

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19580193

研究課題名（和文） 微生物群集構造遷移にもとづく森林内での木材腐朽過程の動態分析

研究課題名（英文） The dynamic analysis on the succession of microbial community structure in wood degradation on the forest floor.

研究代表者

目黒 貞利（MEGURO SADATOSHI）

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：50112321

研究成果の概要（和文）：

微生物の指標物質であるリン脂質脂肪酸(PLFA)を試料から抽出し、分析することにより、森林内での初期の木材腐朽過程における微生物群集構造遷移の動態を明らかにしようとした。広葉樹林の尾根部、斜面部、谷部に設置した試験地に、コジイおよびスギ心・辺材から調製した木杭を埋設した。主成分分析を用いて尾根部における木杭表層部の群集構造を検討したところ、埋設直後の2ヶ月目のコジイ材、スギ辺材および心材には群集構造の違いが認められたが、12ヶ月後にはコジイ材とスギ辺材間に、24ヶ月後にはこれらとスギ心材の間にも群集構造の違いが認められなくなった。すなわち、腐朽に伴う木杭表層部の微生物群集構造は、コジイ材では埋設直後に、スギ辺材では最初の12ヶ月の間にそれぞれ大きく変動し、スギ心材では2年間にわたるゆるやかな遷移が認められ、2年後には3種の腐朽材はほぼ同様の群集構造を示すことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

The phospholipid fatty acid (PLFA) analysis was used to estimate the changes in microbial community structure during decomposition of wood pegs of kojii wood, sugi heartwood and sapwood buried by half of the length in soil of three study sites at the ridge, side and valley sites along the slope under the broad-leaved forest in June 2007. The PCA analysis of PLFA profiles in the ridge site shows that the microbial community structure could be divided into three groups each for kojii wood, sugi heart and sapwood pegs after 2 months, but those of kojii and sugi sapwood went into the one group after 12 months, resulting to only two of different community groups, one was composed with those in kojii and sugi sap wood, and the other was that in sugi heart wood. However, these two groups were no longer distinguishable after 24 months. These results suggested that the microbial community could be sifted easily in the surface of kojii wood and sugi sapwood pegs, while gradually in sugi heart wood peg, and the communities in three kinds of wood were finally sifted to the same structure during 24 months.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：林学・林産科学・木質工学

キーワード：保存・木質文化

1. 研究開始当初の背景

「地球温暖化防止森林吸収 10 年対策」において重要な施策に位置づけられている木材利用の推進に取り組むために、農林水産省は「木材利用拡大行動計画」を策定した。しかし、木材には腐るという大きな欠点があり、今後さらに木材の利用を促進するためには、木材腐朽過程における木材の組織、物理的性質および化学成分の変化のみならず、それらに關与する微生物群集の遷移をも含めた、木材防腐に関する総合的かつ詳細な知見が必要であり、それに基づく適切で合理的な木材の防腐管理技術の確立が急務と考えられる。

2. 研究の目的

近年、土壤から抽出したリン脂質脂肪酸 (PLFA) を分析し、グラム陽性および陰性菌、放線菌、菌類に特徴的な脂肪酸組成を求めることで、これら微生物を同時に定量することができ、これにより土壤中の微生物の群集構造を容易に推定することが可能となった。

そこで本研究は、環境の異なる森林土壤に木材試料を埋設し、3 年にわたり、一定期間ごとに取り出して、木材の組織、物理的性質と化学成分の変動を検討し、一方 PLFA 法で木材の腐朽に關与する菌群集構造の遷移を推定することで、自然環境下での木材の腐朽過程のダイナミクスを明らかにしようとした。

3. 研究の方法

3.1 調査試験地

実験は宮崎県宮崎市田野町 (131E, 32N) に

位置する宮崎大学農学部附属自然共生フィールド科学教育研究センター・田野フィールド (演習林) で行った。常緑広葉樹林 12 林班た小班の傾斜地の尾根部、斜面部、谷部にそれぞれ 4m×2m のプロットを設置し、25cm×25cm のグリッドに細分した。

