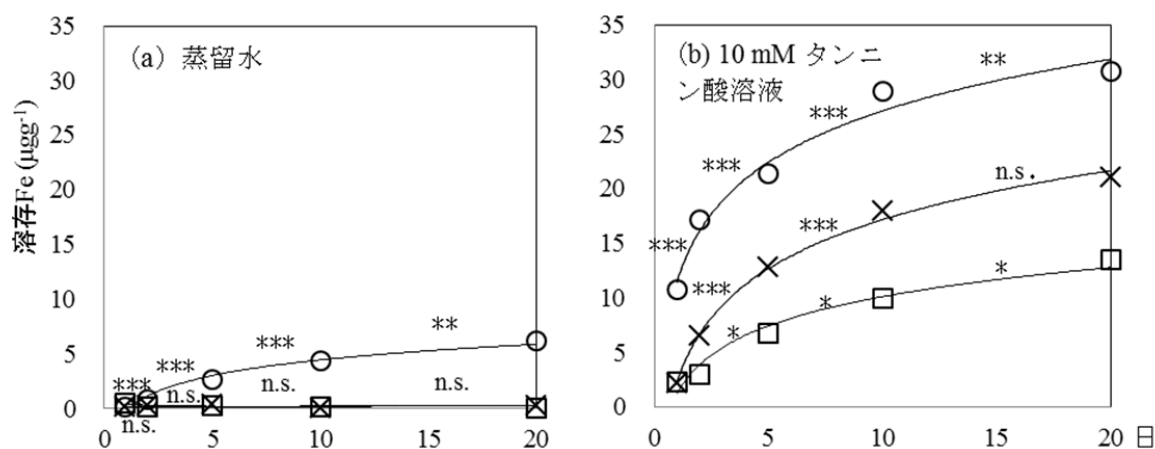


図 2-5 蒸留水(a)及び 10mM タンニン酸溶液(b)を土壌に湛水した際に土壌から溶出した溶存鉄量の経時変化. ***, **, 及び*はそれぞれ $P < 0.001$, 0.01 , 及び 0.05 の水準で 2 区間が有意であることを示す.

□ 暗赤色土 × 黒ボク土 ○ マングローブ土

2.2.5. 供試樹種葉中のタンニン含有率

沖縄に生育するマングローブ6種及び非マングローブ樹種16種の葉中タンニン含有率を測定した結果を図2-6に示した。供試したマングローブ樹種6種の平均タンニン含有率(\pm SE)は $99 \pm 16 \text{ mg g}^{-1}$ であり、非マングローブ樹種16種の平均タンニン含有率は $76 \pm 19 \text{ mg g}^{-1}$ であった。

供試したマングローブ樹種の中でタンニン含有率が最も高いものと低いものはそれぞれ *R. stylosa* (mean \pm SE, $156 \pm 6 \text{ mg g}^{-1}$) と *A. marina* ($45 \pm 6 \text{ mg g}^{-1}$) であった。一方供試した非マングローブ陸上樹種16種の中でタンニン含有率が最も高いものと、低いものはそれぞれ *E. decipiens* (265 ± 8

mgg⁻¹)と *P. pinnata* (11±1 mgg⁻¹)であった。

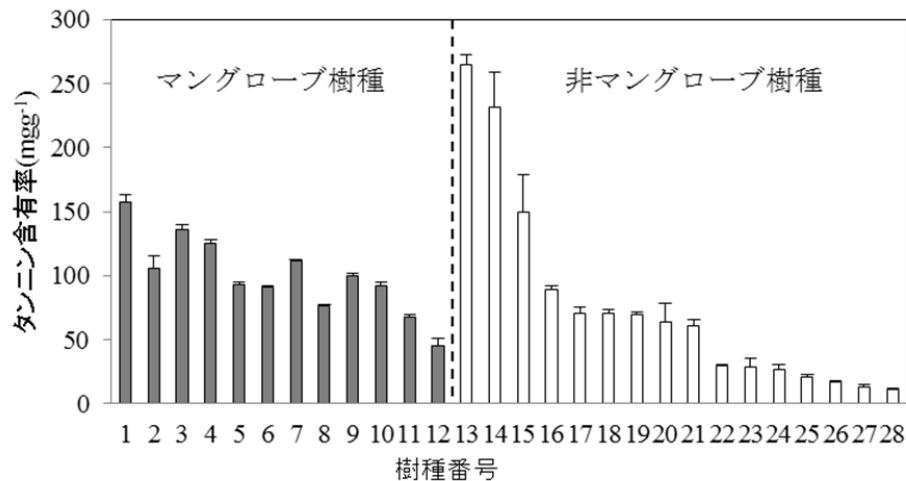


図 2-6 沖縄に生育するマングローブ及び非マングローブ樹種の葉中タンニン含有率

供試樹種名は表 2-1 に同じ樹種番号で示した。エラーバーは標準誤差 (n=3) を示している。

2.2.6. 樹種葉抽出液による土壌からの溶存鉄溶出

図2-7に樹種葉水抽出液をマングローブ土壌に添加した際に土壌から溶出した溶存鉄量を示した。供試樹種葉である *T. catappa*, *E. decipiens*, *R. stylosa*, *K. candel*, *B. gymnorhiza*, *G. subelliptica*, *C. inophyllum*, *A. marina*, *D. trifoliata*, 及び *P. pinnata* の水抽出液中のタンニン濃度はそれぞれ 0.52, 0.41, 0.25, 0.24, 0.24, 0.12, 0.11, 0.07, 0.07, 及び 0.02mM であった。

マングローブ樹種及び非マングローブ樹種に関係なく、葉抽出液中のタンニン含有率の高い順に、マングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は増加した。それぞれの樹種葉添加区は蒸留水添加区に比べマングローブ土壌から有意に多く溶存鉄が溶出した ($0.12 \pm 0.01 \mu\text{gg}^{-1}$; mean±SE)。特に *R. stylosa* 添加区から溶出した溶存鉄量は $1.16 \pm 0.13 \mu\text{gg}^{-1}$ と、蒸留水添加区の 9.7 倍であった。

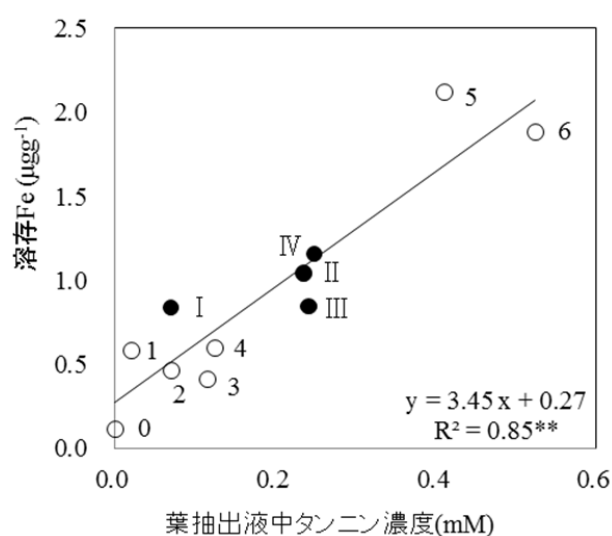


図 2-7 葉抽出液中タンニン濃度とその抽出液添加マングローブ土壌からの溶存鉄溶出量との関係。

図中の黒丸はマングローブ樹種を示す(Spalding et al., 2010). **は相関関係の有意差($P < 0.01$)を示す。

I . *Avicennia marina* II . *Bruguiera gymnorrhiza* III . *Kandelia candel*

IV . *Rhizophora stylosa*

0. Distilled water 1. *Pongamia pinnata* 2. *Derris trifoliata* 3. *Garcinia subelliptica*

4. *Calophyllum inophyllum* 5. *Terminalis catappa* 6. *Elaeocarpus decipiens*

2.3. 考察

本章では沖縄に生育する6種のマングローブ樹種と16種の非マングローブ樹種の葉を用いて、その水抽出液を宮古島の島尻マングローブ上流域の土壌、その母材土壌と想定される暗赤色土及び黒ボク土の3種の土壌に添加した際に土壌から溶出する溶存鉄量を検証した。

まず酸化条件下で行った実験結果について述べる。図2-3に示したように、マングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は添加したタンニン溶液の濃度とともに増加することを確認した。さらに、100mMタンニン酸溶液を3種の土壌に添加した際、マングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は暗赤色土のそれに比べ5.51倍多かった(図2-3)。これらの結果は、タンニンによりマングローブ土壌から溶存化された鉄は、酸化条件下においても安定な錯体結合を形成していることを示唆している。

さらに図2-7に示したように、樹種葉抽出液をマングローブ土壤に添加した際、マングローブ樹種及び非マングローブ樹種に関わらず、葉抽出液中タンニン含有率の高いほうが土壤から溶存鉄溶出を促進した。これらの結果はマングローブ林床土壤において、落葉中のタンニンにより土壤から溶存鉄が溶出する可能性があることを示しており、本章の仮説はin vitroにおいて実証されたと言える。

他方、一般的に、非溶存性の3価のFeイオン(Fe^{3+})は還元状態の土壤において2価のFeイオン(Fe^{2+})に還元される。図2-5(a)に示したように、蒸留水湛水区土壤において、マングローブ土壤からのみ溶出した溶存鉄は Fe^{2+} であると想定される。しかし、10mMタンニン酸溶液湛水区において20日目にマングローブ土壤から溶出した溶存鉄量は、同湛水期間の蒸留水区より5.0倍高かった。このことは、タンニン溶液は還元状態の土壤においてもマングローブ土壤からの溶存鉄溶出を促進することが示された。

しかし、土壤湛水2日目以降のマングローブ土壤と黒ボク土とから溶出した溶存鉄量は大きく違わなかった。それゆえ、この土壤湛水初期に溶出した溶存鉄の多くは、タンニンによる錯体鉄の一部であり、一方湛水中期以降に溶出した溶存鉄は、 Fe^{3+} が Fe^{2+} に還元されて溶出した溶存鉄であると考えられる。先行研究においてタンニンが Fe^{3+} や Al^{3+} と錯体結合すること(Sungur and Uzar, 2008)や、タンニンが Cr^{6+} を Cr^{3+} に還元する(Noro and Komatsu, 2003)ことが知られている。

他方、溶液中の鉄の溶存性は塩分濃度に大きく影響する。図2-4に示したように、土壤から溶出する溶存鉄量は塩分濃度の増加と共に減少した。鉄は酸化海水において速やかに酸化し、粒子状の水酸化鉄コロイドとして凝集沈殿することが知られている(Waite, 2001)。それにもかかわらず有機錯体鉄は海水でも比較的安定である(Matsunaga et al., 1998)。このことは図2-4にも示されているように、塩分濃度35‰を含む10mMタンニン酸溶液をマングローブ土壤に混合した際に残存していた溶存鉄量の多くは錯体鉄であると想定される。この結果は、タンニンによって土壤溶出した溶存鉄は、海水条件下でも完全に凝集沈殿せず、いくらかは溶存することを示している。

最後にマングローブ樹種葉中のタンニン含有率について述べる。こ

れまで多くの研究においてマングローブ樹種葉中にはタンニンが豊富に含まれていると報告されている．例えばBasak et al. (1999)が分析したインドに生育する9種のマングローブ樹種のうち6種の葉中タンニン含有率は20 % (乾物)以上であった．しかし図2-6を見ると，沖縄に生育する6種のマングローブの葉中タンニン含有率はその周辺に生育する16種の非マングローブ樹種より比較的高いことが示唆されたが，際立って高いわけではなかった．

しかしながら，マングローブマングローブ樹種は陸と海の潮間帯の位置に生息しており，その林床においてリター由来のタンニンによって溶存性の錯体鉄が生産されているということが，海洋生態系に及ぼす役割は内陸域の森林より大きいといえる．

2.4. まとめ

マングローブ落葉由来タンニンによる溶存鉄の土壌溶出が，沿岸海洋生産性に寄与している，との説を提唱するための一連研究の端緒として，本章ではタンニン溶液による溶存鉄の土壌溶出促進効果を室内実験により検証した．得られた結果は以下の通りである．

1)タンニン酸溶液濃度を高める($\sim 100\text{mM}$)と，マングローブ土壌から溶出した溶存鉄量($\sim 20\text{ }\mu\text{gg}^{-1}$)も増加した．

2)マングローブ土壌に 100mM タンニン酸溶液を添加した際に溶出した溶存鉄量は，暗赤色土のそれよりも5.5倍高かった．

3) 10mM タンニン酸溶液湛水1日目のマングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は，暗赤色土のそれより高かったが，湛水2日目以降のそれらの増加度合に違いはなかった．

4) 10mM タンニン酸溶液中の塩分濃度を高めると，土壌から溶出する溶存鉄量は有意に減少したが，塩分濃度35‰の同溶液添加時にマングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は，同条件の暗赤色土から溶出したそれより6.1倍多かった．

5)供試したマングローブ樹種($n=6$)及び非マングローブ樹種($n=16$)葉中のタンニン含有率(mean \pm SE)は，それぞれ $99 \pm 16\text{ mgg}^{-1}$ 及び $76 \pm 19\text{ mgg}^{-1}$ であった．

6)マングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は，添加した供試葉抽出液

中のタンニン含有率と有意な正の相関関係がみられた。

これらの結果は、マングローブ樹種葉中のタンニンが塩水条件下においても、マングローブ土壌から溶存鉄溶出を促進する可能性があることを示している。

なおこれらの成果は、本章の仮説「マングローブ林床土壌にタンニン溶液を添加すると溶存鉄の土壌溶出は促進される」をin vitroにおいて支持するものである。

第 3 章 マングローブリター量に占める植食性カニによるリター持去り量の比率

前章において、マングローブ樹種葉中タンニンにより、その林床土壌から溶存鉄溶出が促進されることを確認した。しかし、実際マングローブは潮間帯の位置に生育しており、その落葉は干満により海へ持去られる可能性がある。マングローブにおける樹種葉中タンニンと土壌中の鉄との接触/反応を検証していくには、落葉の動態を把握する必要がある。

マングローブの落葉の多くは、第1章でも述べたように、植食性のカニによって巣穴に持ち運ばれることが知られている (Micheli, 1993; Ashton, 2002; Kristensen, 2008; Chen et al., 2008)。植食性のカニがマングローブ樹種葉を巣穴に持去る行為は、葉中タンニンと土壌との接触機会の増加を意味する。

しかし、世界各地のマングローブにおける植食性カニによる落葉持去り量の研究結果は、樹種、底生動物の種類、気温、潮汐の大きさによって大きく異なる。また、沖縄では既往研究においてリター量の調査 (Mokolensang and Tokuyama, 1998; Mfilinge et al., 2005) や植食性カニによる短期間のリター持去り評価 (Mfilinge and Tsuchiya, 2008) は行われているが、その両方を通年評価した例はなく、宮古島島尻林帯での調査例もない。

そこで本章では、宮古島の島尻林帯においても、その年間落葉量と植食性カニによる持去り量を把握し、林床土壌への落葉由来タンニンの供給量を検証した。本章の仮説は以下の通りである。

「マングローブ落葉の50%以上は植食性カニにより巣穴に運ばれる」

本章では上記仮説を検証するため、具体的に以下のような手法で研究を進めた。すなわち、前章の供試土壌を採取した島尻林帯上流域を対象として、中空リターキャッチャーと地面リターキャッチャー用い、リター量、カニによるリター持去り量、潮汐によるリター持去り量及び、林床へのリター現存量を通年調査し、最後に林床土壌への落葉由来タンニン供給量を算出した。

3.1. 材料と方法

3.1.1. 調査地概要

植食性カニによるリター持去り量の定量は，沖縄県宮古島の島尻河口域林帯(図2-1)において行った．当林帯は，1)沖縄県により保護されており，人為的なかく乱が少ないこと，2)我々の研究拠点である東京農業大学宮古亜熱帯農場(24°76'N, 125°39'E)から15kmと近いことにより，試験地に選定した．亜熱帯域に位置する当地域の年間降水量と年平均気温はそれぞれ2,034mmと23.6℃である．また，当地域の周囲300km以内には年平均3.8個の台風が襲来する(1981-2010，沖縄地方気象台)．年間の最高潮位差は2.3mである．

試験期間である2011年4月から2012年3月までの間，最高及び最低月平均気温はそれぞれ，7月(28.8℃)と1月(18.3℃)であった．最高月間降水量は巨大台風が襲来した5月(530mm)であった(表3-1)．6月と8月にもそれぞれ台風があった．最低月間降水量は7月(38mm)であった．

当林帯は主にマングローブ樹種を含む以下5種の混成林である．すなわち樹種数の多い順に*Rhizophora stylosa*, *Bruguiera gymnorhiza*, *Derris trifoliata*, *Avicennia marina*及び*Kandelia candel*である．樹高2m以上の*R. stylosa*の樹木密度は $11,700 \pm 2,465$ trees ha⁻¹である．Spalding et al. (2010) の分類によると，*D. trifoliata*以外はマングローブ樹種である．

当林帯は川岸からの林幅は2mから20m程度であり，河口から上流までおよそ500mである．当林帯に生息する植食性のカニは生息数が多い順に，主に*Neosarmatium smithi*(図3-1(1))，*Helice leachi*及び*Perisesarma bidens*である．

表 3-1 宮古島の 2011 年から 2012 年の月別平均気温と降水量と過去 10 年との比較

	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	
Temperature (°C)													Average
2001-2010	22.5	25.1	27.4	28.9	28.7	27.7	25.6	22.9	19.8	18.2	19.1	19.9	23.8
2011	21.2	24.5	27.9	28.8	28.6	27.8	25.6	24.2	19.4	16.1	18.7	17.9	23.4
Rainfall (mm)													Total
2001-2010	133.0	145.7	227.6	156.3	252.7	272.9	174.2	156.1	117.5	110.6	122.7	139.8	2008.8
2011	150.0	529.5	188.0	38.0	173.5	86.5	336.0	215.0	139.0	216.0	105.0	39.0	2215.5

Data source: Japan Meteorological Agency.

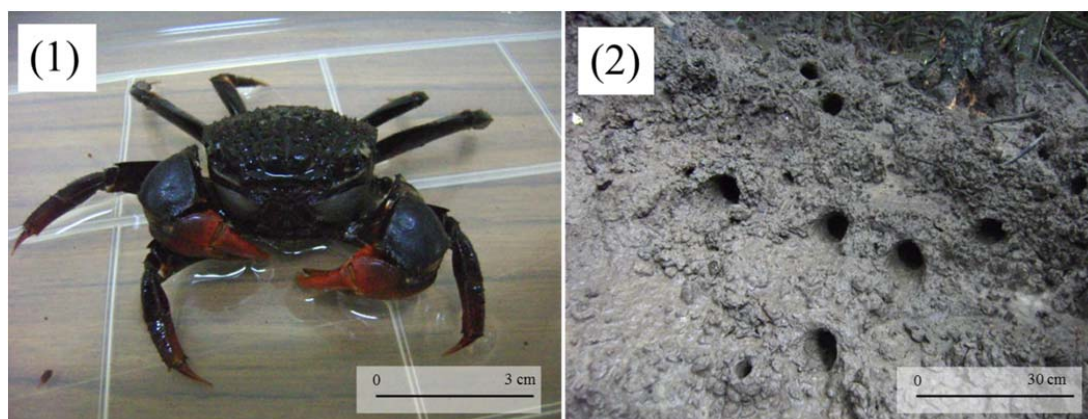


図 3-1 (1) *Neosarmatium smithi* と (2) その巣穴

3.1.2. リター量，林床土壌へのリター現存量，海域へのリター流出量及び植食性カニによるリター持去り量の通年調査

リターのモニタリング調査は島尻河口域林帯上流にて，10m×10mのコドラートを用い，その中を対象として行った．当地点を選定した理由は，1)大潮の最満潮時にのみ冠水すること，2)*R. stylosa*，*B. gymnorrhiza*及び*D. trifoliata*の生育密度が同程度で，その樹高が4m以上のものが多いことによる．

当コドラート内の植生及び植食性カニの特徴を表3-2に示した．樹種数は*R. stylosa*，*B. gymnorrhiza*及び*D. trifoliata* がそれぞれ54，44及び32本であり，底生動物は*N. smithi*が優占し，経口25mm以上のカニ穴が456個，24mm以下のカニ穴が786個確認された(表3-2，図3-1(2))．この野外実験の手法の多くはRobertson and Daniel (1989)及びChen et al. (2008)を参考にした．

表 3-2 試験コドラート内の植生と植食性カニの生息状況(100 m²)．

木本性	<i>Rhizophora stylosa</i>	54
樹種	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	44
	<i>Derris trifoliata</i>	32
植食性	<i>Neosarmatium smithi</i>	420
カニ	<i>Helice leachi</i>	250
	<i>Perisesarma bidens</i>	160
カニの diameter	≥ 25mm	1822
巣穴	< 25mm	3144

3.1.3. 年間リター量

図3-2に示したように，コドラート内に5つの中空リターキャッチャー(1 m×1 m PVCフレームに2mmメッシュのナイロン寒冷紗を水糸で縫い合わせ，林床からの高さ1.2mに位置に吊下げた．図3-3(1))を設置し，リター量を定量した．中空キャッチャー内のリターは大潮の満潮期間の前日，すなわち概ね月2回採取した．試料は樹種別に葉，実，托葉ごとに分類し，60℃，1週間通風乾燥機により乾燥し，その乾燥重量を測定した．この葉，実，托葉の総量をリター量と定義した．しかしながら，托葉はどの樹種のものか判別が難しかったため，その総量のみを評価の対象とした．

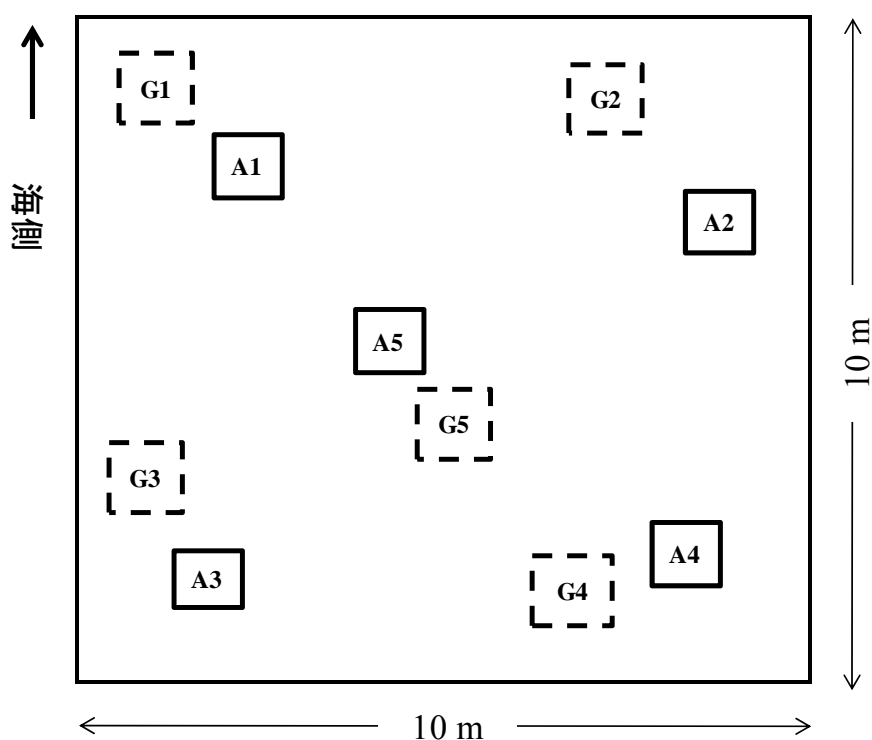


図 3-2 コドラート内のリターキャッチャー(1m ×1 m)の位置
四角く囲んだ線と点線はそれぞれ中空リターキャッチャー(A)と地面リターキャッチャー(B)を示している．コドラート内の *Rhizophora stylosa*, *Bruguiera gymnorrhiza* 及び *Derris trifoliata* の本数はそれぞれ 54, 44 及び 32 本である．

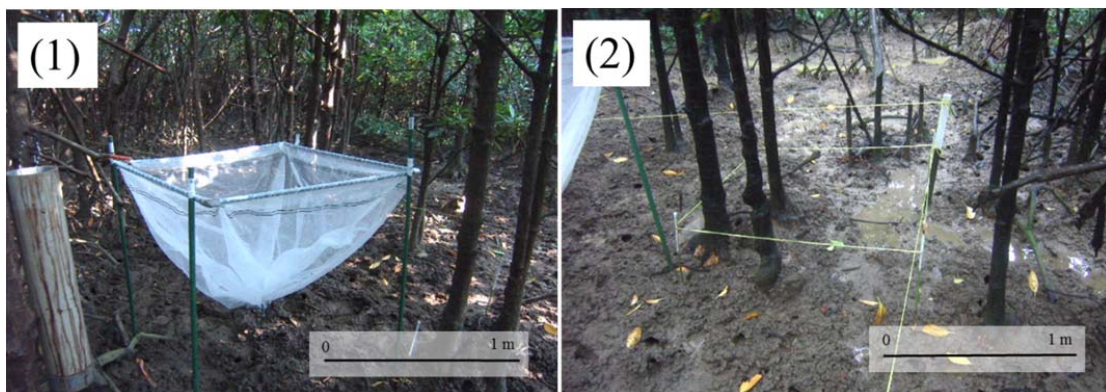


図 3-3 (1)中空リターキャッチャーと(2)地面リターキャッチャー

3.1.4. 林床へのリターの現存量

コドラート内の5つのリターキャッチャーの近くに、5つの地面リターキャッチャー区(1m×1m, 図3-3(2))を設置した(図3-2). 地面リターキャッチャー内のリターは中空リターキャッチャーと同日にリターを採取し, 上記同様の処理を行った. この地面キャッチャーに残存したリター量を, 林床へのリター現存量と定義した.