3.2 材料および実験方法

試料の採取は、木材腐朽にともなう微生物群集構造の遷移を追うため、2007 年の 6 月 30 日の埋設から 2 ヶ月後の 2007 年 8 月 31 日、5 ヶ月後の 2007 年 11 月 30 日、12 ヶ月後の 2008 年 7 月 8 日および 24 ヶ月後の 2009 年 7 月 9 日の計 4 回行った。

3.2.1 木材腐朽試験

試験材には、風乾させたコジイ材、スギの辺材及びスギの心材から調製した縦、横 3cm、長さ 35cm の木杭を用いた。

埋設は 2007 年 6 月 30 日に実施し、回収した木杭は、PLFA 分析用に厚さ 2mm の表層部を切り出した。残りの木杭を用いて木材腐朽率を求めた。

3.2.2 リン脂質脂肪酸分析

リン脂質脂肪酸の抽出と分析は Forestegard らによる方法を改変した方法で行った。土壤および木杭試料からクロロホルム：メタノール：クエン酸緩衝液混液で脂質を抽出した。得られた脂質はケイ酸カラムを用いて中性脂質、糖脂質およびリン脂質に分画した。リン脂質画分をアルカリメチル化 (0.2M KOH/MeOH/37°C/15min) し、得られた脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーで分析した (DET: 270°C, INJ: 230°C,

検出器：FID, Carrier gas: He, Oven program: Initial temp; 50°C, Initial time 1.0 min, 50-160°C; 30°C/min, 160-260°C; 2°C/min, 260-290°C; 5°C/min, Final time; 10.0min) 分析にはDB-1 キャピラリーカラム (J&W Scientific; 25mm×30m, 膜厚 0.25 μm) を使用し、計 33 種類の PLFA を、内部標準法を用いて同定、定量した。

3.2.3 統計分析

微生物群集構造は、Mole%変換した PLFA データを用い、主成分分析 (PCA) を行った。有意水準 5%未満を有意差ありとした。これらの分析には、EXCEL 多変量解析 Ver. 4.0、JSTAT8.2 を用いた。

4. 研究成果

4.1. 木材の腐朽試験

尾根部における、埋設後 24 ヶ月までの木材腐朽率の変化を図 1 に示す。コジイ材の腐朽率は 24 ヶ月目に約 15%に達し、12 ヶ月目と比較して約 1.5 倍増加した。スギの心材ではほとんど腐朽率に差が認められなかったが、辺材は 24 ヶ月目で約 10%の重量減少があり、12 ヶ月目と比較して 1 年間でかなり腐朽が進行した。しかし、測定に供試した木杭が各 3 本と少なかったために、バラツキが大きく、樹種間に有意差は認められなかった。

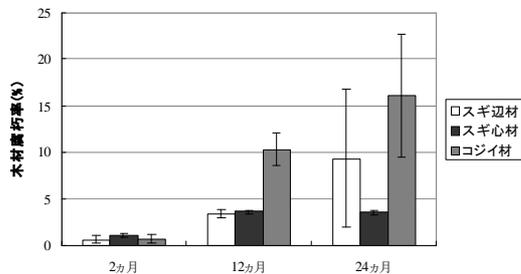


図 1. 尾根部における木材腐朽率の変化

4.2. 腐朽材中の微生物群集構造遷移

4.2.1 腐朽材中の微生物バイオマス

尾根部に埋設した木杭中の総 PLFA 量を見ると、スギ辺材および心材は、試験開始後 24 ヶ月まで、微生物バイオマスが増加し続ける傾向が見られるが、コジイでは 12 ヶ月目から 24 ヶ月目にかけて有為な増加は認められなかった。