3.1.5. 海域へのリター流出量

年間のリター持去り量は, 試験期間(355日)の全リター量のうち, 大潮の全期間(72日)に落下したものと仮定し, 中空リターキャッチャーに落下したリター量に大潮期間/試験期間として算出した.

3.1.6. カニによるリター持去り量

カニによるリター持去り量は以下の式(1)により算出した:

$$C = L - (S + T) \text{ ----- (1)}$$

ここで, Cはカニによるリター持去り量, Lはリター総量(中空キャッチャーに捕集されたリター量), Sはリターの林床土壌への現存量(地面リターキャッチャーに捕集されたリター量), そしてTは潮汐による海域へのリター持去り量である.

島尻河口域林帯上流において大潮満潮時以外に落下したリターがカニによって持去られていることを確認するため, 以下のような予備試験を2011年4月に行った. すなわち, コドラートの近くに杭を打ち, そ

の杭に長さ1mの水糸10本を括り，その水糸の先端にマングローブ葉10枚の葉柄に結び，ビデオカメラ(FV M200 KIT, Canon)をセットし，1時間放置し，その様子を観察した．この試験は*R. stylosa*と*B. gymnorrhiza*の葉でそれぞれ5回ずつ計10回おこなった．その結果，全ての葉は*N. smithi*によってその巣穴に60分以内に持去られていた(図3-4)．



図 3-4 島尻地区林床に設置したマングローブ落葉とそれらが *N. smithi* の巣穴に運ばれた様子

3.1.7. 統計解析

リター量，リター現存量，潮汐によるリター持去り量，及びカニによるリター持去り量の樹種間の違いを分散分析(ANOVA)によってSSRI 2010 for Windowsを用いて解析し，各2樹種間の有意差はThe Kruskal-Wallis testによって検定した．平均と標準誤差は5つのリターキャッチャーのデータから求めた．

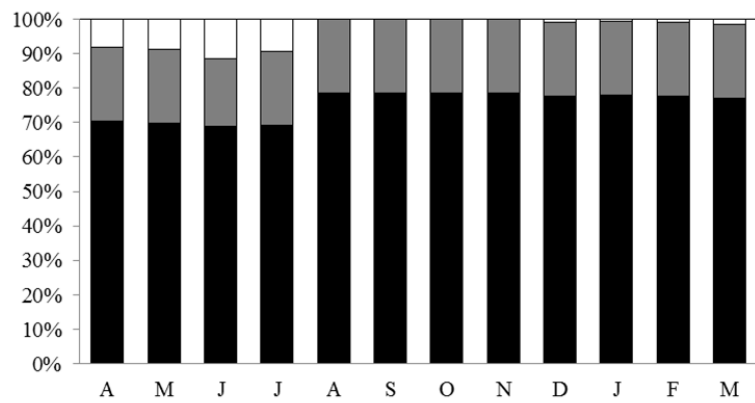
3.2. 結果

3.2.1. リター量，林床土壌へのリター現存量，海域へのリター流出量及び植食性カニによるリター持去り量

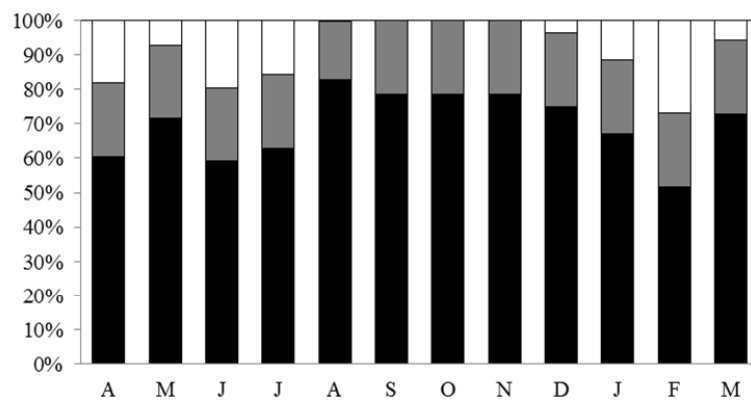
リター総量は $1221 \pm 63 \text{ gm}^{-2} \text{ y}^{-1}$ であった．そのうちカニによるリター持去り量，潮汐によるリター持去り量及び林床へのリター現存量はそれぞれ $839(68.8\%)$ ， $261(21.4\%)$ 及び $120(9.8\%) \text{ gm}^{-2} \text{ y}^{-1}$ と見積もられた(表3-3)．また各樹種のリター量はそれぞれ*B. gymnorrhiza*，*R. stylosa*及び*D. trifoliata*は $594(61.4\%)$ ， $301(31.1\%)$ 及び $72(7.5\%) \text{ gm}^{-2} \text{ y}^{-1}$ で，カニによる各樹種のリター持去り量はそれぞれ $432(72.8\%)$ ， $209(69.3\%)$ 及び $26(35.7\%) \text{ gm}^{-2} \text{ y}^{-1}$ であった．カニによるマングローブ樹種2種(*B. gymnorrhiza*と*R. stylosa*)のリター持去り率は非マングローブ陸上樹種である*D. trifoliata*のおよそ2倍であった(図3-5)．総リターとカニによって持去られたリター中に含まれるタンニン含量はそれぞれ 92.6 と $65.1 \text{ gm}^{-2} \text{ y}^{-1}$ であった(表3-4)．

表 3-3 沖縄県宮古島の島尻河口林帯上流域におけるリター量，リターのカニによる持去り量，リターの林床への現存量及び潮汐によるリター持去り量(2011年4月～2012年3月)

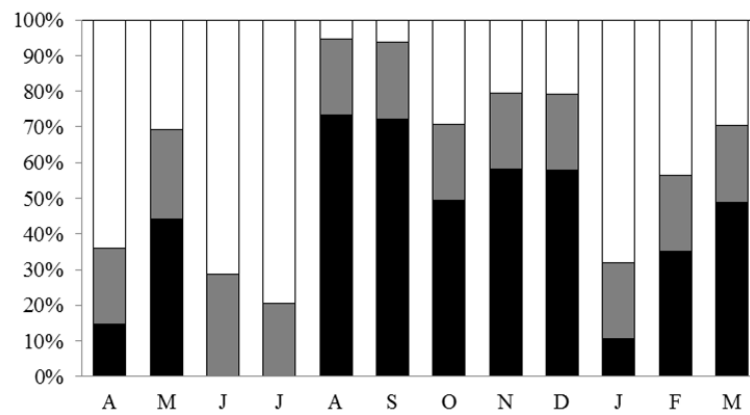
	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>			<i>Rhizophora stylosa</i>			<i>Derris trifoliata</i>			Total		
	$(\text{gm}^{-2} \text{ y}^{-1}; \text{mean} \pm \text{SE})$		%	$(\text{gm}^{-2} \text{ y}^{-1})$		%	$(\text{gm}^{-2} \text{ y}^{-1})$		%	$(\text{gm}^{-2} \text{ y}^{-1})$		%
リター量												
葉	593 ± 60		-	301 ± 55		-	72 ± 20		-	967 ± 52		-
種	112 ± 56		-	28 ± 5		-	3 ± 0		-	144 ± 57		-
たく葉	-			-			-			110 ± 11		-
合計	706 ± 98	a	-	329 ± 55	b	-	75 ± 20	c	-	1221 ± 63		-
カニによるリター持去り量												
葉	432 ± 44		72.8	209 ± 41		69.3	26 ± 14		35.7	666 ± 48		68.9
種	66 ± 30		59.2	21 ± 5		73.0	1 ± 0		28.6	88 ± 32		61.3
たく葉	-			-			-			85 ± 8		76.9
合計	499 ± 75	a	70.6	229 ± 29	b	69.6	27 ± 13	c	35.4	839 ± 63		68.8
林床への現存量												
葉	34 ± 14		5.8	28 ± 16		9.2	31 ± 6		42.9	93 ± 35		9.6
種	21 ± 16		19.4	2 ± 2		5.7	2 ± 0		50.0	25 ± 18		17.4
たく葉	-			-			-			2 ± 0		1.7
合計	56 ± 25	a	7.9	29 ± 17	a	8.9	32 ± 6	a	43.2	120 ± 45		9.8
潮汐による持去り量												
葉	127 ± 13		21.4	65 ± 12		21.4	15 ± 3		21.4	207 ± 7		21.4
種	24 ± 12		21.4	6 ± 1		21.4	1 ± 0		21.4	31 ± 12		21.4
たく葉	-			-			-			24 ± 2		21.4
合計	151 ± 21	a	21.4	71 ± 12	b	21.4	16 ± 3	c	21.4	261 ± 14		21.4



(a) *Bruguiera gymnorrhiza*



(b) *Rhizophora stylosa*



(c) *Derris trifoliata*

図 3-5 樹種別のリター落下後の動きとその月別変化

(宮古島, 島尻: 2011 年 4 月~2012 年 3 月).

■ カニによる持去り ■ 潮汐による持去り □ 地面への現存

表 3-4 植食性のカニによる落葉由来タンニンの巣穴への持去り量の推定

木本 性樹	落葉	落葉中タンニン		カニ 持去	カニ持去 りタンニ
	$\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$	mgg^{-1}	$\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$	%	$\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$
<i>B. g.</i>	594	100	59.4	73	43.4
<i>R. s.</i>	301	157	47.3	69	32.6
<i>D. t.</i>	72	13	0.9	36	0.3
Total	967		107.6		76.3

[†]*B. g.*: *Bruguiera gymnorrhiza*, *R. s.*: *Rhizophora stylosa*, *D. t.*: *Derris trifoliata*

3.2.2. 季節変動

月別のリター量の変動とその内訳を図3-3と図3-4に示した。図3-3に示したように、*B. gymnorrhiza*と*R. stylosa*のカニによるリター持去率は年間を通して70%を超えており、特に夏場(8月から10月)林床へのリター現存量はほとんどなかった。一方で、*D. trifoliata*のカニによるリター持去率は8月から12月を除き、年間を通して50%以下であった。

図3-6に示したように、試験期間中2012年5月に強烈な台風が宮古島に襲来し、年間リター量の35%のリターがその月に落下した。その結果、台風が襲来した5月6月及び8月に落下した総リター量は $654\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ であり、年間リター量の54%にあたる。

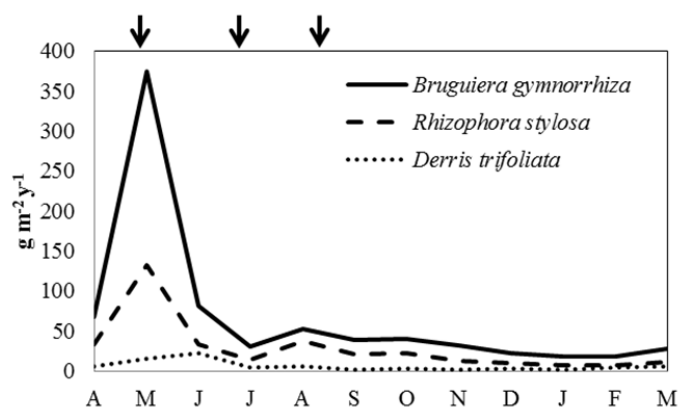


図 3-6 樹種別リター量の月別変化

(宮古島，島尻： 2011 年 4 月～2012 年 3 月)

矢印は宮古島に襲来した台風の時期を示している。最大平均風速はそれぞれ 45.9 (5 月), 32.2 (6 月) 及び 29.9 (8 月) ms^{-1} であった。

3.3. 考察

3.3.1. 島尻林帯の年間リター量とカニによる持去り量の他地域との比較

本章では、亜熱帯域に位置する宮古島の島尻林帯において、2011年の4月から2012年の3月までの年間リター量と植食性カニによる持去り量を把握し、林床土壌への落葉由来タンニンの供給量を検証した。

まず調査期間における、島尻林帯の年間のリター量について述べる。*R. stylosa*, *B. gymnorhiza* 及び *D. trifoliata*を含む島尻林帯の年間リター量は、 $1221\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ と見積もられた。この年間リター量は熱帯域のマングローブでの調査例と相似した($930\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$, オーストラリア, Duke et al., 1982; $886\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$, マレーシア, Gong et al., 1984; $1131\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$, オーストラリア, Bunt, 1982)。

また、島尻林帯の落葉量は $967\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ (表3-3)であり、ほぼ同緯度の亜熱帯中国の Jiulongjiang estuary のリター量($648\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$; Chen et al., 2008)の1.5倍も高かった。これらの結果からも、本調査期間における当林帯のリター量は非常に高かったと言える。本調査における島尻林帯のリター量が高かった要因として、図3-4に示したように、5月に発生した大型台風の影響によるものと考えられる。

この年間リター量のうち、カニによる持去り量、林床への現存量、及び海域への持去り量は、 $839(68.8\%)$, $261(21.4\%)$ 及び $120(9.8\%)\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ と見積もられた。このように、当林帯のリター量の約7割がカニによって巣穴に運ばれていることが明らかになった。Chen et al. (2008) は、熱帯域のマングローブに比べ、亜熱帯域のマングローブは冬季の気温減少があるためリター量が少ないことを指摘している。

しかしながら本研究において対象とした島尻林帯河口域ではカニによるリター持去り率の月別変化は*R. stylosa*樹種葉において見られたが、*B. gymnorhiza*では見られなかった(図3-5)。また、表3-3に見られたように島尻林帯河口域のカニによるリター持去り率は72.8%と Jiulongjiang estuary(33%)の2倍程と見積もられた。

これらの違いは研究対象地である宮古島の近くに流れる暖流(黒潮)が影響を及ぼしているものと考えられる。Jiulongjiangと島尻林帯河口域は共に同程度の緯度にあるが、宮古島近海には暖流が流れているた

め、冬季も気温が下がりにくい。そのため、島尻林帯に生息する植食性カニの活動が冬季においても下がりにくく、島尻林帯におけるカニによるリター持去り率が高くなったものと推測される。

3.3.2. 島尻林帯における落葉由来タンニンの年間供給量

本章の調査結果により、島尻林帯の年間落葉量は非常に高く、そのうち約7割が植食性カニによって巣穴に持ち込まれていることが明らかになった。すなわち、当林帯における物質循環において植食性のカニは非常に重要な役割を果たしているといえる。

表3-4に示したように、島尻林帯に供給される年間落葉由来タンニン量は $107.5 \text{ gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ であり、そのうちカニにより持去られる量は $76.4 \text{ gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ と推計された。

このうち、実際に土壤に供給されるのはカニによる年間落葉供給量と考えられる。 $76.4 \text{ mg m}^{-2}\text{y}^{-1}$ のタンニンを、試薬タンニン酸 1mM 換算に置き換えると(タンニン酸の分子量1701)、 129.9L の 1mM タンニン酸溶液が精製可能ある。

第2章の実験結果によると、 1mM タンニン酸溶液は、林床土壌と $10:1(\text{V}/\text{W})$ の割合で混合すると、 1.37mgL^{-1} の溶存鉄を溶出させる。その場合 129.9L の 1mM タンニン酸溶液は林床土壌 13.0kg から、 1.37mgL^{-1} の溶存鉄を溶出させると解釈できる。

林床土壌は、 1m^2 、作土 1cm 、比重1と仮定すると、およそ 10kg である。すなわち、島尻林帯における年間落葉由来タンニン量は、作土 1cm の土壌から 180.1mg の溶存鉄を溶出するだけのポテンシャルがあると言える。

3.3.3. 樹種の違いによる植食性カニによる葉持去り率

本章では島尻林帯において、カニによるリター持去り量を樹種別(*B. gymnorrhiza*, *R. stylosa*及び*D. trifoliata*)にも検証した所、そのリター持去り量はそれぞれ $432(72.8\%)$ 、 $209(69.3\%)$ 及び $26(35.7\%)\text{gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ であった。カニによるマングローブ樹種2種(*B. gymnorrhiza*と*R. stylosa*)のリター持去り率は、非マングローブ陸上樹種である*D. trifoliata*のおよそ2倍であった(図3-5)

既往研究においてタンニン含有率が高い葉程，植食性カニの摂食速度が減少することが報告されている(Fratini et al., 2011). しかし，表3-3を見ると，*Neosarmatium smithi*はマングローブ樹種の*B. gymnorrhiza* と*R. stylosa*を選択的に巣穴に持ち込んでいるように見える．これら2種のマングローブ樹種は非マングローブ樹種である*D. trifoliata*より比較的タンニン含有率が高い(表3-4).

Robertson and Daniel (1989)がオーストラリアの熱帯域において，カニによるリター持去り率を測定した結果，本研究と同様，タンニンを豊富に含むマングローブ樹種 (79%, *Bruguiera exaristata* 及び71%, *Ceriops tagel*)はタンニン含有率の低い樹種 (33%, *Avicennia marina*)よりカニによる持去り率は高かった．

これらの結果のように，仮にマングローブに生息する植食性のカニが，タンニン含有率の高い葉を選択的に巣穴に持去っているのであれば，その行為は当森林生態系における物質循環において極めて重要であり，本研究のタンニンの動態においても重要である．

3.4. まとめ

マングローブ葉中タンニンが林床土壌と接触するまでの動態を明らかにするため，日本の亜熱帯域に位置する沖縄地域の宮古島の島尻地区マングローブにおいて，リターキャッチャーを用いて植食性カニによる落葉の巣穴への持去り量を通年調査した．

得られた結果は以下の通りである．

1)リター総量は $1221 \text{ gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ であり，そのうちカニによる持去り率，林床への現存率，及び海域への持去り率はそれぞれ68.9, 9.6 及び21.4%であった．

2) 総リター量における各樹種(*Bruguiera gymnorrhiza*, *Rhizophora stylosa* 及び *Derris trifoliata*)の重量割合はそれぞれ61.4, 31.1 及び7.5%であり，各樹種葉のカニによる持去り率はそれぞれ72.8, 69.3 及び35.7%であった．

3)落葉及びカニに持去られた落葉中のタンニン含量は，それぞれ 92.6 及び $65.7 \text{ gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ であった．本調査地点におけるリターのカニによる持去り率は，熱帯域で同様に行われた先行研究の値と同等であった．

これらの結果から、植食性カニがマングローブ葉を選択的に摂食するという行為は、葉中タンニンと林床土壌との接触機会を増加させ、溶存鉄溶出を促進させる可能性が示唆された。

なお以上の成果は、本章の仮説「マングローブ落葉の50%以上は植食性のカニにより巣穴に運ばれる」を支持するものである。

第 4 章 植食性カニの樹種葉摂食性向とその葉中タンニンの動向

前章までの結果において、島尻林帯上流域の年間落葉量の68.9%は植食性カニによって巣穴に持ち込まれ、その樹種葉中タンニンにより、林床土壌から溶存鉄溶出が促進される可能性があることを確認した。これらの結果の中で、葉中タンニン含有率が高いマングローブ樹種2種 (*B. gymnorrhiza*と*R. stylosa*)の葉は、同含有率の低い非マングローブ樹種である*D. trifoliata*葉より、カニによる持去り率が高いことも明らかになった。このようなカニの行動は、タンニン含有率の高い葉が、林床土壌と接触/反応する上で極めて重要である。

従来、タンニンは植物にとって、植食動物からの防御物質であると見なされており、マングローブ葉を摂食する植食性のカニにおいてもこれまで同様の見方がされてきた(Neilson et al., 1986; Giddins et al., 1986)。しかしながら、いくつかの研究において、タンニン高含有植物は植食動物の摂食害に有意な影響を及ぼさないと報告もあり(Bernays et al., 1989; Close and McArthur, 2002; Gershenzon, 1994)、マングローブに生息する植食性のカニも、条件によってはタンニン含有率の高い葉をむしろ好んで摂食している可能性がある。

さらに、マングローブ落葉は植食性のカニによって巣穴に持去られた後、巣穴の中で速やかに摂食されると、その糞中にもタンニンが残存している場合、その糞中のタンニンと土壌との反応は、林床土壌からの溶存鉄溶出において無視できないと予想される。実際、我々が島尻河口林帯の植食性カニの巣穴を調査した結果、多くの巣穴内壁の一部にカニ糞と予想される黒色土壌の存在を確認した。

このような背景と推測の基、本章では以下の3つの仮説を立てた。

「(1)植食性のカニはタンニン含有率の高い樹種葉を選択的に摂食し、(2)葉中タンニンの一部はカニ糞中に残存し巣穴に蓄積される。(3)林床土壌とカニ糞中のタンニンの反応により溶存鉄溶出が促進される。」

本章では上記仮説を検証するため、具体的に以下のような手法で研究を進めた。すなわち、島尻林帯に生息する主な植食性のカニである

*Neosarmatium smithi*を用いてマングローブ樹種を含む13樹種葉の摂食試験、カニ糞及び巣穴土壤中のタンニン含有率の測定を行い、最後にカニ糞水抽出液を土壤に添加した際に溶出する溶存鉄量を評価した。

4.1. 材料と方法

4.1.1. *Neosarmatium smithi* の樹種葉摂食性向

島尻河口域林帯上流域(図2-1)において、2012年4月に甲幅25から40mmの*N. smithi*の個体10匹(♂5, ♀5)を採取した。それぞれの個体は個別のプラスチック容器(Polypropylene; L400×W250×H200mm)に入れ、水高5mmの希釈海水(塩分濃度15%)を張り、2日間その容器に馴化させた。カニへの葉給餌試験の前には24時間絶食させ、腸内を空にした個体を供試した。

カニへの葉給餌試験の方法はLee (1997)の手法を参考にした。供試した13種の緑色葉(図4-1)を宮古島で採取した。葉試料は中肋から半分に切り供試した。片方の葉はカニに摂食させ、もう一方の葉は水高5mmの希釈海水に浸し、葉からの溶出によって損失する重量を測定するためのコントロールとした。それらの葉は48時間後に採取し、通風乾燥機(YAMATO, DKN602)により70℃ 48時間乾燥後、電子秤を用いて重量を計測した。供試葉の重量は 1 ± 0.2 gとし、樹種によりその重量に満たない葉は必要に応じて1~10枚程度葉を追加した。

各樹種の標準乾燥重量は、緑色葉50枚の生重と乾燥重量を測定し、その回帰式から推定した。カニによる葉の摂食速度は葉の摂食乾物量をカニの乾物重量で除したものとした。カニの乾物重量は、既往に習い水分率80%として見積もった。

供試葉は通風乾燥機(YAMATO, DKN602)で2日間乾燥し、粉碎機(OSAKA CHEMICAL, WB-1)で粉碎した。タンニンの測定方法は第2章(5)と同様フォーリンチオカルト法を用い、試料の全炭素及び窒素含有率はCNアナライザー(NC-900, Sumigraph)により求めた。

一般的に、植物のタンニン含有率及びC/N比は、植食動物の嗜好性に影響を及ぼすことが知られている(Fratini et al., 2011; Russell-Hunter, 1970). そこで、我々は供試葉中のタンニン及びC/N比を測定した(図4-1).

本試験と他の植食性カニの葉給餌試験との違いは、供試葉をマング

ローブ樹種だけでなく，他の樹種と比較した点と，給餌には緑色葉を用いた点である．Giddins et al. (1986)やNeilson et al. (1986)は，供試葉の比較に腐朽葉を用いたが，腐朽に伴い嗜好性が向上するのは，タンニンの溶出以外にも微生物の増加による所が大きいと考えられる．そのため，マングローブ樹種5種を含む13樹種の緑色葉の摂食速度を検証した．加えて，葉中のC/N比も植食性のカニによる摂食速度と関連がある(Camilleri, 1989)ため，その関係についても検証した．

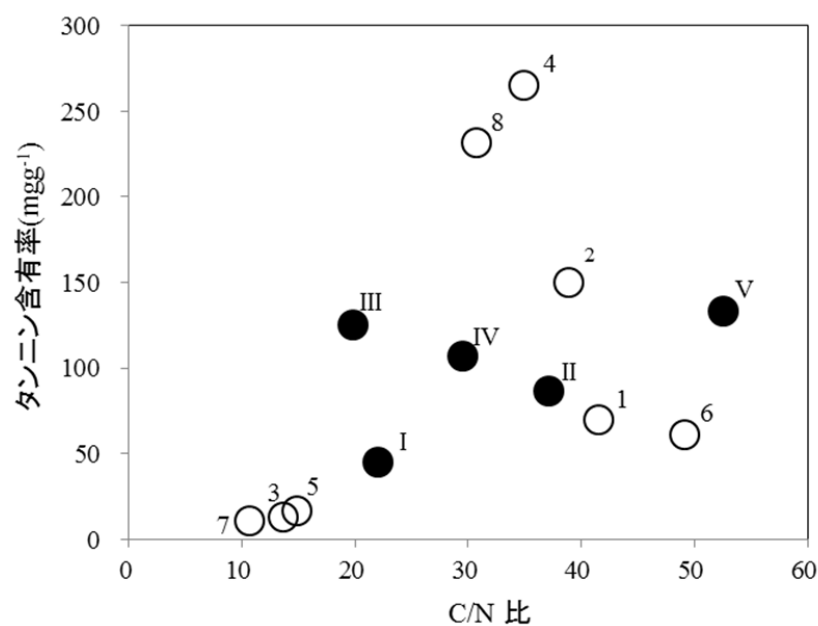


図 4-1 供試樹種葉中のタンニン含有率と C/N 比．

マングローブ樹種(黒丸；Spalding et al., 2010)はローマ数字で示した．

I. *Avicennia marina* II. *Bruguiera gymnorrhiza* III. *Excoecaria agallocha*

IV. *Kandelia candel* V. *Rhizophora stylosa*

1. *Calophyllum inophyllum* 2. *Casuarina equisetifolia* 3. *Derris trifoliata*

4. *Elaeocarpus decipiens* 5. *Ficus viragata* 6. *Garcinia subelliptica*

7. *Pongamia pinnata* 8. *Terminalis catappa*

4.1.2. カニ糞及び巣穴土壌中タンニン含有率

島尻河口域林帯上流域において，2012年4月と11月に甲幅25から40mmの*N. smithi*の個体16匹(♂8，♀8)を採取した．それぞれの個体は個別のプラスチック容器(Polypropylene;L400×W250×H200 mm)に入れ2日間絶食させ，飼育開始後2日間の糞を採取した(図4-2(1))．

2012年11月に島尻河口域林帯上流において，カニ穴内壁黒色土壌(n=16;図4-2(2))と同内壁黄色土壌(n=16)及びマングローブ土壌の母材土壌と推定される暗赤色土(n=6)を近隣畑から採取した．本研究対象地には，口径25mm以上のカニ穴が18個m⁻²観察され，そのうち12個の巣穴で黒色土壌が観察された．その黒色土壌を，ヘラを用いて可能な限り慎重に剥ぎ取り採取した．これらの試料は24時間通風乾燥機で乾燥し粉砕機で粉砕した．タンニン含有率は第2章(5)と同様の方法で測定した．

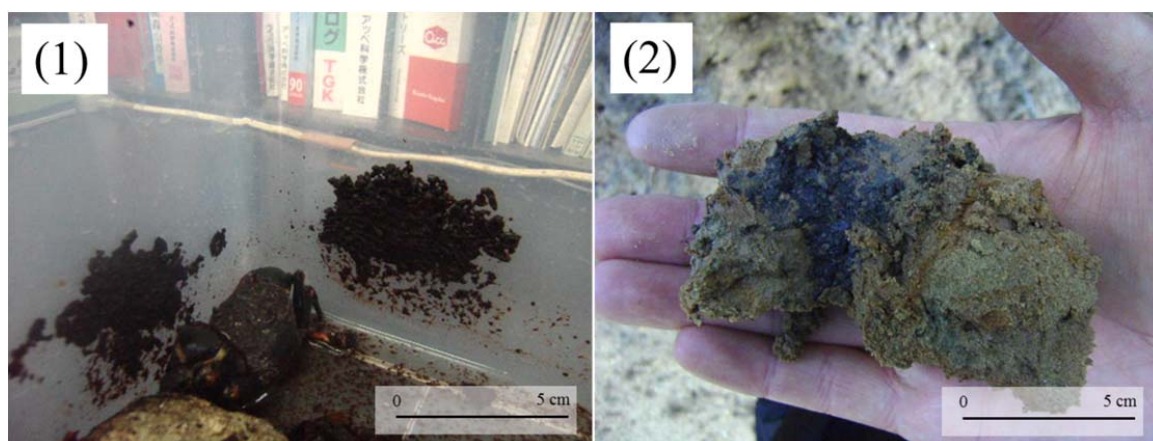


図 4-2 (1)飼育容器壁面に付着した *Neosarmatium smithi* の糞. (2) カニ穴内壁に付着した黒色土壌.

4.1.3. カニ糞水抽出液の添加による溶存鉄の土壌溶出量

供試カニ糞を収集するため、島尻河口域林帯上流にて*N.smithi*を10匹採取し、それぞれの個体は個別のプラスチック容器(Polypropylene; L400×W250×H200mm)に入れ*B.gymnorhiza*と*R.stylosa*の葉を2011年9月から2012年1月まで欠かさず給餌させ、毎日糞を採取した(合計約50g(乾物))。これらの試料は24時間通風乾燥機で乾燥し、メノウのすり鉢で粉碎後供試した。

カニ糞抽出液は供試カニ糞に蒸留水を1:10(W/V)の割合で混合し、1時間振とう後、孔径1.7 μ mのガラス繊維ろ紙でろ過したろ液とした。その抽出液40mlとマングローブ土4gと混合し、1時間振とう後、第2章と同様の方法で土壌から溶出する溶存鉄量を測定した。

4.1.4. 統計解析

平均と標準誤差は3連の分析試料から求めた。4.1.1.は樹種別葉中タンニン含有率の違いを要因として、ANOVA解析を行い、The Tukey - Kramer法を用い有意差検定を行った。4.1.2.と4.1.3.は試料の違いを要因として、ANOVA解析を行い、The Kruskal-Wallis法を用い有意差検定を行った。検定にはexcel統計(SSRI 2010 for Windows)を使用した。

4.2. 結果

4.2.1. *Neosarmatium smithi* の樹種葉摂食性向

図4-3に示したように、供試した13樹種葉のアシハラガニモドキによる摂食速度は0.00004~0.008349と差が大きく、また葉中タンニン含有率の高低による有意な差は見られなかった。マングローブ樹種である*R. stylosa*, *B. gymnorhiza*と*K. candel*の*N. smithi*による摂食速度は0.00676から0.01169であり、それらは*G. subellipica*を除く全ての非マングローブ樹種より有意に高かった。これらの結果から判断すると、*N. smithi*はタンニン含有率10%程度の葉を選択的に摂食していた。

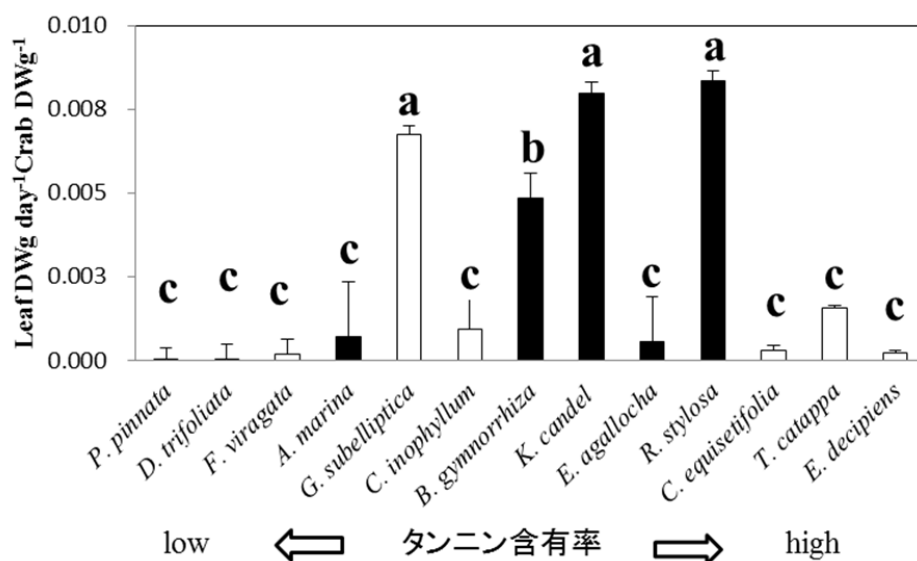


図 4-3 *Neosarmatium smithi* の葉摂食速度.

異なるアルファベットは有意差を示す($P < 0.01$). 樹種名は葉中タンニン含有率の順に並べた. 黒いバーはマングローブ樹種 (Spalding et al., 2010) を示す.

4.2.2. カニ糞及び巣穴土壤中タンニン含有率

表4-1に示したように, *N. smithi* の糞, その巣穴の黒色土と黄色土, 及び暗赤色土のタンニン含有率 (mean \pm SE) は, それぞれ 9.93 ± 3.14 , 0.49 ± 0.07 及び 0.12 ± 0.02 , 及び 0.11 ± 0.02 mgg^{-1} であった. このようにカニ糞中のタンニン含有率は他の土壌試料より有意に高かった. 黒色土壌のタンニン含有率は黄色土及びその母材である暗赤色土より有意に約4倍高かった.

表 4-1 *Neosarmatium smithi* の糞中, 巣穴内壁土壌のタンニン含有率 (mean \pm SE).

異なるアルファベットは有意差 ($P < 0.001$) を示している.

	mgg^{-1}
<i>N. smithi</i> の糞 (n=16)	$9.93(\pm3.14)$ a
カニの巣穴内壁土壌	
黒色土壌 (n=16)	$0.49(\pm0.07)$ b
黄色土壌 (n=16)	$0.11(\pm0.02)$ c
畑土壌 (暗赤色土 ; n=6)	$0.12(\pm0.02)$ c

4.2.3. カニ糞水抽出液の添加による溶存鉄の土壌溶出量

カニ糞，マングローブ土壌及びカニ糞と土壌の混合物の抽出液中の溶存鉄量 (mean±SE) は，それぞれ 0.08 ± 0.003 ， 0.15 ± 0.015 ，及び $0.65 \pm 0.015 \mu\text{gg}^{-1}$ であった (図4-4)．このようにカニ糞の土壌添加は溶存鉄溶出を促進することが示唆された．

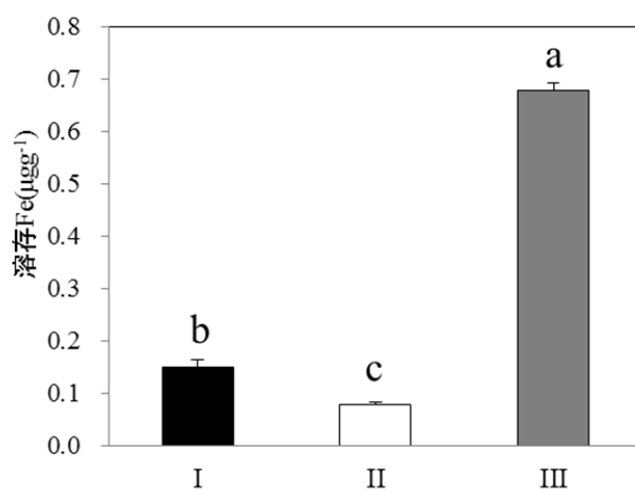


図 4-4 マングローブ土壌， (I)*Neosarmatium Smithi* の糞物質 (II) 及びその土壌に糞抽出液を添加 (III) した際に土壌から溶出する溶存鉄量．

異なるアルファベットは有意差 ($P < 0.01$) を示す．糞抽出液にはタンニン 0.03mM が含まれる．

4.3. 考察

4.3.1. 植食性カニの葉摂食性向における葉中タンニンの影響

前章の結果の中で，葉中タンニン含有率が高いマングローブ樹種2種 (*B. gymnorrhiza* と *R. stylosa*) の葉は，同含有率の低い非マングローブ樹種である *D. trifoliata* 葉より，カニによる持去り率が高いことも明らかになった．このようなカニの行動は，タンニン含有率の高い葉が，林床土壌と接触/反応する上で極めて重要である．

そこで本章では，島尻林帯に優先的に生育している植食性のカニである *N. smithi* を対象に，マングローブ樹種5種を含む13樹種葉の摂食速

度を検証した。加えて、葉中のC/N比も植食性のカニによる摂食速度と関連がある(Camilleri, 1989)ため、その関係についても検証した。

その結果、カニによる樹種葉の摂食速度とC/N比との間に明瞭な関係性は見られなかった。

樹種葉の摂食速度とタンニン含有率との関係においても、有意な相関関係は見られなかったが、マングローブ樹種3種(*R. stylosa*, *B. gymnorrhiza* 及び *K. candel*)の摂食速度は*G. subellipica*を除く全ての非マングローブ樹種に比べ有意に高かった(図4-3)。これらの結果に加え、*E. agallocha* (Konishi et al., 2000)と*C. inophyllum* (Kawazu et al., 1972)はその葉中に魚毒を含んでいることを勘案すると、*N. smithi* はタンニン含有率10%程度の樹種葉を選択的に摂食しているように推察された。

本研究で得られた結果は、これまで既往研究で示されていた結果(Neilson et al., 1986)すなわち、カニによる葉摂食速度は葉中タンニン含有率及びC/N比と負の関係性にあるという結果と一致しない。この結果について明確な判断はできないが、一つの要因として、既往研究では腐熟葉を摂食させていたのに対し、本研究では緑色葉を供試していたことが挙げられる。

いずれにせよ、本研究においては、島尻河口林帯上流に優占的に生息する*Neosarmatium smithi*が比較的タンニン含有率の高いマングローブ樹種3種を選択的に摂食したということが重要である。このことは、植食性カニの巣穴において葉中もしくは糞中のタンニンと林床土壌が接触/反応する機会を増大させることを意味する。

4.3.2. マングローブにおける葉中タンニンの動態

本研究対象地である島尻河口林帯上流域の林床にも、他のマングローブ同様多くのカニ穴が確認された。多くのカニ穴の中で、穴の直径から判断した*N. smithi*の巣穴を調査したところ、多くの巣穴内壁に糞と推測される黒色物質が付着していた。

そこで、カニ穴内壁の黒色土壌と同穴内の黄色土壌及びカニ糞中のタンニン含有率を測定した。その結果、カニの糞物質はほぼ1%(w/w)のタンニンを含み、また黒色土壌は黄色土壌の4.5倍タンニンを多く含

んでいた(表4-1)。これらの結果はカニに摂食されたマングローブ葉中のタンニンの一部は糞中だけでなく、巣穴内壁黒色土壌にも残存していることが示唆された。

そこで、我々はカニ糞の水抽出液を土壌に添加した際に土壌から溶出する溶存鉄溶出量を室内実験系において検証した。その結果、カニ糞、マングローブ土壌及びカニ糞と土壌の混合物の抽出液中の溶存鉄量(mean±SE)は、それぞれ 0.08 ± 0.003 、 0.15 ± 0.015 、及び $0.65 \pm 0.015 \mu\text{gg}^{-1}$ であった(図4-4)。このようにカニ糞の土壌添加は溶存鉄溶出を促進することが示唆された。

このように、宮古島の島尻林帯に生息する植食性のカニは、タンニン含有率の高いマングローブ葉を選択的に摂食し、それらを巣穴に持ち運ぶ。そしてその葉、もしくは糞中のタンニンと土壌とが接触反応する結果、溶存鉄が生成される可能性が示唆された。マングローブ葉中タンニンにより溶出された溶存鉄などの栄養は、周辺海域の植物プランクトンの成長を促進させ、近隣生態系の栄養循環に大きな影響を与えている可能性がある。

4.4. まとめ

本章はマングローブ樹種葉中タンニンと土壌との接触/反応における植食性カニの役割を明らかにすることを目的とし、宮古島の島尻林帯に優占的に生息する植食性カニである*Neosarmatium smithi*によるマングローブ葉の摂食性向、同カニの糞中及び巣穴内壁土壌中のタンニン含有率を調査した。最後に同カニ糞水抽出液を林床土壌に添加した際に溶出する溶存鉄含量を定量した。

得られた結果は以下の通りである。

1) *N. smithi*による*Rhizophora stylosa*, *Bruguiera gymnorrhiza* 及び*Kandelia candel*葉の摂食速度は、供試したその他の樹種葉より有意に高かった。

2) *N. smithi* の糞、巣穴内壁黒色土、及び黄色土中のタンニン含有率は、それぞれ 9.93 ± 3.14 、 0.49 ± 0.007 、及び 0.11 ± 0.02 であった。

3) *N. smithi* の糞、林床土、及びそれら混合物の水抽出液中の溶存鉄含有率 (mean±SE) は、それぞれ 0.08 ± 0.003 、 0.15 ± 0.015 、及び

$0.65 \pm 0.015 \mu\text{g g}^{-1}$ であった。

これらの結果により、植食性のカニはタンニン含有率の高いマングローブ葉を選択的に巣穴に持ち込んで摂食し、その葉、もしくは糞中のタンニンは土壌と接触し、土壌から溶存鉄溶出を促進する可能性があることが示唆された。

なおこれらの成果は、本章の仮説「(1)植食性のカニはタンニン含有率の高い樹種葉を選択的に摂食し、(2)葉中タンニンの一部はカニ糞中に残存し巣穴に蓄積される。(3)林床土壌とカニ糞中のタンニンの反応により溶存鉄溶出が促進される。」を支持するものである。

第5章 マングローブ植生内表流水中のタンニン含有率と溶存鉄含有率との関係

前章までの結果によって、宮古島の島尻林帯において落葉由来タンニンの68.9%はカニを介して巣穴に運ばれ、その葉もしくは糞中タンニンと土壌との反応により溶存鉄溶出が促進される可能性があることが示された。このようなメカニズムが一因となって、同林帯の水域中のタンニン含有率と溶存鉄含有率は高いことが予想される。

また、主に日本とロシアにおける20か所の泥炭域とそれ以外の流域の河川水における溶存鉄濃度を取りまとめた報告値(長尾, 2011)によると、泥炭地河川水の溶存鉄濃度は $0.11 \sim 2.4 \text{mgL}^{-1}$ であり、それ以外の流域の河川水の溶存鉄濃度は $0.001 \sim 0.17 \text{mgL}^{-1}$ とされている。このように泥炭域の河川水中溶存鉄濃度はその他河川域より、 $10^2 \sim 10^3$ 倍高く、湿地環境にあるマングローブ水域中の溶存鉄濃度も高いことが予想されるが、そのような報告例はほとんどされていない。

本章では以下の仮説を立て研究を進めた。

「宮古島のマングローブ水域中の溶存鉄含有率及びタンニン含有率は高く、両者の間には正の関係性がある」

本章では上記仮説を検証するため、具体的に以下のような手法で研究を進めた。すなわち、マングローブ植生域である宮古島の島尻、川満地区及び非マングローブ植生域である浦底地区の表流水を、上流から沿岸域まで16地点、2011年8月から2012年3月まで月1回大潮の干潮時に採取し、その水中のタンニン及び溶存鉄含有率を測定し、両者の関係性を解析した。

5.1. 材料と方法

5.1.1. 調査地概要

調査対象地は、我々の研究拠点である東京農業大学宮古亜熱帯農場($24^{\circ}76'N$, $125^{\circ}39'E$)からの利便性が良いことから、沖縄県宮古島島内の3地区を対象とし(図5-1)、マングローブ植生域として川満地区(図5-2, B)と島尻地区(図5-2, C)を、その対照として非マングローブ植生域の浦