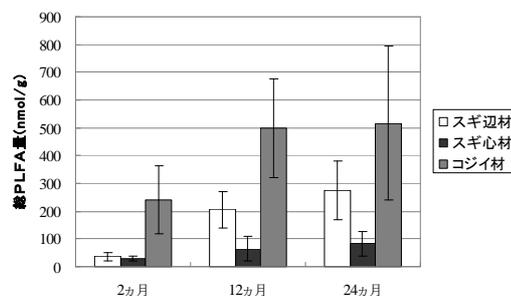


図 2. 尾根部における腐朽材中の総 PLFA 量

4.4.2 腐朽材中の微生物群集構造

尾根部の試験地では図 3 に示すように、埋設後 2 ヶ月目の脂肪酸は、コジイ材、スギ心材および辺材で大きく 3 つのグループに分かれているが、12 ヶ月目にはコジイ材とスギ辺材の脂肪酸が一群となるものの、スギ心材の脂肪酸とは分離されて 2 つのグループが形成された。スギ心材の脂肪酸組成には 2 ヶ月後と 12 ヶ月後で著しい差は見られないが、24 ヶ月後には第 1 軸のマイナス側に移動し、コジイ材およびスギ辺材の脂肪酸組成と大差がなくなり、一群となることが明らかとなった。

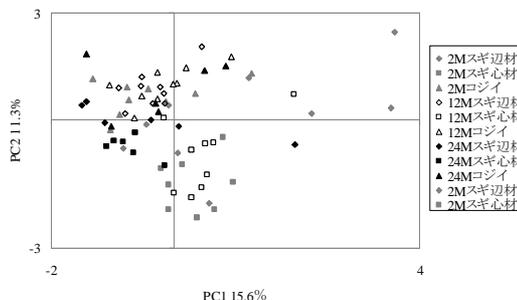


図 3. 尾根部に埋設した 2 ヶ月目、12 ヶ月目および

24 ヶ月目の腐朽材中の脂肪酸主成分分析結果

2M: 2 ヶ月目, 12M: 12 ヶ月目, 24M: 24 ヶ月目

腐朽材の脂肪酸主成分分析の第 1 軸および第 2 軸に寄与する脂肪酸についてみると(表 1), 第 1 軸のプラス側に i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0 などのグラム陽性菌指標の脂肪酸, 16:1 ω 9, cy17:0, 18:1 ω 5, cy19:0 などのグラム陰性菌指標の脂肪酸, 放線菌指標の脂肪酸である 10Me16:0 が寄与し, マイナス側にはグラム陽性菌指標の脂肪酸である i16:0, 真菌指標の脂肪酸である 18:2 ω 6, 9 が寄与していた。第 2 軸のプラス側には i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0, 19:1 などのグラム陽性菌指標の脂肪酸, グラム陰性菌指標の脂肪酸である 16:1 ω 7t が寄与し, マイナス側には 18:1 ω 5, cy19:0 などのグラム陰性菌指標の脂肪酸が寄与していた。

表 1. 2 ヶ月目, 12 ヶ月目および 24 ヶ月目の腐朽材中の脂肪酸主成分分析の第 1 軸および第 2 軸に寄与する脂肪酸

		PC1	PC2			PC1	PC2
Positive weights				Negative weight			
Ba	G+	i15:0 a15:0 i16:0 i17:0 a17:0	i15:0 a15:0 i16:0 i17:0 a17:0 19:1	Ba	G+	i16:1	
					G-		18:1 ω 5 cy19:0
				Fu		18:2 ω 6,9	
	G-	16:1 ω 9 cy17:0 18:1 ω 5 cy19:0	16:1 ω 7t	n.a.		15:0	16:0 br17:0 18:1 ω 7t 18:0
	Act	10Me16:0					
	n.a.	16:0 18:1 ω 7t 18:0	15:0 17:0				