底地区(図5-2, A)を選定した。

浦底地区(A)は、マングローブ樹種は生育せず、川岸からの林幅は1mから10m程度であり、河口から上流までおよそ200mであり、周囲はサトウキビ畑地に囲まれている。

川満地区(B)は、Spalding et al.(2010)の分類に従う5種のマングローブ樹種 (*Avicennia marina*, *Bruguiera gymnorhiza*, *Excoecaria agallocha*, *Kandelia candel*, *Rhizophora stylosa*)が生育し(表5-1), *R. s.*が優占する。川岸からの林幅は1mから10m程度であり、河口から上流までおよそ200mであり、周囲は住宅地に囲まれている。

島尻地区(C)は、同上の分類に従う4種のマングローブ樹種(*A. m.*, *B. g.*, *K. c.*, *R. s.*)が生育し(表5-1), *R. s.*が優占する。川岸からの林幅は2mから20m程度であり、河口から上流までおよそ500mであり、周囲はサトウキビ畑地に囲まれている。

試験期間である2011年8月から2012年3月までの間、最高及び最低月平均気温はそれぞれ、8月(28.6℃)と1月(18.3℃)であった。最高月間降水量は10月(336mm)であった。

表 5-1 調査対象地域に生育するマングローブ樹

地域	マングローブ樹種	優先種
浦底地区(A)	-	-
川満地区(B)	<i>A. m.</i> , <i>B. g.</i> , <i>E. a.</i> , <i>K. c.</i> , <i>R. s.</i>	<i>R. s.</i>
島尻地区(C)	<i>A. m.</i> , <i>B. g.</i> , <i>K. c.</i> , <i>R. s.</i>	<i>R. s.</i>

A. m. : *Avicennia marina*, *B. g.* : *Bruguiera gymnorhiza*,

E. a. : *Excoecaria agallocha*, *K. c.* : *Kandelia candel*,

R. s. : *Rhizophora stylosa*

マングローブ樹種の分類は Spalding et al. (2010)に準じた。

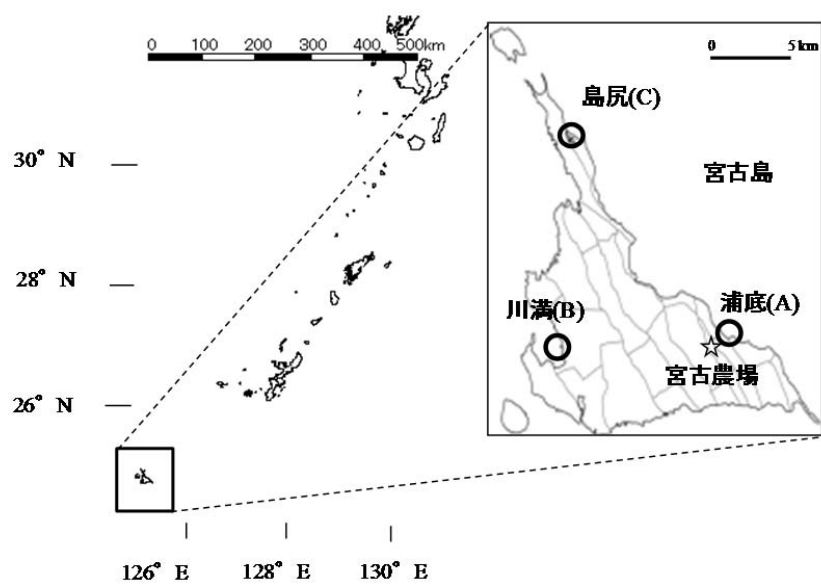


図 5-1 供試表流水の採取地区

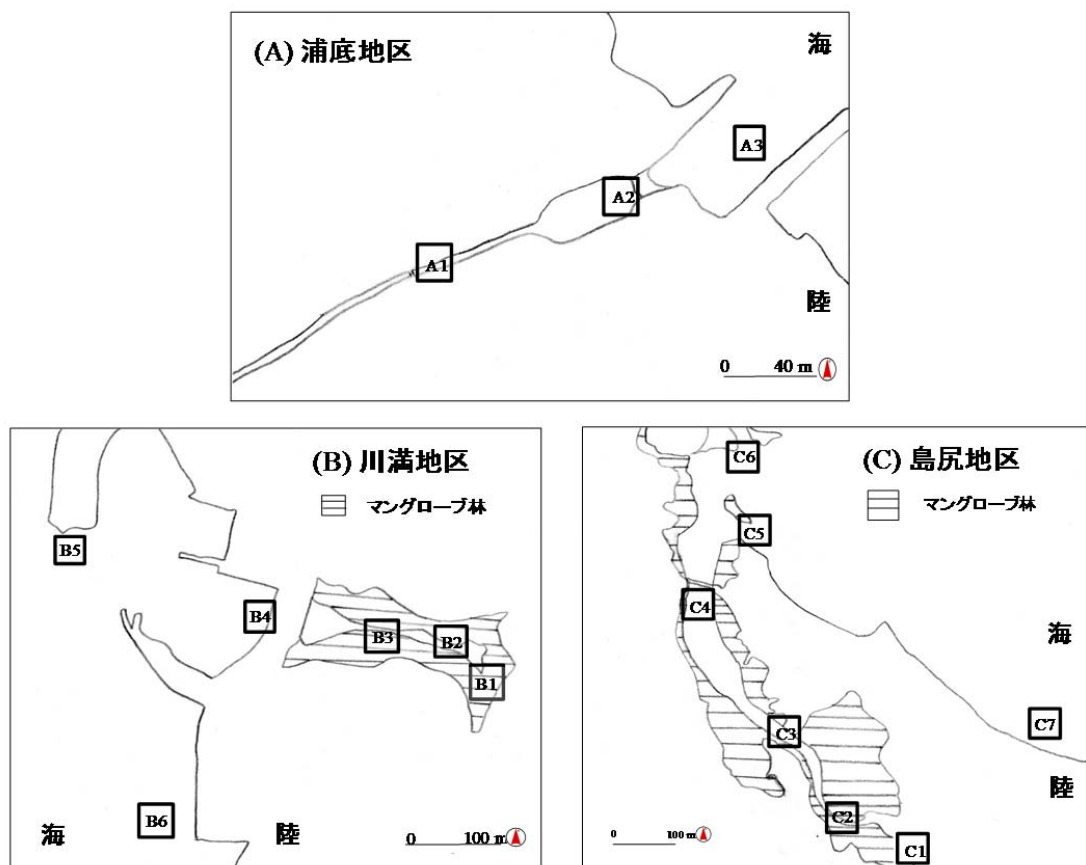


図 5-2 宮古島の非マングローブ植生域(A)及びマングローブ植生域(B, C)の表流水の採取地区

5.1.2. 供試水の採取及び水質の分析

水試料は、上述した地区(図5-2)の16地点において、2011年の8月～2012年3月まで月1回(計8回)、大潮の干潮時に表流水を100mlポリビンに採取した。

水温、pH、塩分濃度、EC、濁度及び溶存酸素は、同地点においてハルディ多項目水質チェッカー(U-10, Horiba)を用いて測定した。

タンニン含有率は第2章(5)と同様フォーリンチオカルト法(Julkunen-Tiitto, 1985)により測定した。

溶存鉄含有率は以下の方法で測定した。まず前準備として100mlのポリビンを中性洗剤コンタミノン(和光化学)で洗浄後3MHClに24時間浸漬後蒸留水で洗い流し、乾燥後pH 3.2の10Mギ酸－2.4Mギ酸アンモニウム緩衝液(Nishioka and Takeda, 2000)を0.5ml加えた。供試原水を、10mlシリンジを用いて吸引後0.2 μ mのフィルター(NY013022, 大阪ケミカル)を通過させた後に、上述した100mlポリビンに注入し供試液とした。供試液中の鉄含有率をフレイム原子吸光光度計(AA-6200, Shimadzu)により測定した。なおこれら全ての実験は地点毎に採取した3連試料を用いて行い、平均、標準誤差及び統計検定はこの値を用いて算出した。

5.2. 結果

図5-3に宮古島におけるマングローブ(B, C)及び非マングローブ植生域(A)表流水中の溶存鉄及びタンニン含有率の比較を示した。マングローブ植生域表流水中の溶存鉄含有率(0.11～0.27mgL⁻¹)とタンニン含有率(0.01～0.20mgL⁻¹)は、非マングローブ植生域のそれら(溶存鉄：0.11～0.14 mgL⁻¹, タンニン：0.03～0.06mgL⁻¹)水域よりも有意に高かった。

図5-4に各地点の表流水中の溶存鉄とタンニン含有率を示した。供試水中の溶存鉄とタンニン含有率は、全ての調査対象地区において、上流(A1, B1, C1)で低く、中流(A2, B2, 3, 4, C2, 3, 4, 5)で高くなり、下流(A3, B5, 6, C6, 7)で低くなる傾向がみられた。

表5-2に供試水中の水質と、表5-3にその単相関図を示した。供試水中の溶存鉄含有率と有意な正の相関関係にあったのは、タンニン含有率($P<0.01$)、水温($P<0.05$)、濁度($P<0.05$)であった。またタンニン含有率は濁度と有意な正の相関関係($P<0.05$)にあった。

図5-5に各調査地域における表流水中の溶存鉄含有率とタンニン含有率との関係を示した。マングローブ植生域である島尻と川満地区における両者の関係はそれぞれ $P<0.01$ と $P<0.05$ 水準で有意な正の相関関係がみられたが、非マングローブ植生域である浦底地区においては両者間に有意な関係はみられなかった。

表 5-2 宮古島のマングローブ及び非マングローブ水域表流水中の水質とタンニン及び溶存鉄含有率の評価

	水温 ℃	SE ±	塩分 ‰	SE ±	pH	SE ±	EC dSm ⁻¹	SE ±	濁度	SE ±	DO mgL ⁻¹	SE ±	溶存Fe mgL ⁻¹	SE ±	タンニン mgL ⁻¹	SE ±
A1	25.1	1.70	0.17	0.02	7.92	0.08	0.52	0.03	32.29	20.82	9.50	0.82	0.09	0.02	0.01	0.00
A2	25.8	1.67	1.03	0.48	8.09	0.11	9.94	4.71	96.38	60.42	11.10	0.85	0.14	0.02	0.06	0.03
A3	26.7	1.65	27.01	1.06	8.37	0.06	42.01	1.44	9.50	3.61	12.41	1.72	0.11	0.01	0.03	0.01
B1	25.1	0.75	3.70	0.69	7.48	0.03	7.49	1.23	11.50	3.21	8.88	0.12	0.13	0.03	0.01	0.01
B2	26.1	0.96	6.81	1.56	7.48	0.05	14.03	1.92	12.88	2.78	9.68	0.33	0.26	0.07	0.02	0.02
B3	26.0	1.02	8.15	1.18	7.54	0.06	13.63	2.00	27.25	10.09	10.31	0.26	0.26	0.05	0.14	0.07
B4	26.0	1.25	9.29	1.27	7.59	0.06	15.67	1.64	16.43	7.70	11.00	0.19	0.20	0.03	0.08	0.04
B5	26.6	1.73	26.29	0.85	8.26	0.03	41.33	1.30	12.25	4.05	12.48	0.70	0.19	0.04	0.03	0.01
B6	26.7	1.73	27.45	0.47	8.31	0.02	42.49	0.53	21.75	7.10	13.14	0.68	0.14	0.03	0.01	0.01
C1	25.7	1.64	0.35	0.03	7.71	0.06	0.93	0.06	36.13	16.10	10.65	1.44	0.13	0.02	0.07	0.03
C2	25.5	1.70	4.68	2.78	7.57	0.09	7.76	4.42	33.75	14.49	8.93	0.81	0.25	0.04	0.17	0.04
C3	26.6	1.74	13.83	2.63	7.67	0.10	19.10	2.79	103.75	40.19	10.07	0.91	0.27	0.05	0.20	0.05
C4	25.9	2.12	21.85	1.45	8.02	0.07	34.54	2.13	31.75	12.50	10.16	0.78	0.26	0.05	0.14	0.04
C5	26.7	1.98	28.19	1.22	8.16	0.05	43.30	1.70	10.50	4.01	13.57	1.39	0.21	0.03	0.11	0.04
C6	26.5	2.14	29.58	0.41	8.31	0.03	45.11	0.73	5.38	2.16	12.94	0.58	0.19	0.03	0.12	0.03
C7	26.4	1.82	29.84	0.13	8.35	0.03	45.83	0.15	4.50	1.91	12.39	0.34	0.11	0.02	0.03	0.02

[非マングローブ植生域]浦底地区(A), [マングローブ植生域] 川満地区(B), 島尻地区(C)

値は 2011 年 8 月～2012 年 3 月の期間，大潮の干潮時に月 1 回，計 8 回表流水を採取した平均値と標準誤差(SE)を示す。

表 5-3 宮古島のマングローブ及び非マングローブ植生域表流水
中水質の単相関表

単相関	Fe	タンニン	水温	塩分	pH	EC	濁度	DO
Fe	1.000							
タンニン	0.405	1.000						
水温	<u>0.186</u>	0.025	1.000					
塩分	0.047	-0.031	0.146	1.000				
pH	-0.154	-0.114	-0.110	0.662	1.000			
EC	0.007	-0.057	0.147	0.957	0.640	1.000		
濁度	<u>0.188</u>	<u>0.204</u>	0.309	-0.236	-0.166	<u>-0.181</u>	1.000	
DO	-0.033	-0.143	-0.051	0.501	0.457	0.533	<u>-0.203</u>	1.000

値は 2011 年 8 月～2012 年 3 月の期間，大潮の干潮時に月 1 回，計 8 回表流水を採取した値を用いて算出した単相関値を示す．太字及び下線付き数値は，それぞれ $P<0.01$ 及び $P<0.05$ 水準で有意な相関関係にあることを示す．

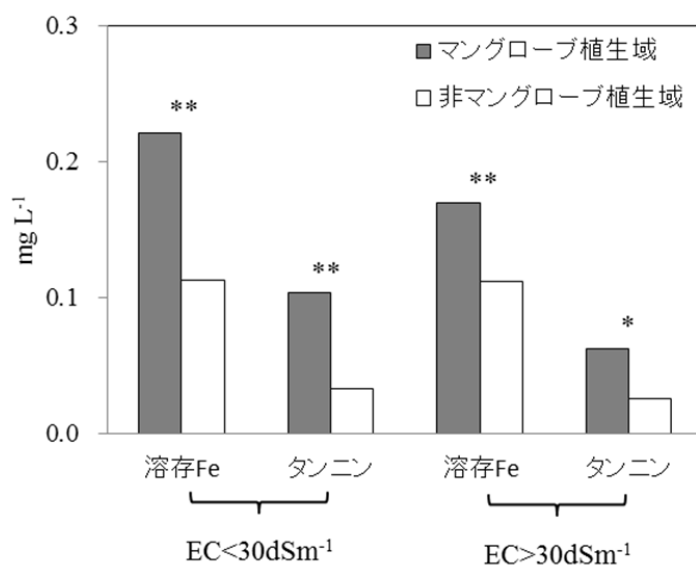


図 5-3 宮古島におけるマングローブ及び非マングローブ水域中の
溶存鉄及びタンニン含有率の比較

[非マングローブ植生域] 浦底地区(A)

[マングローブ植生域] 川満地区(B)，島尻地区(C)，

T 検定により*は $P<0.05$ ，**は $P<0.01$ 水準で有意であることを示す．

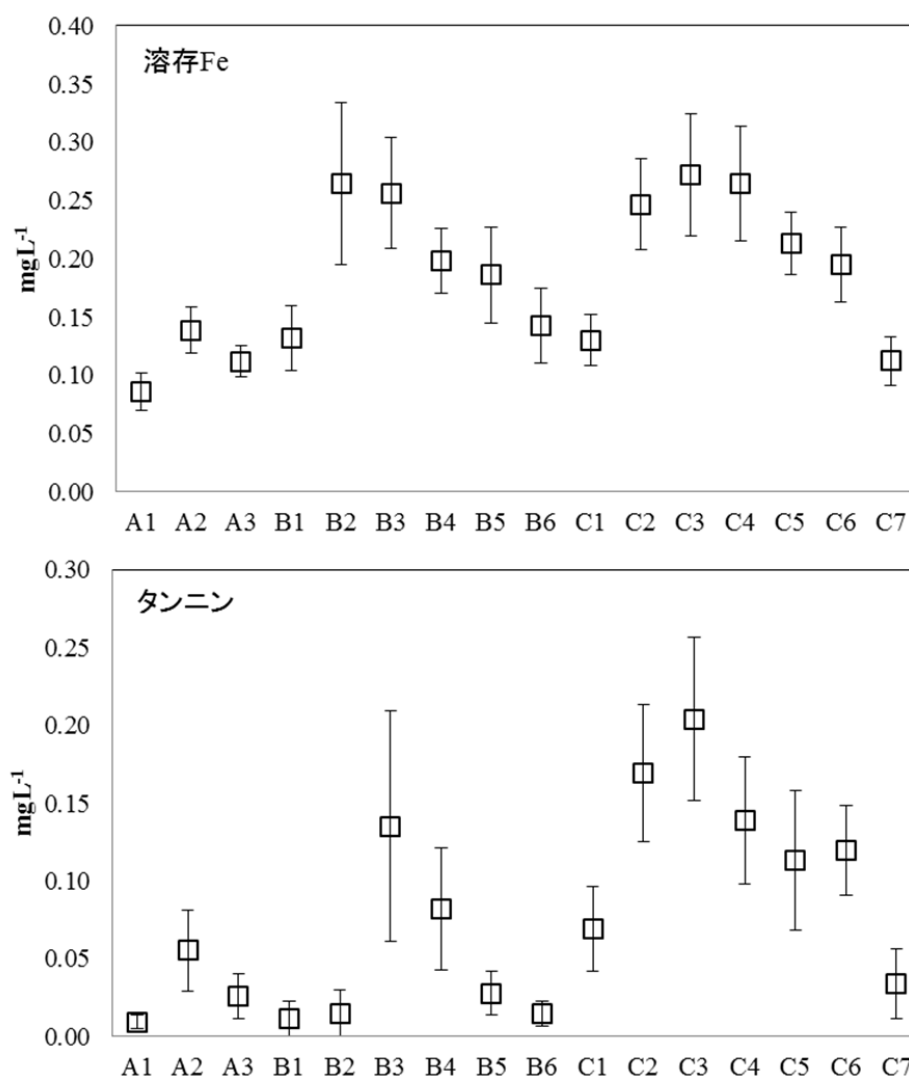


図 5-4 宮古島のマングローブ水域及び非マングローブ水域中の溶存鉄含有率とタンニン含有率

[非マングローブ植生域] 浦底地区(A)

[マングローブ植生域] 川満地区(B), 島尻地区(C)

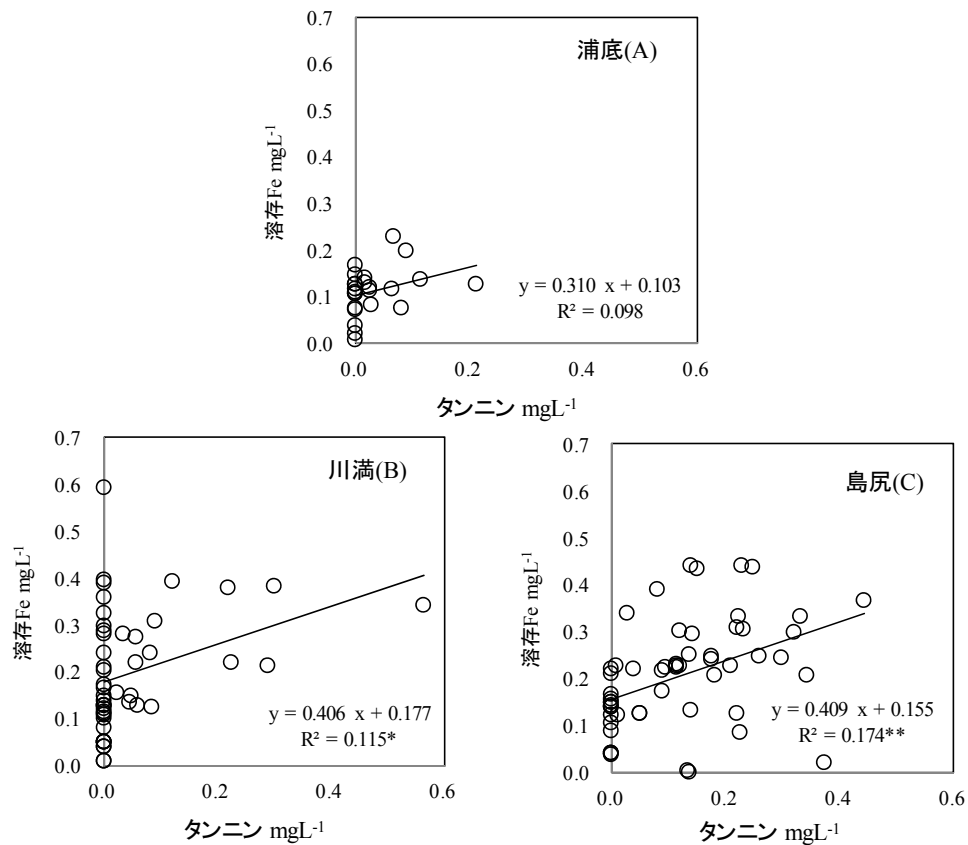


図 5-5 宮古島におけるマングローブ(島尻，川満)及び非マングローブ植生域(浦底)中の溶存鉄とタンニン含有率との関係

5.3. 考察

本章はマングローブ植生水域中の溶存鉄濃度の実態及び，水域中の溶存鉄とタンニンとの関連を検証するため，宮古島のマングローブ植生域と非マングローブ植生域(図5-1，表5-1)において，その表流水中の水質，タンニン及び溶存鉄含有率を調査し，その関係性を解析した．

その結果，マングローブ植生域表流水中の溶存鉄含有率は，非マングローブ植生域表流水中の溶存鉄含有率よりも有意に高く(図5-3)，最大で 0.27 mgL^{-1} であった．この値は，長尾(2011)によってとりまとめら

れた一般河川水の溶存鉄含有率($0.001\sim0.17\text{mgL}^{-1}$)より $10\sim10^2$ 倍高く、泥炭域河川水の溶存鉄含有率($0.11\sim2.4\text{mgL}^{-1}$)に匹敵した。

また同様にマングローブ植生域表流水中のタンニン含有率も、非マングローブ植生域表流水中のタンニン含有率より高かった(図5-3)。特にマングローブ植生域表流水において、表流水中のタンニン含有率と溶存鉄含有率との間には、有意な正の相関関係がみられた(図5-5)。このことからマングローブ植生域表流水中の溶存鉄含有率は、同植生域で生成されるタンニンによって増加している可能性がある。

マングローブ植生域表流水中のタンニン及び溶存鉄含有率は、上下流域で低く、中流域で高かった(図5-4)。そのため、マングローブ植生域表流水中の溶存鉄は、マングローブ内で生成されるタンニンによる土壌溶出も一因となり、中流域で増加し、下流へ流れるに従い、海水により希釈若しくは凝集沈殿され、減少するものと考えられる。

ただし、マングローブ植生域である川満地区の表流水中のタンニン含有率と溶存鉄含有率の関係は、有意な正の相関関係($P<0.05$)にあったが、島尻地区の表流水中の両者の関係($P<0.01$)よりも相関係数が低かった(図5-5)。この原因は、両者の森林規模の違いによるものと考えられる。島尻植生域は川満植生域よりも森林規模が大きいため、上中流域において、土壌からの溶存鉄溶出における植物生成タンニンの影響が反映されやすかったものと推察される。このようにマングローブ植生域において植物生成タンニンは、表流水中の溶存鉄含有率に大きく影響を及ぼしていると考えられる。

しかしながら、一般的に河川水質は様々な因子によって影響を受ける。表5-3をみると、調査対象地域の表流水中の溶存鉄含有率は、タンニンだけでなく濁度と水温とも有意な正の相関関係にあった。前者においては、濁水の土砂中に含まれる鉄と溶存有機物が、表流水中の溶存鉄含有率に影響を及ぼした可能性が考えられる。後者においては、水温の上昇によって生物化学反応が速まり、生成が促進された溶存有機物が、鉄溶存化に寄与している可能性も考えられる。

いずれにしても、河川水質には、流量や植物プランクトンの増減にも左右されるため、今後さらにマングローブ水域における溶存鉄とタンニンとの関係性を解析していくには、より多くのマングローブ水域

において、今回の測定項目の他に、河川水量、クロロフィル量及びDOC(溶存有機物)などのデータも加え、多角的にその要因を検討する必要があると考えられる。

5.4. まとめ

マングローブ生成タンニンによる林床土壌からの溶存鉄溶出の可能性を検証するため、マングローブ植生域における表流水中のタンニン及び溶存鉄含有率を測定し、両者の関係を調べた。調査対象地域は、マングローブ植生域として宮古島の島尻地区と川満地区とし、その対照として非マングローブ植生域の同島浦底地区とした。

得られた結果は以下の通りである。

1) マングローブ植生域の表流水中溶存鉄含有率($0.11 \sim 0.27 \text{mgL}^{-1}$)は非マングローブ水域のそれ($0.09 \sim 0.14 \text{mgL}^{-1}$)よりも有意に高かった。

2) 表流水中の溶存鉄とタンニン含有率は、全ての調査対象地区において、上流で低く、中流で高くなり、下流で低くなる傾向がみられた。

3) 表流水中の溶存鉄とタンニン含有率との関係は、マングローブ植生域である島尻地区と川満地区ではそれぞれ $P < 0.01$ と $P < 0.05$ 水準で有意な正の相関関係がみられたが、非マングローブ植生域である浦底地区では有意な関係はみられなかった。

以上のことから、マングローブの生成するタンニンが林床土壌からの鉄を溶出させ、マングローブ植生水域の溶存鉄濃度増加に寄与していることが示唆された。

これらの成果は、本章の仮説「マングローブ水域中の溶存鉄含有率及びタンニン含有率は高く、両者の間には正の関係性がある」を支持するものである。

第 6 章 タンニンが植物プランクトンの鉄吸収に及ぼす影響

前章までの結果によって、宮古島の島尻林帯において落葉由来タンニンの 68.9%はカニを介して巣穴に運ばれ、その葉もしくは糞中タンニンと土壌との反応により、溶存鉄溶出が促進される可能性があることが示された。さらに、実際同林帯の表流水中の溶存鉄含有率は高く、表流水中のタンニン含有率とも正の相関関係があることが明らかとなった。

これらの結果により、マングローブ植生域の表流水中では、タンニンによって土壌溶出が促進された溶存鉄が豊富に存在していることが示唆された。このようなタンニン由来溶存鉄を水域の植物プランクトンが吸収利用していることが明らかにされれば、マングローブ生態系における陸と海を繋ぐ関係性として非常に重要になる。

これまで、沿岸域の溶存有機物起源として、河川等から流入される森林土壌腐植由来のフルボ酸が着目されており (Matsunaga et al., 1982), このフルボ酸と鉄との錯化合物が河口域の植物プランクトンの増殖に好影響を与えていることが報告されている (Perdue et al., 1976; Matsunaga et al., 1982, 1991, 1998, 1999; Kuma et al., 1999). そのため、フルボ酸と錯体結合し、溶存化した鉄が植物プランクトンに利用されやすいということは既に確認されている。

しかしながら、タンニンと錯体を形成した鉄が植物プランクトンの増殖に及ぼす影響についての報告はない。そこで、本研究では、本章では以下の仮説を立て研究を進めた。

「タンニンと結合した鉄は海水条件においても溶存率が高く、植物プランクトンに吸収利用可能である」

本章では上記仮説を検証するため、具体的に以下のような手法で研究を進めた。すなわち、宮古島の島尻林帯河口域に生息する珪藻の *Cylindrotheca closterium* を培養し、試薬タンニン酸と FeCl_3 を添加した際の cell 数の挙動を調査すると共に、海水中におけるタンニン錯体鉄の溶存率を *in vitro* において検証した。

6.1. 材料と方法

6.1.1. タンニン錯体鉄添加による植物プランクトンの培養試験

6.1.1.1. 供試プランクトンの選定

供試植物プランクトンの選定において，事前に以下のような調査を行った．すなわち，前章において対象とした，宮古島のマングローブ植生域と非マングローブ植生域における表流水 16 地点から，試水 2L を 2011 年 8 月に 2L ポリビンに採取し，ホルマリンを 2% 加えた．この試水中の植物プランクトン全種の同定を日本海洋生物研究所に委託した(付図表 1)．

この同定結果を基に供試植物プランクトンとして珪藻の *Cylindrotheca closterium* を選定した．選定理由は，まず珪藻類が調査対象全水域において優占していること(図 6-1)と，同種はマングローブ植生域に多く見られたが，非マングローブ植生域では少なかったことによる．

C. closterium は不等毛植物門 珪藻綱・羽状目・バチラリア科に属し，細胞の長さ 32~150 μm ，幅 2~6 μm である．群体を作ることなくほそくのびた紡錘形の単独性である．細胞の中央部は紡錘形で，両端は棒状で一步に曲がる．竜骨点はきわめて小さく，切頂線紋は薄微で観察しがたい．*Nitzschia* 属のように縦溝が蓋殻面より隆起した位置になく，同じ高さにある．沿岸および内湾性，汽水域にまで世界的に分布し，日本各地でもみられる，付着性藻類である(山路，1984)．

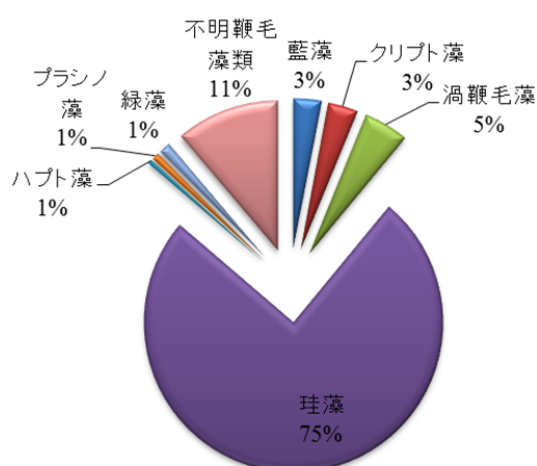


図 6-1 宮古島のマングローブ植生域に生育する植物プランクトン種(網別)の組成(付図表参考)と *Cylindrotheca closterium*(写真)

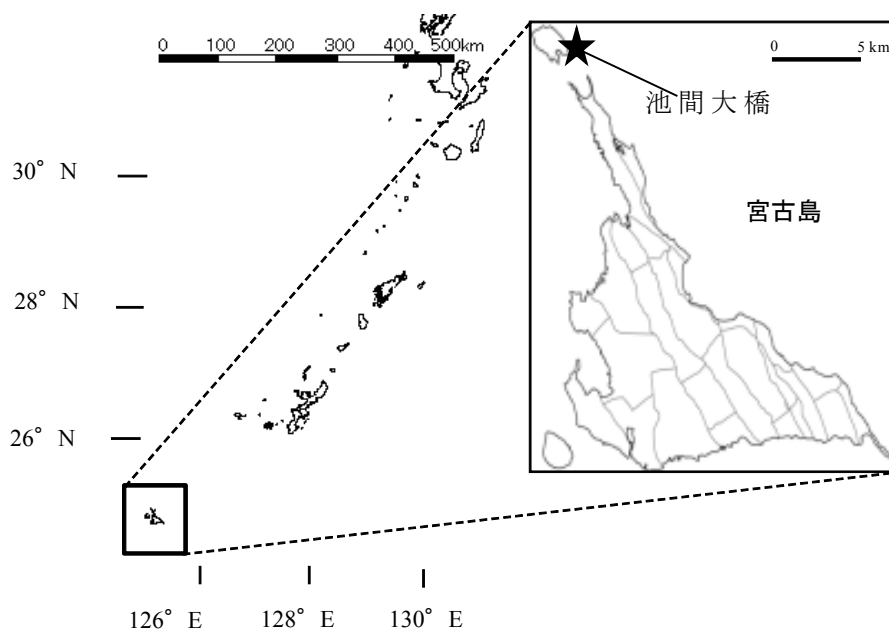


図 6-2 海水採取地点

6.1.1.2. 供試培養液の作成方法

供試海水は 2012 年 6 月 24 日に、沖縄県宮古島市池間大橋袂(図 6-2)において採取した。当地点は海流の流れが強く、陸域由来栄養塩の影響が小さい地点であるため、供試海水の採取地点として選定した。海水は 20L ポリタンクに採取し東京農業大学農業環境科学研究室へ輸送後冷蔵庫(2℃)に保管した。採取した海水は孔径 0.2 μ m のメンブレンフィルターと吸引濾過器を用いてろ過し、海水中の浮遊物質や微生物を除去後、供試した。

この供試海水中に含まれる鉄を除去するため、キレックス 100 カラム(バイオラッド社)を用い、海水中の重金属を除去した。その操作の概略を以下に記す(図 6-3)。すなわち、キレックス 100 カラムを供試海水 1000ml に対して 50g 加え、スターラーを用いて 1 時間攪拌後、孔径 0.2 μ m のメンブレンフィルターを用いて吸引濾過した。なおキレックス 100 カラムは、使用後 1N HCl と 1N NaOH により洗浄し、繰り返し使用した。

植物プランクトンの培養に必要な栄養塩として、海産藻類用標準培

養液である f/2 培養液を用いた(表 6-1). なお本試験で使用する鉄除去培養液には $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ と $\text{NaEDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を除いた改変 f/2 培養液を用いた. なお供試した全ての試薬は特級(和光化学及び関東化学)を用いた.

表 6-1 供試培養液の成分

f/2培地組成表

試薬	分量
NaNO_3	75mg
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6mg
VitaminB ₁₂	0.5 μg
Biotin	0.5 μg
ThiamineHCl	100 μg
$\text{Na}_2\text{SiO}_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	10mg
f/2metals*	1mg
Seawater	999mg

*f/2metals組成表

試薬	分量
Na_2EDTA	4.4g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3.16g
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	12mg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	21mg
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	180mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	7mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7mg
Distiled water	1L

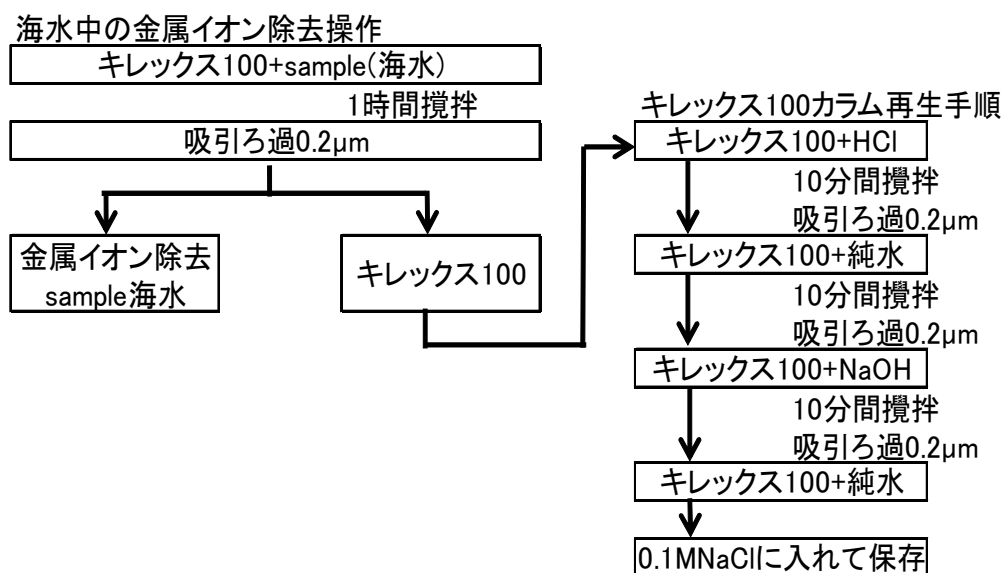


図 6-3 キレックス 100 カラムによる海水中の重金属除去操作手順

6.1.1.3. *C. closterium* の培養方法

全ての培養試験は，フタ付きバイアルビン 15mL に，培養液を 10mL 加え，インキュベーター内で行った．インキュベーターは，常時 25℃，明暗周期 12h：12h(明照度約 2000lux～3000lux)とし静地培養した．培養液と供試プランクトンをバイアルビンへ分注する際はクリーンベンチ内で行うことにより，外部からバイアルビンの中への鉄侵入を防いだ．また，植物プランクトン計数時にバイアルビンのフタを開けると，外部からの鉄侵入が考えられるため，計数毎に試料を処分した．

購入直後の供試プランクトンは，生育に十分な濃度の鉄条件培養液で培養させていたと考えられるため，本試験に用いる前に，鉄濃度の薄い培養液(2μM FeCl₃)中で馴化させつつ，植え継いだ(武田ら，1994)．

6.1.1.4. *C. closterium* の cell 数計測方法

供試プランクトンの増減評価は全て光学顕微鏡(CH-A(B)-LB, OLYMPUS)と罫線スライドを用いて cell を計数した．供試プランクトンの増殖量を評価するため，各バイアルビンに供試プランクトンを分注する前に，元のバイアルビン中の供試プランクトンの cell 数を計測し，分注時の cell 数を確認した．

6.1.1.5. 鉄除去培養液の信頼性評価

本研究で作製した鉄除去培養液から，鉄が正確に除去されている事を確かめるため，*C. closterium* を培養することにより検証した．試験区は，対照区と処理区の 2 区を設けた．対照区は鉄除去培養液のみ，処理区は鉄除去培養液に 10μM FeCl₃ + Na₂EDTA を添加し，*C. closterium* を上記操作と条件により培養した．それぞれ 2 連ずつ 10 日間培養を行い，培養 2，4，6，8，10 日目の cell 数を計数した．なお添加する宮古島の島尻林帯水域中の溶存鉄濃度を基にした．

6.1.1.6. 培養液へのオートクレーブ処理が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

予備試験の中で，鉄除去培養液に FeCl₃ のみを添加した後に，オートクレーブ処理(121℃，15 分)をした区としなかった区の上に *C.*

Closterium の cell 数に違いが見られたので、併せてこれも確認することとした。試験区は、対照区と処理区の 2 区を設けた。各試験区は鉄除去培養液を用い $10\mu\text{M FeCl}_3$ を添加後、対照区はオートクレーブ未処理、処理区はオートクレーブ処理をし、植物プランクトンを分注した。それぞれ 2 連ずつ 15 日間培養を行い、培養 5, 10, 15 日目の cell 数を計測した。なおこれらの原因やメカニズムは明らかになっていないため、以降植物プランクトン培養試験は全てオートクレーブを使用しなかった。なお、それによって無菌株ではなくなるが、実験期間中、顕微鏡観察において一般細菌の増殖は確認されなかった。

6.1.1.7. 鉄除去培養液へのタンニン錯体鉄の添加が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

試験区は対照区と処理区の 2 区を設けた。対照区は $10\mu\text{M FeCl}_3$ 、処理区は $10\mu\text{M FeCl}_3 + 2.5\mu\text{M}$ タンニン酸溶液を添加し、それぞれ 3 連ずつ 15 日間 *C. closterium* を培養し、培養 5, 10, 15 日目の cell 数を計測した。 FeCl_3 とタンニン酸の錯体形成比はモル比 4:1 (FeCl_3 :タンニン酸)を参考にした(Sungur and Uzar, 2008)。なお、 FeCl_3 水溶液とタンニン水溶液は予め 300 倍濃縮溶液を作成しておき、これらから FeCl_3 、タンニン酸の順で 0.01ml ずつ 10ml バイアルビンへ入れた。培養液の準備が全て整ってからプランクトンを分注し、5 日毎に cell 数を計数した。

6.1.1.8. 培養液中のタンニン濃度が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

試験区は添加するタンニン酸溶液濃度の違い(4, 40, $400\mu\text{M}$)により 3 区設けた。全ての試験区は鉄除去培養液に $10\mu\text{M FeCl}_3$ と各濃度のタンニン酸溶液を添加し、それぞれ 3 連ずつ 9 日間 *C. closterium* の培養を行い培養 5 日目と 9 日目の cell 数を計測した。

6.1.1.9. 培養液中の塩分濃度が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

試験区は培養液中の塩分濃度の違い(35‰(=100%), 26‰(=75%), 18‰(=50%), 9‰(=25%), 0‰(=0‰))により 5 区設けた。供試海水を純水により希釈して塩分濃度を調整した。全ての試験区に $10\mu\text{M FeCl}_3 + 2.5\mu\text{M}$ タンニン酸溶液を添加して、3 連ずつ 15 日間 *C. closterium* の培

養試験を行い，培養 5，10，15 日目の cell 数を計測した．

6.1.2. タンニン錯体鉄の溶存率に関する基礎化学実験

6.1.2.1. 供試溶液

鉄除去培養液， FeCl_3 溶液，タンニン酸溶液及び海水は前章で供試したものをを用いた．海水中の塩分濃度も前章と同様，純水を用いて 5 段階(35%，26%，18%，9%，0‰)に希釈した．

6.1.2.2. 限界濾過法によるコロイドの除去

タンニン酸や FeCl_3 を海水に添加した際に生じるコロイドが分析に支障をきたすため，限外濾過膜器具(ULTRACENT-10，東ソー)を用いて溶液を遠心分離機で，適当時間遠心し，コロイドを除去した．

6.1.2.3. 固相充填カラムノビアスを用いた主要塩基類の除去

海水中の微量元素の分析を ICP で行う場合，目的元素(Fe)が Na, Mg, K 及び Ca などの主成分元素から化学干渉やスペクトル干渉などを受けることがある．また，目的元素(Fe)が極低濃度の場合，装置の感度が不足し，信頼性の高い分析が行えないことがある(坂本ら, 2006)．そこで，キレート樹皮固相抽出剤ノビアスを(NOBIAS CHELATE-PA1，日立ハイテクノロジーズ)前処理に用いて，海水中の微量元素を濃縮，アルカリ及びアルカリ土類金属と分離し，より精度よく分析した．操作手順を図 6-4 に示す．

キレート樹皮固相抽出剤にアセトン 5ml を流して 5 分間放置し樹脂を膨潤させた後，純粋 10ml, 3M 硝酸 10ml を流し樹脂の洗浄を行った．その後純水 10ml で樹脂を洗浄し，0.1M 酢酸アンモニウム溶液 5ml を流してコンディショニングを行った．次に，試料 100ml に酢酸アンモニウムを 0.1M になるように加えた後，硝酸またはアンモニア水で pH 5.6 になるように調整した．固相抽出剤に調整した試料溶液を通水(通水速度 10ml/分以下)した後，超純水 10ml を固相に流して樹脂に残った試料を洗い流した．固相抽出剤に 3M 硝酸 3ml を流し，固相抽出剤に捕捉された金属を溶離させた．この溶液を 25ml に定容し，測定試料とした(4 倍濃縮)．

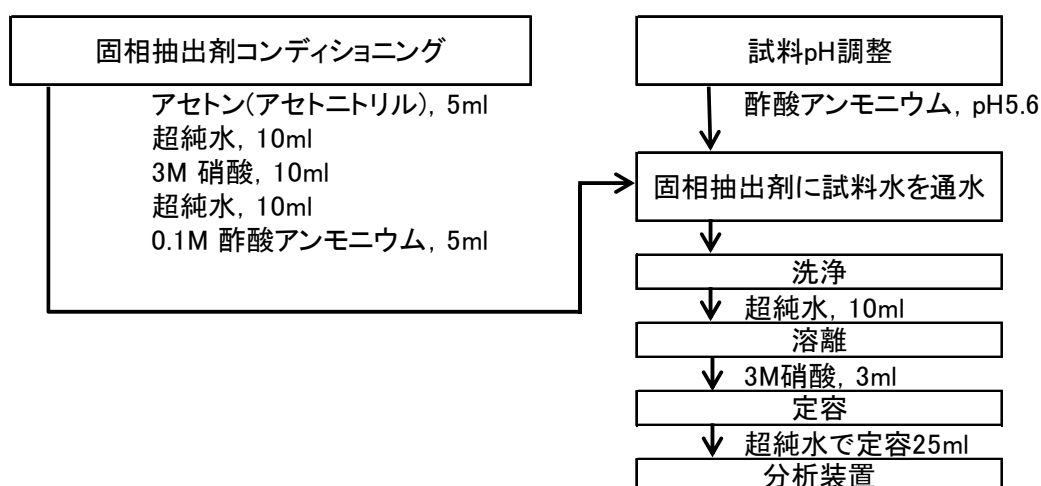


図 6-4 ノビアス(NOBIAS)Chelate シリンジ型を用いた海水中の微量元素濃縮操作手順

6.1.2.4. 塩分濃度の違いがタンニン酸溶液の溶存率に及ぼす影響

タンニン溶液中の塩分濃度が高くなると，溶液中のタンニンは塩基類と結合し，凝集沈殿する量が多くなり，溶存率が低下することが予想される．そこで本試験では，純水で希釈した供試海水(35‰，26‰，18‰，9‰，0‰)に，タンニン酸を一律 20ppm 添加し，この溶液中のタンニン含有率をフォーリンチオカルト法により測定した．タンニン添加後に生成されたコロイドは測定の妨げになるため孔径 0.2 μ m のシリンジフィルターを用いて除去した．このろ液にフォーリンチオカルト試薬を 1ml 加え，3 分間放置後，10%炭酸ナトリウム水溶液 1ml を加え，1 時間室温放置後波長 700nm における吸光度を，分光光度計を用いて測定した．標準試薬にはタンニン酸試薬を供試した．

6.1.2.5. 塩分濃度の違いが鉄の溶存率に及ぼす影響

FeCl_3 溶液の塩分濃度が高くなると，溶液中の Fe^{3+} は凝集沈殿する量が多くなり，溶存率が低下することが予想される．そこで本試験では純水で希釈した鉄除去培養液(35‰，26‰，18‰，9‰，0‰)に，1.78mM FeCl_3 を添加し，その溶液中の鉄含有率を ICP 発光分光光度計により測定した．コロイドの除去方法は限界濾過法，塩基類の除去及び鉄の濃縮はノビアスカラムを用いた．以下その操作方法の概略を述べる．す