>0.1 <0.1
Ba:バクテリア, G+:グラム陽性菌, G-:グラム陰性菌, Act.:放線菌, Fu:真菌, n.a.:不特定PLFA

4. 4. まとめ

微生物の指標物質であるリン脂質脂肪酸 (PLFA) を試料から抽出し, 分析することによ

り, 森林内での初期の木材腐朽過程における微生物群集構造遷移の動態を明らかにしようとした。

その結果, 以下の事柄が明らかとなった。

- 土壌中の, 微生物生体量としての総 PLFA および他の微生物指標 PLFA について検討したところ, 尾根部の土壌は他の試験地とは異なる微生物群集構造を有することが示唆された。
- 木杭の腐朽率は, コジイ, スギ辺材および心材ともに, 埋設期間が長くなるほど増加する傾向が認められ, とくにコジイ材では 24 ヶ月経過後には約 16%に達していた。3 種類の試験材で腐朽率を比較すると, 広葉樹のコジイは, 針葉樹スギの辺材, 心材と比較して約 2-3 倍高くなる傾向が見られた。
- 木杭表層部の微生物バイオマスの指標となる総 PLFA 量は, 3 試験材ともに, 12 ヶ月後までに急速に増加したが, 12 ヶ月から 24 ヶ月にかけては, 大きな変動は認められなかった。24 ヶ月目で比較すると, スギ心材, スギ辺材, コジイの順に微生物バイオマスは高くなり, 針葉樹と広葉樹とでは大きな差があることが示された。
- 主成分分析を用いて谷における腐朽材表層部の群集構造を検討したところ, 埋設直後の 2 ヶ月目のコジイ材, スギ辺材および心材には群集構造の違いが認められたが, 12 ヶ月後にはコジイ材とスギ辺材間に, 24 ヶ月後にはこれらとスギ心材の間にも群集構造の違いが認められなくなった。すなわち, 腐朽に伴う木杭表層部の微生物群集構造は, コジイ材では埋設直後に, スギ辺材では最初の 12 ヶ月の間にそれぞれ大きく変動し, スギ心材では 2 年間にわたるゆるやかな遷移が認められ, 2 年後には 3 腐朽材ともにほぼ同様

の群集構造を示すことが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① Matsushita, M., Meguro, S., Kawachi, S. Structure of soil microbial communities in sugi plantations and seminatural broad-leaves forests with different land-use history, Canadian Journal Forest Reserch, 査読有, Vol. 37, 2007, pp 236-246,
- ② 松下美歩, 山谷奈津子, 目黒貞利, 河内進策, スギ人工林における微地形の違いが土壌微生物群集構造に及ぼす影響, 宮崎大学農学部研究報告, 査読有, 53 巻, 2007, 67-75,
- ③ 松下美歩, 羽藤綾美, 目黒貞利, リン脂質脂肪酸分析法を用いた森林内での木材腐朽過程における微生物群集構造変化の推定, 日本木材学会誌, 査読有り, 54 巻, 2008, 289-298

[学会発表] (計4件)

- ① 羽藤綾美, 松下美歩, 目黒貞利, 森林内での木材腐朽過程における微生物群集構造の遷移, 第57回日本木材学会大会, 広島, 2007, 8.
- ② 羽藤綾美, 雫子谷佳男, 高木正博, 伊藤哲, 目黒貞利, 微生物群集構造遷移にもとづく森林内での木材腐朽過程の動態分析(1), 第58回日本木材学会大会, つくば市, 2008, 3.
- ③ 大字根菜緒, 雫子谷佳男, 羽藤綾美, 高

木正博, 伊藤 哲, 目黒貞利, 微生物群集構造遷移にもとづく森林内での木材腐朽過程の動態分析(2) - 腐朽面のSEM観察 -, 第58回日本木材学会大会, つくば市, 2008, 3.

- ④ 羽藤綾美, 新田亜美, 松下美歩, 雫子谷佳男, 高木正博, 伊藤 哲, 目黒貞利, 微生物群集構造遷移にもとづく森林内での木材腐朽過程の動態分析(3) - 埋設1年後の木杭表層における群集構造遷移 -, 第16回日本木材学会九州支部大会, 沖縄市, 2009, 11.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計0件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

<https://umdb.of.miyazaki-u.ac.jp/webopen/search?method=view&id=617>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

目黒 貞利 (MEGURO SADATOSHI)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：50112321

(2) 研究分担者

雉子谷 佳男 (KIJIDANI YOSHIO)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：10295199

高木 正博 (TAKAGI MASAHIRO)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：70315357

伊藤 哲 (ITO SATOSHI)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：00231150

(3) 連携研究者

なし