なわち FeCl_3 を添加した各塩分濃度の溶液 100ml から 1ml 採取し，限界濾過し，その濾液を 100ml にメスアップ後，ノビアスカラムに通し，20ml に濃縮後，ICP により溶液中の鉄含有率を測定した．鉄標準液は ICP 用標準液を純水で希釈した溶液を使用した．

6.1.2.6. 塩分濃度の違いがタンニン錯体鉄の溶存率に及ぼす影響

タンニン錯体鉄は塩分濃度の高い溶液中においても溶存率が高いことが予想される．またその溶存率はタンニンの濃度によっても異なる可能性もある．そこで本試験では，純水で希釈した鉄除去培養液(35%，26%，18%，9%，0%)に，タンニン錯体鉄高濃度区(モル比 4 : 1， FeCl_3 : 3.78mM，タンニン酸 : 0.88mM)と低濃度区(FeCl_3 : 10 μM ，タンニン酸 : 2.5 μM)を同量ずつ混合し，その溶液中の鉄含有率を，(2)と同様の方法により測定した．

6.2. 結果

6.2.1. タンニンの添加が植物プランクトンの鉄吸収に及ぼす影響

6.2.1.1. 鉄除去培養液の信頼性評価

図 6-5 に鉄除去培養液への 10 μM FeCl_3 と EDTA の添加が *C. closterium* の cell 数に及ぼす影響を示した．対照区の *C. closterium* の cell 数は培養 10 日目においても増加傾向が見られなかった．処理区の *C. closterium* の cell 数は培養 6 日目以降が増加し，培養 10 日目の処理区の cell 数は対照区のそれに比べ 9.6 倍多かった．

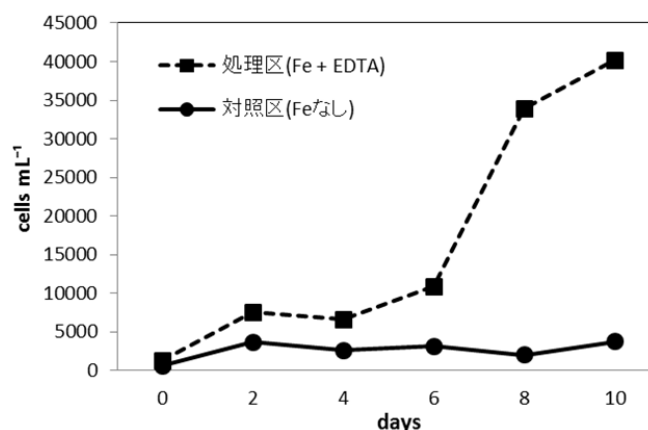


図 7-5 鉄除去培養液への 10 μM FeCl_3 と EDTA の添加が *C. closterium* の cell 数に及ぼす影響

6.2.1.2. 培養液へのオートクレーブ処理が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

図 6-6 に培養液へのオートクレーブ処理が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響を示した．対照区の *C. closterium* の cell 数は，15 日の培養期間を通して増加しなかったが，処理区のそれは，培養日数と共に増加した．培養 15 日目の処理区の *C. closterium* の cell 数は，対照区のそれに比べ，52.6 倍高かった．また，図 6-7 に，オートクレーブ処理による FeCl_3 溶液の色の変化を示した．写真のように，未処理溶液に比べ，オートクレーブ処理をした FeCl_3 溶液の褐色は濃くなった．

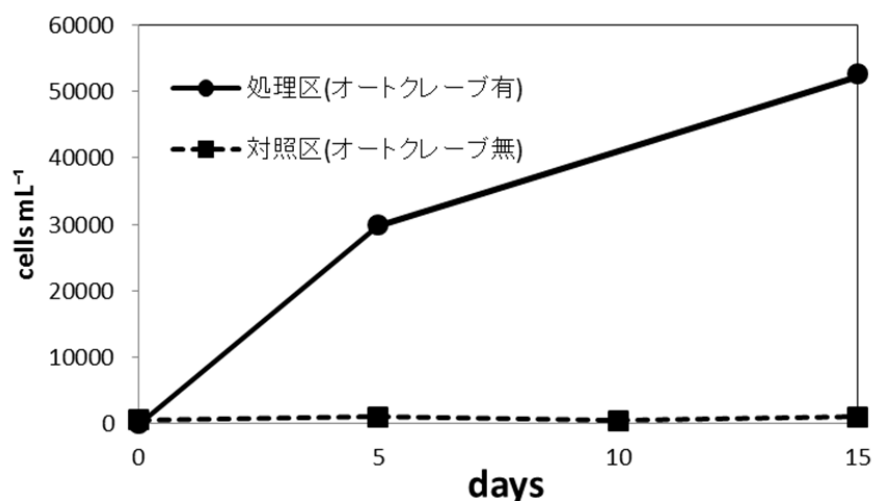


図 6-6 培養液へのオートクレーブ処理が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響



図 6-7 オートクレーブ処理による FeCl_3 溶液の色の変化
左：オートクレーブ無，右：オートクレーブ有

6.2.1.3. 鉄除去培養液へのタンニン錯体鉄の添加が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

図 6-8 に鉄除去培養液へのタンニン錯体鉄の添加が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響を示した．対照区の *C. closterium* の cell 数は，15 日の培養期間を通して増加しなかったが，処理区のそれは，培養日数と共に増加した．培養 15 日目には処理区の *C. closterium* の cell 数は 2.9×10^4 となり，対照区の cell 数 1.0×10^3 の 29.5 倍となった．

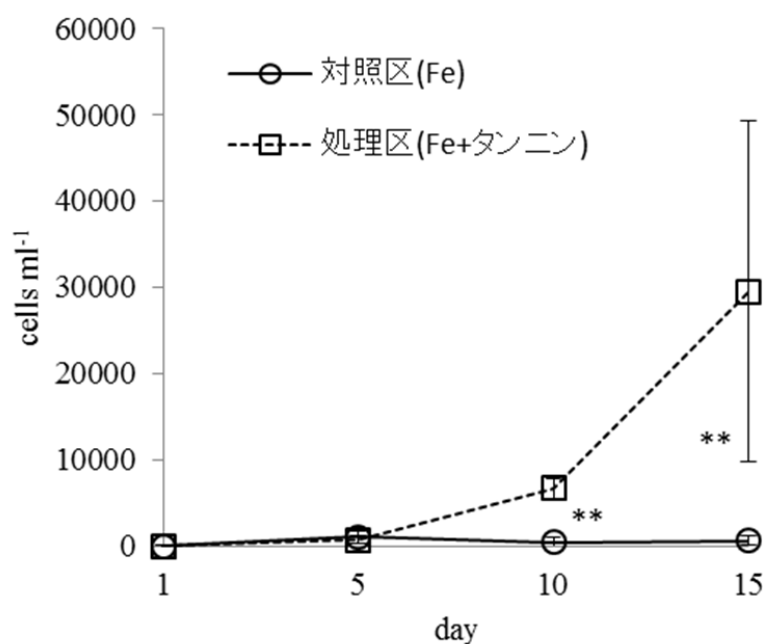


図 6-8 鉄除去培養液へのタンニン錯体 Fe の添加が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

対照区：10 μ M FeCl₃+Fe 除去培養液

処理区：10 μ M FeCl₃+Fe 除去培養液+2.5 μ M タンニン酸

**は T 検定により 2 区間の差が有意 ($P < 0.01$)であることを示す．

6.2.1.4. 培養液中のタンニン濃度が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

図 6-9 に培養液中のタンニン濃度が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響を示した。4 μ M タンニン酸水溶液添加で培養した際、培養 9 日目の *C. closterium* の cell 数は、分注時に比べ 47.8 倍増加したが、40 μ M, 400 μ M タンニン酸水溶液を添加した培養液中の cell 数は培養期間を通して増加しなかった。

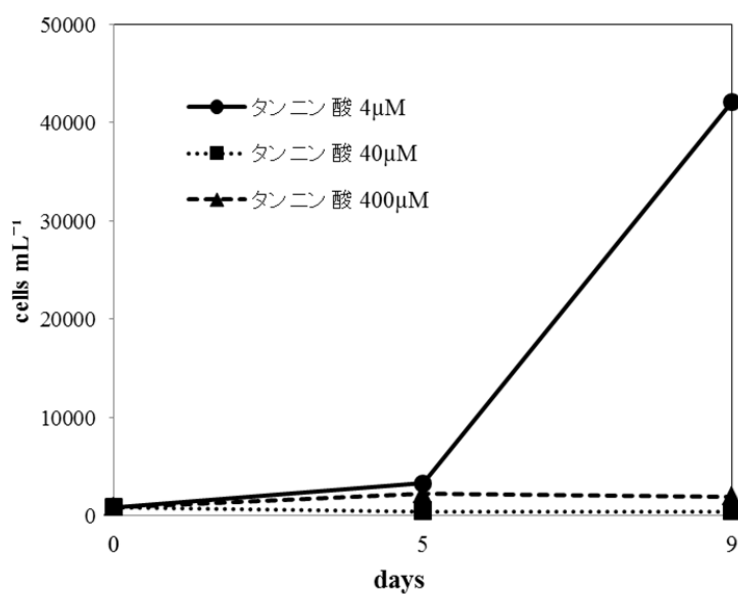


図 6-9 培養液中のタンニン濃度が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響
全ての試験区は 10 μ M FeCl₃ + Fe 除去培養液の条件で培養した。

6.2.1.5. 培養液中の塩分濃度が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響

図 6-10 に培養液中の塩分濃度が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響を示した．塩分濃度 35‰試験区の *C. closterium* の cell 数は，培養 5 日目から 10 日目にかけて，他の塩分濃度よりも増殖傾向が見え始め，培養 15 日目の cell 数は最も増殖しなかった塩分濃度 0‰区の cell 数より 295.5 倍多かった．また，塩分濃度 0‰，9‰，18‰区の *C. closterium* の cell 数は，培養期間を通してほとんど増加しなかったが，塩分濃度 26‰区の cell 数は少量ではあるが，分注時に比べ 3.2 倍増殖した．

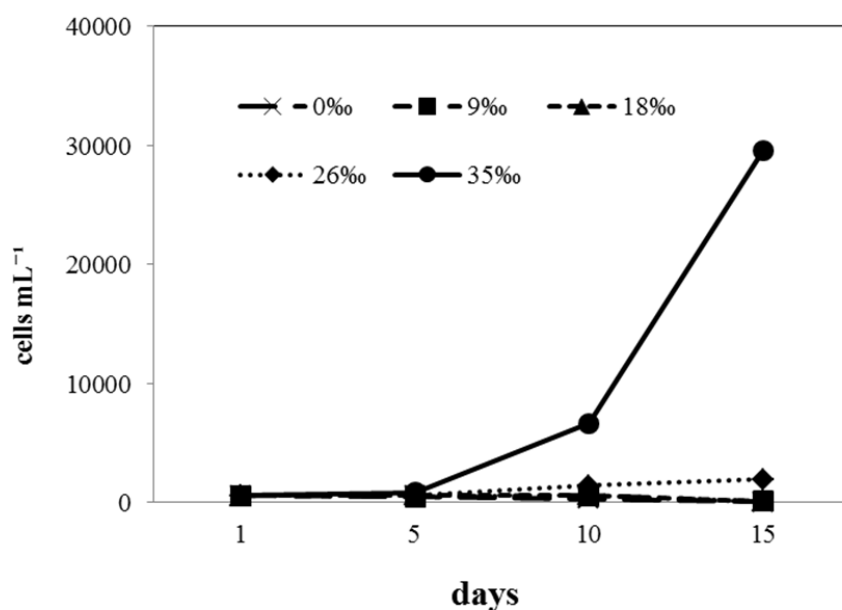


図 6-10 培養液中の塩分濃度が *C. closterium* の増殖に及ぼす影響
全ての培養液は $10\mu\text{MFeCl}_3 + 2.5\mu\text{M}$ タンニン酸+Fe 除去培養液の条件で培養した．

6.2.2. タンニン錯体鉄の溶存率に関する基礎化学実験

6.2.2.1. 塩分濃度の違いがタンニン酸及び鉄の溶存率に及ぼす影響

図 6-11 に塩分濃度の違いによるタンニンと鉄の溶存率の変化を示した。溶液中の塩分濃度が上がるにつれタンニンと鉄の溶存率は低下した。タンニン酸溶液は特に塩分濃度 5‰～15‰の間で著しく溶存率が下り、一方鉄の溶存率は塩分濃度 0‰においても 0.1%と低かった。

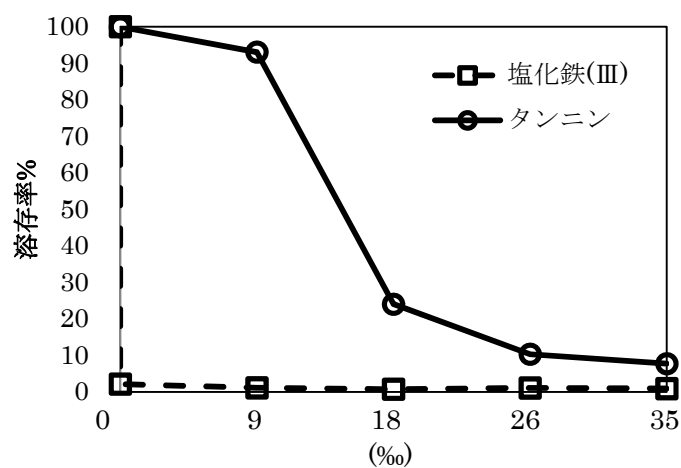


図 6-11 塩分濃度の違いによる鉄溶存率とタンニン溶存率との比較

6.2.2.2. 塩分濃度の違いがタンニン錯体鉄の溶存率に及ぼす影響

図 6-12 に $\text{FeCl}_3 2.5 \mu\text{M}$ を含む培養液(塩分濃度 35‰)にタンニン酸を添加した際の鉄溶存率を示した。タンニンを添加した処理区の鉄溶存率は 64.8%であり，対照区のそれは 36.8%であった。

図 6-13 に塩分濃度の違いによるタンニン錯体鉄高濃度区と低濃度区の鉄溶存率の比較を示した。低濃度区の鉄溶存率は高濃度区のそれに比べワンオーダー高かった。低濃度区の鉄溶存率は塩分濃度の増加に伴い増加し，塩分濃度 35‰の時の同溶存率は 64.8%だった。一方高濃度区の鉄溶存率は塩分濃度の低下に伴い増加し，塩分濃度 35‰の時の同溶存率は 0.62%であった。

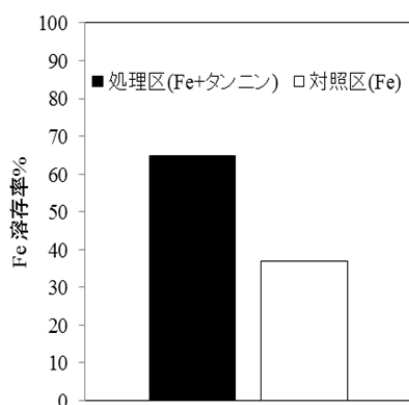


図 6-12 タンニン酸の添加が海水中の鉄溶存率に及ぼす影響

対照区：塩分濃度 35‰の Fe 除去培養液 + $\text{FeCl}_3 (10 \mu\text{M})$ + タンニン酸 ($2.5 \mu\text{M}$)
 処理区：塩分濃度 35‰の Fe 除去培養液 + $\text{FeCl}_3 (10 \mu\text{M})$

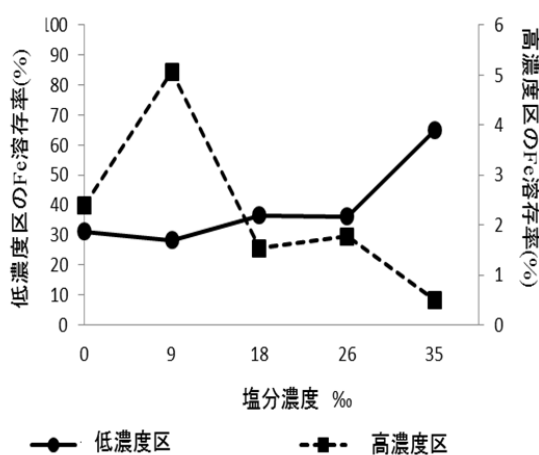


図 6-13 異なる塩分濃度におけるタンニン錯体鉄高濃度区と低濃度区の鉄溶存率の比較

高濃度区：タンニン (0.44mM) + $\text{FeCl}_3 (1.78 \text{mM})$
 低濃度区：タンニン酸 ($2.5 \mu\text{M}$) + $\text{FeCl}_3 (10 \mu\text{M})$

6.3. 考察

本章では、熱帯・亜熱帯の沿岸に生育するマングローブの陸域と海域を結ぶ化学的根拠として、マングローブ樹種葉に豊富に含まれるタンニンと土壤中の鉄の錯化合物が植物プランクトンの鉄吸収を促進させるとの説を検証するため、宮古島の島尻林帯河口域に生息する珪藻の *Cylindrotheca closterium* を培養し、試薬タンニン酸と FeCl_3 を添加した際の cell 数の挙動を調査すると共に、海水中におけるタンニン錯体鉄の溶存率を測定した。

その結果、鉄除去培養液にタンニン酸と FeCl_3 を添加して *C. closterium* 培養すると、培養 15 日目には処理区(FeCl_3 +タンニン)における同 cell 数は、対照区(FeCl_3)の 29.5 倍多く(図 6-8)、タンニンにより *C. closterium* の鉄吸収が促進されることが示された。この結果は、マングローブ落葉中タンニンと林床土壤中の鉄との反応により土壤溶出した鉄が、植物プランクトンへの鉄供給源として重要である、との説を大きく支持すると考えられる。

この現象の化学的要因としてタンニンと鉄が溶存態の錯体を形成し(Sungur and Uzar, 2008)、海水中においても、鉄が溶存化したというメカニズムが予想される。そこで、 FeCl を含む培養液(塩分濃度 35%)にタンニン酸を添加した際の鉄溶存率を検証した。その結果、塩分濃度 35%の海水中において、 FeCl_3 とタンニンを添加した処理区の鉄溶存率(64.8%)は、タンニン無添加の対照区(36.8%)よりも 1.76 倍高く、すなわち海水中にタンニンを添加することにより鉄の溶存率が向上することが示された(図 6-12)。

図 6-12 に示したような海水中におけるタンニンと鉄の溶存率の違いは、海水という多量の電解質を含んだ溶液中における、タンニンと鉄の凝集沈殿特性の違いに起因すると考えられる。すなわち、疎水性コロイドである Fe^{3+} は少量の電解質(本研究の場合、低塩分濃度)においても凝集沈殿する現象、すなわち凝析が起きる。一方、親水性コロイドであるタンニンは少量の電解質では凝集せず、多量の電解質(高塩分濃度)において凝集沈殿する現象、すなわち塩析が起きる。

このような電解質を含む溶液の中におけるコロイドの働きにおいて、保護コロイドという作用がある。すなわち、疎水コロイドに一定量の

親水コロイドを加えると凝集しにくくなるという作用である．この働きが，図 6-12 に示したように，塩分濃度 35‰の海水においても，タンニンを添加することにより鉄の溶存率が向上する要因として挙げられ，その保護コロイドはすなわちタンニンと鉄との錯体結合作用であると考えられる．

このように，化学的な反応において，溶液中の塩分濃度の違いは鉄の溶存率に大きく影響することが予想され，実際マングローブ水域は汽水環境にあるため，その影響は無視できないと考えられる．そこで塩分濃度を変えて，*C. closterium* を培養したときの cell 数の変化(図 6-10)と，塩分濃度の違いによるタンニン錯体鉄の溶存率(図 6-13)を検証した．その結果，塩分濃度が減少するにつれて *C. closterium* の cell 数及び鉄の溶存率は減少した．

一般的に，塩分濃度が高くなると，タンニンや鉄は海水中の塩基類と結合し，凝集沈殿しやすくなるため，*C. closterium* が吸収利用しにくくなることが予想されるが，図 6-13 の結果はこのメカニズムに反し，*C. closterium* の cell 数の増減と一致した．

この要因としては化学的なメカニズムだけでなく生物的な要因も考えられる．すなわち本研究で供試した *C. closterium* は，海水・淡水共に生育可能であるが，実験期間中は常に海水で植え継ぎ，何世代も海水で培養していたため，塩分濃度の変化に対応できなかった可能性が考えられる．いずれにしても塩分濃度とタンニン錯体鉄の関係に関しては，不明な点が多く，さらに検証する必要がある．

他方で，タンニンは生物にとって忌避作用があることが知られることから(Kraus, 2003)，タンニン酸溶液濃度を変えた培養液中での *C. closterium* の cell 数の増減を検討した．その結果，タンニン濃度が 4 μ M を超えると *C. closterium* の cell 数の増加率は減少し，40 μ M 以上になるとほとんど増加しないことが示された(図 6-9)．

この結果からもタンニンの持つ生物抑制作用によって *C. closterium* の増殖が抑制されたようにも見えるが，タンニン溶液の濃度が上がるにつれて海水中での化学反応が変化する可能性も考えられる．図 6-13 に示した塩分濃度の違いによるタンニン錯体鉄高濃度区と低濃度区の鉄溶存率の比較をみると，タンニン酸と鉄の濃度を高めると，海水中

における鉄の溶存率は著しく低下することが示されている．このように，タンニン錯体鉄の濃度を上げると，*C. closterium* の cell 数は増加しないことが示されたが，そのメカニズムは生物的な害作用と化学的な抑制作用の両方が考えられた．

6.4. まとめ

本章では，マングローブ生態系におけるタンニンの役割を解明する端緒として，宮古島の島尻林帯河口域に生息する珪藻の *Cylindrotheca closterium* を培養し，試薬タンニン酸と FeCl_3 を添加した際の cell 数の挙動を調査すると共に，海水中におけるタンニン錯体鉄の溶存率を測定した．得られた結果は以下の通りである．

1)鉄除去培養液にタンニン酸と FeCl_3 を加えて *C. closterium* を 15 日間培養すると，処理区(FeCl_3 +タンニン)の cell 数は，対照区(FeCl_3)の 29.5 倍多かった．

2)塩分濃度を変えた鉄除去培養液(35‰，26‰，18‰，9‰，0‰)にタンニン酸と FeCl_3 を加えて *C. closterium* を 15 日間培養すると，塩分濃度 18‰以下の試験区では cell 数が増加せず，同 35‰区の cell 数は同 0‰区の cell 数より 295.5 倍多かった．

3)鉄除去培養液に FeCl_3 と濃度別タンニン酸(4，40，400 μM)を加えて *C. closterium* を 9 日間培養すると，4 μM 区の cell 数は，分注時に比べ 47.8 倍増加したが，40 μM ，400 μM タンニン酸水溶液を添加した培養液中の cell 数は培養期間を通して増加しなかった．

4)塩分濃度 35‰の海水中において，タンニンを添加した処理区の鉄溶存率(64.8%)は，タンニン無添加の対照区(36.8%)よりも 1.76 倍高かった．

5)溶液中の塩分濃度が上がるにつれタンニンと鉄の溶存率は低下した．タンニン酸溶液は特に塩分濃度 5‰～15‰の間で著しく溶存率が下り，一方鉄の溶存率は塩分濃度 0‰においても 0.1%と低かった．

6)異なる塩分濃度の溶液に低濃度(2.5 μM タンニン酸+10 μM FeCl_3)と高濃度(0.44mM タンニン+1.78mM FeCl_3)のタンニン錯体鉄を加えると，低濃度区の鉄溶存率は塩分濃度と共に増加し，塩分 35‰時のそれは 64.8%であり，一方高濃度区のそれは塩分濃度の低下に伴い増加

し，同 35%時のそれは 0.62%であった．

これらの成果は，本章の仮説「タンニンと結合した鉄は植物プランクトンに吸収利用可能である」を支持するものである．

第7章 総合考察

今世紀以降の食料生産と環境問題に取り組んでいくには、自然生態系の機能と価値を正しく理解する必要がある、との考えの基、本論文は、昨今破壊著しい自然環境であるマングローブに注目し、熱帯亜熱帯沿岸域における陸域由来溶存鉄の動態と機能を明らかにすることを目的とする研究を、以下の一連仮説の基に行った。すなわち、

「マングローブに生息する植食性のカニが樹種葉と林床土壌との接触機会を増加させる結果、その葉中タンニンが林床土壌中の鉄を溶存化させ、この溶存鉄が植物プランクトンの増殖に寄与する」

この一連仮説を立証するため、沖縄県宮古島の島尻林帯をメインフィールドとし、葉中タンニンの動態から溶存鉄の役割まで下記5つの課題を設け、第2章から第6章までの各章において、それぞれの仮説を検証した。

第2章「マングローブ林床土壌にタンニン溶液を添加すると溶存鉄の土壌溶出は促進される」

第3章「マングローブ落葉の50%以上は植食性のカニにより巣穴に運ばれる」

第4章「(1)植食性のカニはタンニン含有率の高い樹種葉を選択的に摂食し、(2)葉中タンニンの一部はカニ糞中に残存し巣穴に蓄積される。(3)林床土壌とカニ糞中のタンニンの反応により溶存鉄溶出が促進される」

第5章「マングローブ水域中の溶存鉄含有率とタンニン含有率は共に高く、両者の間には正の相関関係がある」

第6章「タンニンと結合した鉄は海水条件においても溶存率が高く、植物プランクトンに吸収利用可能である」

各章において得られた成果は、ほぼ仮説を支持するものであった。すなわち、島尻林帯において、2章)マングローブ樹種葉中のタンニンは林床土壌中の溶存鉄溶出促進効果があり、3章)年間落葉量の68.9%は植食性のカニにより巣穴に運ばれ、土壌との接触機会を持つことが明らかとなった。4章)(1)植食性のカニである*Neosarmatium smithi*はタンニン含有率の高いマングローブ樹種葉を選択的に摂食し、(2)その葉中タンニンの一部はカニ糞中に残存し巣穴に蓄積されていた。さらに(3)林床土壌とカニ糞中のタンニンの反応により溶存鉄溶出が促進されることが示された。5章)マングローブ水域中の溶存鉄含有率及びタンニン含有率は、非マングローブ水域のそれより高く、両者の間には有意な正の相関関係があった。6章)タンニンと結合した鉄は海水条件においても溶存率が高く、鉄除去培養液にタンニン酸と FeCl_3 を加えて*C. closterium*を15日間培養すると、処理区(FeCl_3 +タンニン)のcell数は、対照区(FeCl_3)の29.5倍増加した。

これらの成果は上記一連仮説を支持するものであると考えられる。言い換えると、本研究の成果により、マングローブ林床に生息する植食性カニが、マングローブ葉中タンニンと林床土壌との接触機会を増加させる結果、マングローブ葉中タンニンと林床土壌中の鉄とが反応し、林床土壌から溶存鉄を大量にマングローブ及び沿岸生態系に供給している可能性が示され、そのようにして溶出する溶存鉄は植物プランクトンに吸収可能であることが明らかとなったと言える(図7-1)。

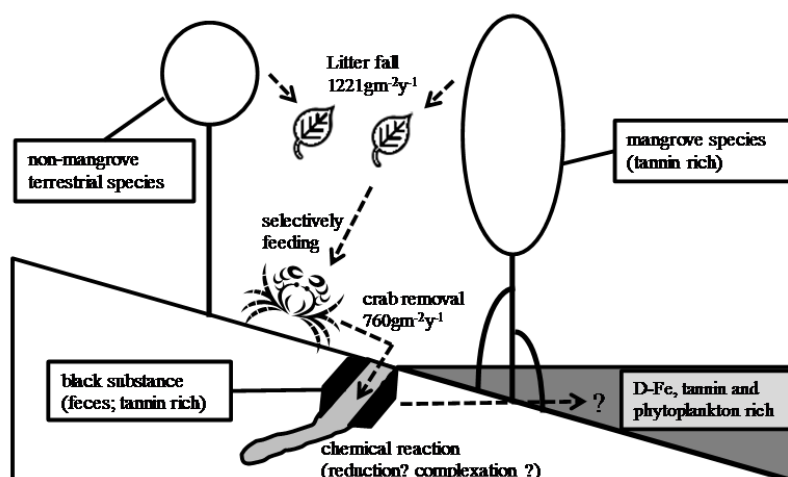


図 7-1 仮説：マングローブ葉生成タンニンの生態内動態と溶存鉄供給に係る役割(宮古島島尻林帯を事例とした)

Spalding et al (2011)によると、マングローブは世界123か国で確認されており、その沿岸152,000 km²を覆っている。このようにマングローブの被覆面積は世界の森林面積比べ大きくないが、その生態系は陸と海のインターフェースとして、また沿岸生態系への栄養供給源として非常に重要である。仮に上記のようなタンニンによる林床土壌からの鉄溶出メカニズムがその全域で生じているとすれば、一般的に貧栄養な熱帯・亜熱帯海域への安定的な錯体鉄の供給源として、マングローブは周辺の海洋生産性に貢献しているのみならず、全球的な物質循環や生物生産に重要な役割を果たしている可能性がある。

そこで、本研究で得られた実験結果を基に、世界のマングローブから落葉由来タンニンによって土壌溶出される溶存鉄量を以下のように概算した。第3章において概算したように、島尻林帯林床1m²当たり180mgの溶存鉄が落葉中タンニンによって土壌溶出される可能性がある。これを世界のマングローブの面積152,000km²に当てはめると、27,360Mg y⁻¹の溶存鉄が落葉由来タンニンによって溶出される可能性がある。これを北部太平洋で行われた鉄散布実験SEEDS(Subarctic Iron Experiment for Ecosystem Dynamics Study)(Tsuda et al., 2001)による純鉄散布量の下限值60kg/100km²に当てはめると、4560万km²の海域における鉄の散布量に当たり、これはHNLC海域と言われる南極海の面積2033万km²の2.24倍に相当する。

このように、マングローブの落葉由来タンニンから土壌溶出される年間溶存鉄量は世界の海洋生産性に大きな影響を与えるだけのポテンシャルを秘めている。今後、世界各地における同様の研究事例や、本論文で検討されなかった多くの事象の研究が進めば、マングローブの価値は益々見直されるだろう。

第8章 摘要

本研究は、熱帯亜熱帯沿岸域におけるマングローブ葉生成タンニンの生態内動態と溶存鉄供給に係る役割を明らかにすることを目的とし、以下の仮説を立て、その検証を行った。

「マングローブに生息する植食性のカニが樹種葉と林床土壌との接触機会を増加させる結果、その葉中タンニンが林床土壌中の鉄を溶存化させ、この溶存鉄が植物プランクトンの増殖に寄与している」

その研究成果は以下のように要約される。

- 第2章 - タンニン溶液による土壌からの溶存鉄溶出

マングローブにおけるタンニンの役割を明らかにするため、マングローブ葉中のタンニン含有率と、異なる塩分濃度のタンニン溶液をマングローブ土壌に添加した際に溶出する溶存鉄量を検証した。これらの実験にはマングローブ樹種6種と非マングローブ樹種16種の葉及び、マングローブ林床土、暗赤色土と黒ボク土を供試した。

得られた結果は以下の通りである。

1)タンニン酸溶液濃度を高める($\sim 100\text{mM}$)と、マングローブ土壌から溶出した溶存鉄量($\sim 20\text{ }\mu\text{gg}^{-1}$)も増加した。

2)マングローブ土壌に 100mM タンニン酸溶液を添加した際に溶出した溶存鉄量は、暗赤色土のそれよりも5.5倍高かった。

3) 10mM タンニン酸溶液湛水1日目のマングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は、暗赤色土のそれより高かったが、湛水2日目以降のそれらの増加度合に違いはなかった。

4) 10mM タンニン酸溶液中の塩分濃度を高めると、土壌から溶出する溶存鉄量は有意に減少したが、塩分濃度35‰の同溶液添加時にマングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は、同条件の暗赤色土から溶出したそれより6.1倍多かった。

5)供試したマングローブ樹種($n=6$)及び非マングローブ樹種($n=16$)葉中のタンニン含有率(mean \pm SE)は、それぞれ $99\pm 16\text{ mgg}^{-1}$ 及び $76\pm 19\text{ mgg}^{-1}$ であった。

6) マングローブ土壌から溶出した溶存鉄量は、添加した供試葉抽出液中のタンニン含有率と有意な正の相関関係がみられた。

これらの結果は、マングローブ樹種葉中のタンニンが塩水条件下においても、マングローブ土壌から溶存鉄溶出を促進する可能性があることを示している。

- 第3章- マングローブリター量に占める植食性カニによるリター持去り量の比率

マングローブ葉中タンニンが林床土壌と接触するまでの動態を明らかにするため、日本の亜熱帯域に位置する沖縄地域の宮古島の島尻地区マングローブにおいて、リターキャッチャーを用いて植食性カニによる落葉の巣穴への持去り量を通年調査した。

得られた結果は以下の通りである。

1) リター総量は $1221 \text{ gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ であり、そのうちカニによる持去り率、林床への現存率、及び海域への持去り率はそれぞれ 68.9、9.6 及び 21.4% であった。

2) 総リター量における各樹種 (*Bruguiera gymnorrhiza*, *Rhizophora stylosa* 及び *Derris trifoliata*) の重量割合はそれぞれ 61.4、31.1 及び 7.5% であり、各樹種葉のカニによる持去り率はそれぞれ 72.8、69.3 及び 35.7% であった。

3) 落葉及びカニに持去られた落葉中のタンニン含量は、それぞれ 92.6 及び $65.7 \text{ gm}^{-2}\text{y}^{-1}$ であった。本調査地点におけるリターのカニによる持去り率は、熱帯域で同様に行われた先行研究の値と同等であった。

これらの結果から、植食性カニがマングローブ葉を選択的に摂食するという行為は、葉中タンニンと林床土壌との接触機会を増加させ、溶存鉄溶出を促進させる可能性が示唆された。

- 第4章- 植食性カニの葉摂食性向とその糞中タンニンの動向

本章はマングローブ樹種葉中タンニンと土壌との接触/反応における植食性カニの役割を明らかにすることを目的とし、宮古島の島尻林帯に優占的に生息する植食性カニである *Neosarmatium smithi* によるマ

ングローブ葉の摂食性向，同カニの糞中及び巣穴内壁土壌中のタンニン含有率を調査した．最後に同カニ糞水抽出液を林床土壌に添加した際に溶出する溶存鉄含量を定量した．

得られた結果は以下の通りである．

1) *N. smithi*による*Rhizophora stylosa*, *Bruguiera gymnorrhiza* 及び*Kandelia candel*葉の摂食速度は，供試したその他の樹種葉より有意に高かった．

2) *N. smithi* の糞，巣穴内壁黒色土，及び黄色土中のタンニン含有率は，それぞれ 9.93 ± 3.14 , 0.49 ± 0.07 , 及び 0.11 ± 0.02 であった．

3) *N. smithi* の糞，林床土，及びそれら混合物の水抽出液中の溶存鉄含有率 (mean \pm SE) は，それぞれ 0.08 ± 0.003 , 0.15 ± 0.015 , 及び $0.65 \pm 0.015 \mu\text{g g}^{-1}$ であった．

これらの結果により，植食性のカニはタンニン含有率の高いマングローブ葉を選択的に巣穴に持ち込んで摂食し，その葉，もしくは糞中のタンニンは土壌と接触し，土壌から溶存鉄溶出を促進する可能性があることが示唆された．

- 第5章 - マングローブ土壌及び表流水中のタンニン及び溶存鉄量の評価

本章では，マングローブ植生域表流水中の溶存鉄濃度の実態及び，表流水中の溶存鉄とタンニン含有率との関係性を検証するため，マングローブ植生域における表流水中の水質を測定し，両者の関係を解析した．調査対象地域は，マングローブ植生域として宮古島の島尻地区と川満地区とし，その対照として非マングローブ植生域の同島浦底地区とした．供試表流水は2011年8月から2012年3月まで月1回，大潮の最干潮時に各地区の上流域から沿岸海域まで計16地点において採取した．

得られた結果は以下の通りである．

1) マングローブ植生域の表流水中溶存鉄含有率($0.11 \sim 0.27 \text{mg L}^{-1}$)は非マングローブ水域の表流水中溶存鉄含有率($0.09 \sim 0.14 \text{mg L}^{-1}$)よりも有意に高かった．

2) 表流水中の溶存鉄とタンニン含有率は，全ての調査対象地区において，上下流域では低く，中流域では高かった．

3)表流水中の溶存鉄とタンニン含有率との関係は、マングロー植生域である島尻地区と川満地区ではそれぞれ $P<0.01$ と $P<0.05$ 水準で有意な正の相関関係がみられたが、非マングロー植生域である浦底地区では有意な関係はみられなかった。

以上の結果から、宮古島のマングローブ水域表流水中の溶存鉄含有率は高いことが明らかになり、その要因として上中流域の植物体中で生成されるタンニンが関連している可能性が示唆された。

- 第6章 - タンニンが植物プランクトンの鉄吸収に及ぼす影響

本章では、マングローブ生態系におけるタンニンの役割を解明する端緒として、宮古島の島尻林帯河口域に生息する珪藻の *Cylindrotheca closterium* を培養し、試薬タンニン酸と FeCl_3 を添加した際の cell 数の挙動を調査すると共に、海水中におけるタンニン錯体鉄の溶存率を測定した。

得られた結果は以下の通りである。

1)鉄除去培養液にタンニン酸と FeCl_3 を加えて *C. closterium* を15日間培養すると、処理区(FeCl_3 +タンニン)の cell 数は、対照区(FeCl_3)の29.5倍多かった。

2)塩分濃度を変えた鉄除去培養液(35‰, 26‰, 18‰, 9‰, 0‰)にタンニン酸と FeCl_3 を加えて *C. closterium* を15日間培養すると、塩分濃度18‰以下の試験区では cell 数が増加しなかった。

3)鉄除去培養液に FeCl_3 と濃度別タンニン酸(4, 40, 400 μM)を加えて *C. closterium* を9日間培養すると、4 μM 区の cell 数は、分注時に比べ47.8倍増加したが、40 μM , 400 μM タンニン酸水溶液を添加した培養液中の cell 数は培養期間を通して増加しなかった。

これら結果はマングローブ落葉中タンニンと林床土壌中の鉄との反応により土壌溶出した鉄が、植物プランクトンへの鉄供給源として重要である、との説を支持する。

以上の結果により、マングローブ林床に生息する植食性カニが、マングローブ葉中タンニンと林床土壌との接触機会を増加させる結果、

マングローブ葉中タンニンと林床土壌中の鉄とが反応し，林床土壌から溶存鉄を大量にマングローブ及び沿岸生態系に供給している可能性が示され，そのようにして溶出する溶存鉄は植物プランクトンに吸収可能であることが明らかとなったと言える．

そこで，本研究で得られた実験結果を基に，世界のマングローブから落葉由来タンニンによって土壌溶出される溶存鉄量を概算すると，4560万km²の海域における鉄の散布量に当たり，これはHNLC海域と言われる南極海の面積2033万km²の2.24倍に相当する．

このように，マングローブの落葉由来タンニンから土壌溶出される年間溶存鉄量は世界の海洋生産性に大きな影響を与えるだけのポテンシャルを秘めている．本研究で得られた成果により，マングローブの価値は益々見直されるだろう．

Summary

Dynamics of tannins derived from leaf and the roles for dissolving Fe from the floor soil in mangrove ecosystems

In this study, to reveal the dynamics of tannins derived from mangrove leaf and the roles for dissolving Fe from the floor soil, we built the following hypothesis.

「Detritivorous crabs in mangrove forest selectively collect mangrove leaves containing high levels of tannins and carry them into their burrows. The tannins in leaf and/or faeces may then react with the soil, and lead to greater elution of dissolved Fe from the soil, thereby potentially making dissolved Fe available to phytoplankton in coastal ecosystems.」

The results of studies are summarized as follows.

- Chapter II - Elution of dissolved Fe from mangrove soil by tannin solution

To reveal the role of tannins in mangroves, tannins in mangrove leaves and the Fe eluted from mangrove soil by adding tannin solutions of different salinity levels was investigated. Leaves of six mangrove and 16 non-mangrove species, and samples of a mangrove floor, Andosol and dark red soil were collected.

Results were:

- 1) Increasing tannic acid concentration to ~50 mM, increased the Fe eluted from mangrove soil to ~20 $\mu\text{g g}^{-1}$.
- 2) When a 100 mM tannic acid solution was added, the Fe eluted from mangrove soil was 5.5 times higher than dark red soil.
- 3) Although elution of Fe from mangrove soil was higher than in Andosol one day after submersion in a 10 mM tannic acid solution, the difference was stable after 2 days.

4) The elution of Fe from all soils significantly decreased with increasing salinity of a 10 mM tannic acid solution. However, the amount from mangrove soil was 6.1 times higher than dark red soil even with 35‰ salinity.

5) The tannin content in the mangrove leaves was $99 \pm 16 \text{ mg g}^{-1}$ and non-mangrove leaves was $76 \pm 19 \text{ mg g}^{-1}$.

6) The Fe eluted from mangrove soil had a positive correlation with the tannin concentrations in the added leaf solution.

Tannins in mangrove species promote the elution of Fe from mangrove floor soil even in saline water. Fe complexes were formed when mangrove soil was mixed with leaf tannins suggesting that Fe produced by tannins in mangrove leaves growing in land/sea interfaces likely plays a direct role in marine ecosystems.

- Chapter III - Litterfall removal by detritivorous crabs in a mangrove forest

To clarify the dynamics of tannin translocation from mangrove leaves and the formation of complexes with Fe in the floor soil, we investigated the amount of litterfall and removal by detritivorous crabs using litter catchers in a mangrove forest in Okinawa, a subtropical part of Japan.

Results were:

1) The amount of litterfall was $1221 \text{ gm}^{-2}\text{y}^{-1}$, with the relative proportions of litter removed by crabs, the standing stock of litter, and litter export into the sea comprising 68.9, 9.6 and 21.4%, respectively.

2) The relative percentages of leaf litter derived from *Bruguiera gymnorhiza*, *Rhizophora stylosa* and *Derris trifoliata* were 61.4, 31.1 and 7.5%, respectively. Crabs were responsible for the removal of 72.8, 69.3 and 35.7%, of each species, respectively.

3) The amounts of tannins contained in the leaf litter and the removal by crabs were estimated to be 92.6 and $65.7 \text{ gm}^{-2}\text{y}^{-1}$, respectively.

The proportion of litter removal by crabs at this site was similar to that reported in previous studies carried out in tropical areas. The crabs which selectively feed on mangrove leaves could provide opportunities for tannins in the leaves to react with the floor soil and cause the elution of dissolved Fe.

- Chapter IV - Do detritivorous mangrove crabs prefer leaves rich in tannins and where do the tannins go?

The aim of this study was to clarify the role of detritivorous crabs in reactions between tannins in leaf and mangrove soil. We investigated leaf choice by *Neosarmatium smithi*, and tannin concentrations in their faeces and inner wall in burrows in a mangrove forest (Shimajiri, Japan). Finally, we measured the elution of dissolved Fe from mangrove soil by adding extracts of crab faeces.

Results were:

1) Leaf consumption rates for *Rhizophora stylosa*, *Bruguiera gymnorrhiza* and *Kandelia candel* in mangrove species containing high levels of tannins were significantly higher than those for the other species in this study.

2) Tannin concentrations (mean \pm SE) in faeces of *N. smithi*, black soils and yellow soils were 9.93 ± 3.14 , 0.49 ± 0.07 and 0.11 ± 0.02 , respectively.

3) Concentrations of dissolved Fe (mean \pm SE) in extract solutions from crab faeces, mangrove soils, and mixture of the soil and the faeces were 0.08 ± 0.003 , 0.15 ± 0.015 , and $0.65 \pm 0.015 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively.

These results suggest that the detritivorous crabs selectively collect mangrove leaves containing high levels of tannins and carry them into their burrows. The tannins in leaf and/or faeces may then react with the soil, and lead to greater elution of dissolved Fe from the soil, thereby potentially making dissolved Fe available to phytoplankton in coastal ecosystems.

- Chapter V - Relationship between tannins and dissolved Fe concentrations in surface water of mangrove forest

To reveal one of the roles of tannins produced in mangrove trees, tannins and dissolved Fe concentrations in surface water in two mangrove estuaries compared with a non-mangrove estuary had been investigated and the relationship was analyzed. The investigation had been conducted on Miyakojima Island, Japan (non-mangrove estuary: Urasoko, mangrove estuary: Kawamitsu and Shimajiri).

Results were:

1) Dissolved Fe concentrations in surface water in mangrove estuary were significantly higher ($0.11 \sim 0.27 \text{mgL}^{-1}$) than in non-mangrove estuary ($0.09 \sim 0.14 \text{mgL}^{-1}$).

2) Both of tannins and dissolved Fe concentrations in surface water in mangrove estuary were found to be high in the mid-streams but low in the down-streams.

3) Although the dissolved Fe concentration had a positive correlation with tannin concentration in surface water in mangrove estuary, in non-mangrove estuary had no correlation.

The results suggested that tannins produced in mangrove trees contribute elution of Fe from the floor soil to increase dissolved Fe concentration in the surface water.

- Chapter VI - Effect of Tannin complex Fe on growth of phytoplankton

To reveal an effect of tannic acid on Fe uptake and growth of a coastal marine diatom (*Cylindrotheca closterium*), counting cells of *C. closterium* by adding tannic acid solution, and dissolution rates of tannic acid complex Fe in Sea water were investigated.

Results were:

1) the cell number after the 15 days culture of *C. closterium* in treatment plot (f/2 medium + $12 \mu \text{M}$ FeCl_3 + $4 \mu \text{M}$ tannic acid) had much 29.5 times in control plot (f/2 medium + FeCl_3).

2) the cell number after the 9 days culture of *C. closterium* in the nutrient medium (f/2 medium + $12 \mu \text{M}$ FeCl_3 + $4 \mu \text{M}$ tannic acid) of under 18 % of

salinities has not increased.

3) the cell number after the 9 days culture of *C. closterium* in the nutrient medium (f/2 medium + 12 μ M FeCl₃ + 40 μ M tannic acid) has not increased.

The results supported that dissolved Fe eluted from floor soil by mangrove tannin has very important factor in growth of tropical coastal phytoplankton.

The results were concordant with our hypothesis. That is to say, detritivorous crabs in mangrove forest selectively collect mangrove leaves containing high levels of tannins and carry them into their burrows. The tannins in leaf and/or faeces may then react with the soil, and lead to greater elution of dissolved Fe from the soil, thereby potentially making dissolved Fe available to phytoplankton in coastal ecosystems.

Therefore, based on the results in this study, I roughly estimated dissolved Fe quantity eluted from the floor soil from the world mangrove forest by fallen leaves origin Tannin for a year. As a result, dissolved Fe eluted from world mangrove forest were equivalent to 2.24 times of 20,330,000 area of the Antarctic Ocean km².

In this way, the dissolved Fe eluted from mangrove forest hides the potential that only has a big influence on world marine productivity. The value of the mangrove forest will be reviewed more and more by the result in this study.

謝辞

本論文の作成にあたり，主査としてご尽力を頂きました東京農業大学地域環境科学部造園科学科 濱野周泰先生に深く感謝致します．

本論文の作成にあたり，副査としてご尽力いただき，また，私の学部生時代からずっとご指導，ご助言を賜った東京情報大学学長 牛久保明邦先生に心より感謝申し上げます．

本研究の発案者であり，終始ご懇篤なるご指導を賜り，また副査としてご尽力をいただきました，東京農業大学国際食糧情報学部国際農業開発学科 中西康博先生に深甚なる謝意を表します．

本研究の共同研究者であり，多くのご助言を下さり，共にフィールドで汗を流して頂いた(財)沖縄環境科学センター 長井隆博士と琉球大学農学部 金城和俊先生に心より感謝申し上げます．

海水中の鉄分析と植物プランクトンの培養方法について貴重なご助言をして頂いた，東京農業大学国際食糧情報学部国際農業開発学科農業環境科 入江満美先生，東京農業大学生物産業学部アクアバイオ学科 塩本明弘先生，北海道大学低温科学研究所西岡純先生に心より御礼申し上げます．

本論文の作成にあたり，終始励まし，有益なご助言を下さった元東京農業大学国際食糧情報学部国際農業開発学科の広瀬忠樹先生，山口武則先生に深く感謝申し上げます．

本研究の遂行にあたり，本拠地である宮古亜熱帯農場における研究生活を支えて下さった志和地弘信農場長，友利行男技術職員，平良聡氏，練習生の皆さんに深く感謝申し上げます．

また，宮古農場の研究室で多くの研究を共に行い，いつも励ましの言葉をかけてくれた竹井章（故）氏，沖博子氏に心より感謝申し上げます．

修士，博士課程の研究生活を共に宮古島で過ごし，常に前向きな言動で先導してくれた野村渉平博士 k k に格別の感謝を申し上げます．

最後に，私の人生を常に支えてくださった父，母，姉，励まし応援してくれた多くの友人に，そしてどのような状況においても応援し，支えてくれた素晴らしい妻，実佳に心から感謝を申し上げます．

本研究の一部は以下の研究助成によって実施されたものです．ここに記して感謝申し上げます．

- 1)平成22年度福澤記念育林基金（第2章～5章）
- 2)平成24年度東京農業大学大学院高度化推進事業（博士後期課程研究支援制度）（第6章）

また，本研究の一部は投稿論文及び学会発表として以下のように公表されています．

【投稿論文】

- 1)Matsutani T, Nagai T, Kinjyo K and Nakanishi Y (2013) Elution of dissolved Fe from mangrove soil by tannin solution. *Wetlands Ecology and Management*, 21(2),107-115. (第2章)
- 2)松谷達馬，長井隆，金城和俊，中西康博（2013）宮古島のマングローブ植生域における表流水中のタンニン含有率と溶存Fe含有率との関係．*農学集報*，58(2). (第5章)
- 3)Matsutani T, Nagai T and Nakanishi Y (2013) Litterfall removal by detritivorous crabs in a mangrove forest of Miyakojima Island. *農学集報*，58(3). (第3章)

【学会発表】

- 1)中西康博・松谷達馬・長井隆・金城和俊：タンニンの葉中含量とタンニン溶液によるFe,Mn の土壌溶出(第1報)，日本土壌肥料学会九州支部秋季例会(沖縄那覇八汐荘)，2011.10，第74回九州農業研究発表会専門部会発表要旨集，p37. (第2章)
- 2)松谷達馬・長井隆・金城和俊・中西康博：マングローブ葉の *Neosarmatium smithi*による摂食性向と糞中及び巣穴泥中タンニン含有率，マングローブ生態系におけるタンニンの役割(第2報)，日本土壌肥料学会九州支部秋季例会(沖縄那覇八汐荘)，2011.10，第74回九州農業研究発表会専門部会発表要旨集，p38. (第3,4章)
- 3)松谷達馬・長井隆・金城和俊・中西康博：マングローブ生成タンニンの動態と役割日本土壌肥料学会鳥取大会(鳥取大学)，2012.9，日本土壌肥料学会講演要旨集，58, p2. (第2～5章)

引用・参考文献

[英文]

- Arakawa H, Tsushima M, Kishi M and Watanabe N (1993) Reduction of Chromium (IV) by Water-Extracts from Withered Oak Leaves. CHEMISTRY LETTERS 2113-2116.
- Ashton C. Elizabeth (2002) Mangrove sesarmid crab feeding experiments in Peninsular Malaysia. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 273, 97-119.
- Basak UC, Das AB and Das P (1999) Organic constituents in leaves of 9 mangrove species of Orissa coast, India. Pakistan Journal of Botany 31(1), 55-62.
- Bernays EA, Cooper DG and Bilgener M (1989) Herbivores and plant tannins. In Advances in Ecological Research, vol.19. Eds. Begon M, Fitter AH, Ford ED and MacFadyen A. pp263-302. Academic Press, London.
- Bunt JS 1982. Continental scale patterns in mangrove litter fall. Hydrobiologia, 295: 135-140.
- Camilleri J (1989) Leaf choice by crustaceans in a mangrove forest in Queensland. Marine Biology, 102, 453-459.
- Chen GC and Ye Y (2008) Leaf consumption by *Sesarma plicata* in a mangrove forest at Jiulong Estuary, China. Marine Biology, 154: 997-1007.
- Close DC and McArthur C (2002) Rethinking the role of many plant phenolics – protection from photodamage not herbivores? Oikos, 99, 166-172.
- Dittmar T, Hertkorn N, Kattner G and Lara RJ (2006) Mangrove, a major source of dissolved organic carbon to the oceans. Global biogeochemical cycles, vol.20, GB1012.
- Duke NC (1982) Mangrove litter fall data from Hinchinbrook Island, north-eastern Australia. AIMS Data Report CS-81-2, pp.284.
- Geider RJ and Roche J (1994) The role of iron in phytoplankton photosynthesis, and the potential for iron-limitation of primary

- productivity in the sea. *Photosynthesis Research*, 39(3), 275-301.
- Gershenson J (1994) The cost of plant chemical defense against herbivory: a biochemical perspective. In *Insect-Plant Interactions*. ED. Bernays EA, pp. 105-173. CRC Press, Boca Raton.
- Gong WK, Ong JE, Wong CH and Dhanarajan G (1984) Productivity of mangrove trees and its significance in managed mangrove ecosystems in Malaysia. In: Seopadmo, E., Rao, A.N., Macintosh, D.J. (Eds.), *Proceedings of the Asian Symposium on Mangrove Environment: Research and Management*. University of Malaysia and UNESCO, 216–225.
- Hernes PJ and Hedges JI (2004) Tannin signatures of barks, needles, leaves, cones, and wood at the molecular level. *Journal of The Geochemical Society and The Meteoritical Society* 58, 1293-1307.
- Igarashi K, Matsunaga K, Koike K, Toya K and Fukase S (1982) Determination of Organically-bound Iron in Fresh and Coastal Sea Waters. *Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido University*, 33(1) 51-55.
- Indorante SJ, Hammer RD, Koenig PG, Follmer LR (1990) Particle-size analysis by a modified pipette procedure. *Soil Sci Soc Am J* 54:560–563.
- Julkunen-Tiitto R (1985) Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 33 (2) 213–217.
- Kawazu K, Ohigashi H, Takahashi N and Mitsui T (1972) Piscicidal constituents of *Calophyllum Inophyllum*. *Bulletin of the Institute for Chemical Research, Kyoto University*, 50, 3, 160-167.
- Konishi T, Konoshima T, Maoka T and Fujiwara Y (2000) Novel diterpens, excoecarins M and N from the resinous wood of *Excoecaria agallocha*. *Tetrahedron Letters*, 41, 3419-3422.
- Kraus TEC, Dahlgren RA and Zasoski RJ (2003) Tannin in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review. *Plant and Soil* 256, 41-66.
- Kristensen E (2008) Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. *Journal of Sea Research*, 59, 30-43.

- Kuiters AT (1990) Role of phenolic substances from decomposing forest litter in plant-soil interactions. *Acta Botanica Neerlandica* 39: 329-348.
- Kuma K, Nishioka J and Matsunaga K (1996) Controls on iron (III) hydroxide solubility in seawater: The influence of pH and natural organic chelators, *Limnology and Oceanography* 41 (3), 396-407.
- Lee SY (1989) The importance of sesarminae crabs *Chiromanthes* spp. and inundation frequency on mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce) leaf litter turnover in a Hong Kong tidal shrimp pond. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 131, (1) 17, 23–43.
- Lee SY (1997) Potential trophic importance of the faecal material material of the mangrove sesarminae crabs *Sesarma messa*. *Marine Ecology Progress Series*. 159: 275-284.
- Levanidov LY (1957) Manganese in the Geochemical Landscape of the Southern Ural Steppe. *Soils and Fertilizers Abstracts* 22, 93 (510).
- Maie N, Pisan O and Jaffe R (2008) Mangrove tannins in aquatic ecosystems: Their fate and possible influence on dissolved organic carbon and nitrogen cycling. *Limnology and Oceanography* 53 (1) 160-171.
- Matsunaga K, Igarashi K, and Fukase S (1982) Behavior of Organically-bound Iron in Lake Ohnuma. *Japan Journal of Limnology*, 43, 3, 182-188.
- Matsunaga K, Nishioka J, Kuma K, Toya K and Suzuki Y (1998) River input of bioavailable iron supporting phytoplankton growth in Kesennuma bay. *Water Research*, 32, 11, 3436-3442.
- Mfilinge LP, Mezianeb T, Bachoka Z and Tsuchiya M (2005) Litter dynamics and particulate organic matter outwelling from a subtropical mangrove in Okinawa Island, South Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Vol. 63, 301–313.
- Mfilinge PL and Tsuchiya M (2008) Effect of temperature on leaf litter consumption by grapsid crabs in a subtropical mangrove (Okinawa, Japan). *Journal of Sea Research*, 59, 94-102.
- Micheli F (1993) Feeding ecology of mangrove crabs in North Eastern Australia: mangrove litter consumption by *Sesarma messa* and *Sesarma*

smithii.

- Mokolensang JF and Tokuyama A (1998) Litter production of mangrove forest at the Gesashi river. *Bulletin of the College of Science*, 65, 73-79.
- Neilson MJ, Giddins RL and Richards GN (1986) Effect of tannins on the palatability of mangrove leaves to the tropical sesarminid crab *Neosarmatium smithi*. *Marine ecology*, 34, 185-186.
- Nishioka J and Takeda S (2000) Change in the concentrations of iron in different size fractions during growth of the oceanic diatom *Chaetoceros* sp.: importance of small colloidal iron. *Marine Biology* 137: 231-238.
- Noro J and Komatsu Y (2003) Formation of Aqueous Complex of Chromium (III) Reduced from Chromium (VI) with Tannin Acid. *Journal of Ion Exchange (Japan)*, Supplement 14, 357-360.
- Powell RT and Wilson-Finelli A (2003) Importance of organic Fe complexation ligands in the Mississippi River plume. *Estuarine coastal and shelf science*, 58, 757-763.
- Robertson AI and Daniel PA (1989) The influence of crab on litter processing in high intertidal mangrove forests in tropical Australia. *Oecologia*, 78, 191-198.
- Russell-Hunter WD (1970) *Aquatic productivity: an introduction to some basic aspects of biological oceanography and limnology*. Macmillan, New York.
- Slim FJ, Hemminga MA, Ochieng C, Jannink NT, E Cocheret de la Morinière and G van der Velde (1997) Leaf litter removal by the snail *Terebralia palustris* (Linnaeus) and sesarmid crabs in an East African mangrove forest (Gazi Bay, Kenya). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 215, (1) 35-48.
- Sungur S and Uzar A (2008) Investigation of complexes tannin acid and myricetin with Fe (III). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 69, 225-229.
- Spalding M, Kainuma M and Collins L (2010) *World Atlas of mangroves*. Earthscan, London.
- Tomlinson, P. B. 1986. *The botany of mangroves* pp.27. Cambridge Tropical

Biology Series.

- Tsuda, A., Saito, H., Nishioka, J. and Ono, T. (2005) Mesozooplankton responses to iron-fertilization in the western subarctic Pacific (SEEDS2001). *Prog. Oceanogr.*, 64/2-4 :237-251
- Van den Berg CMG (1995) Evidence for organic complexation of iron in seawater. *Marine Chemistry*, 50, 139–157.
- Waite TD (2001) Thermodynamics of the iron system in seawater. In *The Biogeochemistry of Iron in Seawater*, K. A. Hunter and D. R. Turner Eds., Chapter 7, pp. 291-342. Wiley, New York, Academic Press, Inc.
- Yi ML, Jin WL, Ping X, Peng L, Zhen HD, Sternberg LSL (2007) Tannin and nitrogen dynamics in mangrove leaves at different age decay stages (Jiulong River Estuary, China), *Hydrobiologia* 583, 285-295.

[和文]

- 秋久俊博，小池一男，木島孝夫，羽野芳生，堀田清，増田和夫，宮澤三雄，安川憲(2002) 資源天然物化学，共立出版.
- 大原誠資(2005)樹皮タンニンの多彩な機能と有効利用，八十一出版.
- 奥田拓男(1995)，タンニンの構造と生物活性，日本農芸化学会誌，Vol.69，No9，p1202-1205.
- 坂本秀之，山本和子，白崎俊浩，井上嘉則(2006)ポリアミノポリカルボン酸型キレート樹皮固相カラムを用いる海水中微量金属分析の前処理方法，*BUNSEKI KAGAKU* Vol.55，No2，pp133-139.
- 白岩孝行(2011)魚附林の地球環境学—親潮・オホーツク海を育むアムール川—，昭和堂，京都.
- 武田重信(2007)鉄による海洋一次生産の制御機構，日本水産学会誌，73(3)，429-432.
- 武田重信，坂口勇，新島恭二，清野通康(1994)海洋性プランクトンを用いた CO₂の固定(2)太平洋赤道域の植物プランクトン生産における鉄の役割，財団法人電力中央研究所 研究報告：U94019.
- 田中治，野副重男，相見則郎，永井正博 (1999) 天然物化学，南江堂 p225-234.
- 長尾誠也(2011)V 河川水の DOC の特徴と生元素の運搬機構，渡辺彰

- (編)溶存有機物の動態と機能 - 土壌 - 河川 - 海を結んで -, 博友社, pp120-138.
- 中村武久, 佐々木寧, 加藤茂(1993)南太平洋地域におけるマングローブ林の生態とその環境. 太平洋島嶼地域におけるマングローブ生態系に関する総合調査研究(Ⅱ), 日本国際マングローブ協会, 228-258.
- 西岡五夫(1986)タンニンの化学—最新の研究, 化学と生物, Vol.24, No.7.
- 馬場繁幸(1993)マングローブと沖縄, 沖縄農業, 28(1), 46-57.
- 松永勝彦(1993)森が消えれば海も死ぬ, 講談社, 東京.
- 山路勇(1984)日本海洋プランクトン図鑑 第3版, 保育社.

付図表

— 第 2 章 —

表 沖縄に生育するマングローブ及び非マングローブ樹種の葉中タンニン含有率(S：島尻地区、K：川満地区、O：億首川)

Scientific name [†]	Site [‡]	Tannins content (mean \pm SE) mgg ⁻¹
Mangrove species		
<i>Rhizophora stylosa</i>	S	157 \pm 6
	K	106 \pm 9
	O	136 \pm 4
<i>Excoecaria agallocha</i>	K	125 \pm 3
<i>Kandelia candel</i>	S	93 \pm 2
	K	91 \pm 1
	O	111 \pm 1
<i>Lumnitzera racemosa</i>	O	76 \pm 1
<i>Bruguiera gymnorhiza</i>	S	100 \pm 2
	K	92 \pm 3
	O	68 \pm 1
<i>Avicennia marina</i>	S	45 \pm 6
Non-mangrove terrestrial species		
<i>Elaeocarpus decipiens</i>	O	265 \pm 8
<i>Terminalis catappa</i>	K	232 \pm 27
<i>Casuarina equisetifolia</i>	S	150 \pm 29
<i>Leucaena leucocephala</i>	O	89 \pm 3
<i>Calophyllum inophyllum</i>	K	70 \pm 5
<i>Diospyros egypt</i>	S	70 \pm 3
<i>Machilus thunbergii</i>	O	69 \pm 2
<i>Veitchia merrillii</i>	K	64 \pm 14
<i>Garcinia subelliptica</i>	S	61 \pm 5
<i>Hibiscus tiliaceus</i>	S	29 \pm 1
<i>Scaevola frutescens</i>	S	28 \pm 7
<i>Ficus retusa</i>	K	27 \pm 3
<i>Pandanus odoratissimus</i>	S	21 \pm 2
<i>Ficus viragata</i>	O	17 \pm 1
<i>Derris trifoliata</i>	S	13 \pm 2
<i>Pongamia pinnata</i>	K	11 \pm 1

表．宮古島の浦底地区(A)，川満地区(B)及び，島尻地区(C)に生息する植物プランクトン種組成

No.	門	綱	目	科	種	A-2	A-3	B-1	B-2	B-3	B-4	B-5	B-6	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
1	藍藻	藍藻	クロココックス	クロココックス	<i>Marismacellum</i> sp. **	—				600								300	600
2	藍藻	藍藻	ネンジュモ	ネンジュモ	<i>Lyngbya</i> sp. *	9600						400		28800				450	75
3	植物	植物			<i>Oscillatoria</i> sp. *	—						200							
4	植物	植物			<i>Phormidium</i> sp. *	—	1200					3600	400	600					
5	植物	植物			<i>Oscillatoria</i> sp. *	9600								38400		600			
6	植物	植物	クリプトモナス	クリプトモナス	<i>Cryptomonas</i> sp.	19200										7200			
7	植物	植物	—	—	<i>Cryptophyceae</i>	—	18000					14400	14400					16800	15600
8	植物	植物	ギムナチアニウム	ギムナチアニウム	<i>Gemmatinales</i>	—	4800												
9	植物	植物	ペリデアニウム	ペリデアニウム	<i>Peridinales</i>	—	10800								100800	19200	1200		
10	植物	植物			<i>Peridinales</i>	—	14400			4800		1200	600		19200				
11	植物	植物	円心	円心	<i>Stenomodiscus</i> sp.	—													150
12	植物	植物	羽状	羽状	<i>Ritzosolenia calcar avis</i>	—	300												
13	植物	植物			<i>Diatom hyalina</i>	—	2400										600	900	
14	植物	植物			<i>Licmophora</i> sp.	—	2400			2400	200		100						
15	植物	植物			<i>Synedra tabulara</i>	—	100												
16	植物	植物			<i>Diatomaceae</i>	—				4800		600	1200						600
17	植物	植物			<i>Achnanthes brevipes</i>	—													
18	植物	植物			<i>Cocconeis</i> sp.	—	9600	3600	600	2400	4800	9600	2400	9600	9600	1200	7200	6000	3600
19	植物	植物			<i>Achnanthes</i> sp.	—													
20	植物	植物			<i>Amphora</i> sp.	—													
21	植物	植物			<i>Catenula adherens</i>	—													
22	植物	植物			<i>Diploneis</i> sp.	—	1200							48000	14400	2400			
23	植物	植物			<i>Entomoneis</i> sp.	—				3600					4800				
24	植物	植物			<i>Fallacia</i> sp.	—	2400		100						1200				
25	植物	植物			<i>Gyrodinium</i> sp.	—				400							150		
26	植物	植物			<i>Navicula directa</i>	—													
27	植物	植物			<i>Navicula pupula</i>	—													
28	植物	植物			<i>Navicula</i> sp.	—	3200	10800	300	9600	4800	4800	7200	144000	19200	4800	2400	4800	14400
29	植物	植物			<i>Pleurosigma</i> sp.	—				400		400							
30	植物	植物			<i>Navicula</i> sp.	—											150		
31	植物	植物			<i>Cylindrotheca closterium</i>	—	3600	1200	9600	4800	7200	4800	12000	19200	2400	3600	7200	14400	6000
32	植物	植物			<i>Nitzschia</i> sp.	—			2400					9600	4800	1200			
33	植物	植物			<i>Nitzschia longissima</i>	—							200	172800					300
34	植物	植物			<i>Nitzschia sigma</i>	—	43200	300						67200					
35	植物	植物			<i>Nitzschia levidensis</i>	—	1017600	7200	4800	24000	7200	5400	7200	12000	288000	9600	8400	1200	3600
36	植物	植物			<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	—	19200			200		7200	14400				2400	1800	2400
37	植物	植物			<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	—				400									
38	植物	植物			<i>Petrodictyon</i> sp.	—	38400	14400	2400	12000	7200	5400	7200	57600		14400	3600	10800	1200
39	植物	植物			<i>Pennula</i>	—													
40	植物	植物			<i>Hydrocolea</i>	—	2400		7200			2400	3600						
41	植物	植物			<i>Hydrocolea</i>	—													
42	植物	植物			<i>Hydrocolea</i>	—													
43	植物	植物			<i>Prasinobryceae</i>	—	9600						7200					1200	8400
44	植物	植物			<i>Monoraphidium</i> sp.	—													
45	植物	植物			<i>unidentified flagellates</i>	—	67200	10800	12000	28800	31200	21600	32400	124800	19200	4800	2400	3600	7200
合計						1239200	117000	9500	75600	71600	70800	67600	122100	1065600	196800	76200	28500	59250	62925
沈降量 (mg/L)						0.95	0.10	0.04	0.30	0.35	0.25	0.15	0.10	1.40	0.90	0.35	0.16	0.25	0.05

備考欄に* を付けた種の数値は糸状体数を、** を付けた種の数値は群体数を示す。
調査期日：平成23年8月15, 16日
単位：細胞数/L