

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06133

研究課題名(和文) 環境攪乱に対する土壌動物群集の変化を安定同位体比によって簡易に計測する手法の開発

研究課題名(英文) Development of a simple method for measuring changes in soil faunal communities against environmental disturbances using stable isotope ratios

研究代表者

長谷川 元洋 (Hasegawa, Motohiro)

同志社大学・理工学部・教授

研究者番号：70343811

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：生態系の攪乱によって、土壌動物群集構造の破壊が生じているかどうかを簡易かつ定量的に計測する手法として、安定同位体比を計測する手法の有効性を検討した。人工的な攪乱(落葉の除去)及び、イノシシによる攪乱がトビムシやダニの安定同位体比に与える影響を解析した結果、一部の分類群の炭素及び窒素の安定同位体比に、攪乱区と対照区の間で有意な差が確認された。以上から、土壌動物の安定同位体比を目標レベルでまとめて計測することで攪乱の検知が可能であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然生態系で生じる多様性と機能の損失を検出することは容易ではない。土壌動物は非常に多様な群集を形成することが知られており、様々な攪乱の指標生物として利用されている。しかし、種レベルの同定には専門的知識が必要である。一方、本研究で開発された安定同位体を用いた手法を用いることで、高度な分類学的知識なしに、攪乱の影響を検知することができた。今後、生物多様性保全に有効な施業手法の探索などにこの手法が利用されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The effectiveness of the stable isotope ratio measurement method was investigated as a simple and quantitative method to measure whether the soil faunal community structure is destroyed by the disturbance of the ecosystem. The effects of artificial disturbance (removal of fallen leaves) and disturbance by wild boars on the stable isotopes of Collembola and mites showed that the stable isotope ratios of carbon and nitrogen was investigated. As a result, in some taxa, significant differences of the stable isotope ratios were confirmed between control and disturbed plots. From the above, it was found that the disturbance can be detected by collectively measuring the stable isotope ratios of soil animals at the order level.

研究分野：土壌生態学

キーワード：土壌動物 攪乱 炭素・窒素同位体比 トビムシ ササラダニ トゲダニ

1. 研究開始当初の背景

生物多様性が、生態系機能の多様性や、その冗長性、安定性を担保している事がしばしば指摘されている (Lavelle et al. 2006)。一方、自然生態系は膨大な多様性を擁しており、実際に生じる多様性と機能の損失を検出することは容易ではない。そこで本研究では、土壤動物を対象として、生物多様性の1つの評価手法として群集平均値を評価する新しいアプローチにより、野外レベルの多様性及び機能の損失が現実に生じていることを検出する。土壤動物は、様々な攪乱の指標生物として利用されており、その群集の変化のパターンを捉え、環境変数との関係性を明らかにする事で、生物多様性が維持できるような工事や施業手法を提案できる。土壤動物のうちトビムシ、ダニなどは非常に多様な群集を形成することが知られており、種レベルの同定には専門的知識が必要である。環境の攪乱による土壤生物への影響は、土壤中の見えない変化を迅速に検出する必要があり、せめて調査当年内での被害判定が可能な手法の開発が急務である。近年、土壤動物の食性の分化が安定同位体の分析から明らかになりつつある (Hyodo et al. 2016)。炭素と窒素の安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$) は節足動物の食性解析に広く使われてきた。この手法は、動物の体組織の同位体比が餌資源の同位体組成を反映することに基づいている。このような安定同位体比を、土壤の有機物層および土壤層の各層位に生息する動物の値を表面から深さごとに計測すると、深層ほど特に $\delta^{13}\text{C}$ 値が高くなることが報告されている。

森林等における攪乱の影響を調べると、攪乱を受けた場所では表層性の種が減少する一方、土壤の深い層の種はほとんど影響が無いという結果が得られている (Hasegawa et al. 2009)。ここで、攪乱を受けた区と対照区とで、分類群全体 (例えば、トビムシ目の全個体) をまとめたサンプルの安定同位体を計測したならば、攪乱を受けた場所では主に表層性の安定同位体比の低い種群が含まれなくなる為に、全体としての安定同位体比がより高くなる事が予測される (図1参照)。この関係の一般性が確認できれば、土壤動物を種レベルで同定することなく、同定の容易な目レベルでまとめたサンプルを作成して、安定同位体比を計測することによって、攪乱による群集構造の破壊が生じているかどうかを簡易かつ定量的に計測することができ、同定のコストと時間を大きく短縮できるという状況であった。

2. 研究の目的

この研究の目的は、土壤動物群集構造の破壊を簡易に計測する手法を確立するために、その前提条件として、トビムシ目を対象として目全体をまとめて安定同位体を計測し、攪乱区において目全体の安定同位体比が対照区より高くなることを確認することである。

3. 研究の方法

本研究は (1) ~ (3) の3つの研究から構成されている。(1)では、地表の攪乱を模して人為的にリターを除去するという攪乱が、安定同位体比を用いた手法で検知することができるかを検証する。(2)では、実地例として、野生のイノシシによって地表面が頻りに掘り返されている森林において、イノシシによる攪乱を防ぐことにより土壤動物群集が回復する過程を、安定同位体比によって検知できるかを検証する。(3)は (1) および (2) の調査に必要な手法の開発を目的としている。

(1) 人工的に攪乱をした林床のトビムシ群集の安定同位体比が変化するか？

-**調査地の設定**：京都大学フィールド研究センター上賀茂試験地の落葉の堆積した森林内に、林床を除去したコドラート (2m 四方) と無処理のコドラートを各 12 箇所設定した。

-**サンプルの採集**：安定同位体の計測---林床除去処理直前および、2, 14, 26, 38 ヶ月後にそれぞれのコドラートから土壤コアを 2 個採取し、ツルグレン装置を用いてトビムシを抽出し、1 個はトビムシ群集を種毎に分け、もう 1 個は全群集まとめて、安定同位体を計測する。安定同位体の計測においては、検出限界の問題により、大型の分類群では数個体、小型のものでは数百個体をまとめて計測する必要がある。また、各コドラートの土壤有機物層を採集し、安定同位体比を計測する。これらの値から、生じた安定同位体比の変化が、群集の種構成の変化、環境自体の安定同位体比の変化、各種の攪乱に対する反応性の違いによるものかを明らかにする。

(2) イノシシの攪乱を制御すると土壤動物群集の安定同位体比が変化するか？

-**調査地の設定**：高知県土佐清水市の佐田山試験地において、イノシシによる地表面の著しい攪乱を受けた林床にステンレス製の網カゴを 10 箇所設置し、その近傍に対照区を設置する。

-**サンプルの採集**：安定同位体の計測---網カゴ設置直前、および 2 年後に網カゴ内外から土壤コアを 2 個採取し、ツルグレン装置を用いてトビムシおよびダニ類を抽出し、全群集をまとめて安定同位体比を計測した。以下、(1) と同様の処理を行う。

(3) 固定液を用いずにトビムシをツルグレン装置で抽出する手法の開発

ツルグレン装置を使用する場合、トビムシはエタノール等の固定液に抽出することが多いが、

固定液の成分が検体の安定同位体比に影響を与える可能性が指摘されている。そのため、先行研究では、熱水による固定や、一定の補正項による同位体比の換算などの手間が掛かり、不正確な方法がとられてきた。そこで本研究では、固定液を使わずにペルチェ素子を用いて冷却した瓶に直接トビムシを抽出し、瞬時に凍結させる装置を開発する。

4. 研究成果

(1) 人工的に攪乱をした林床のトビムシ群集の安定同位体比が変化するか？

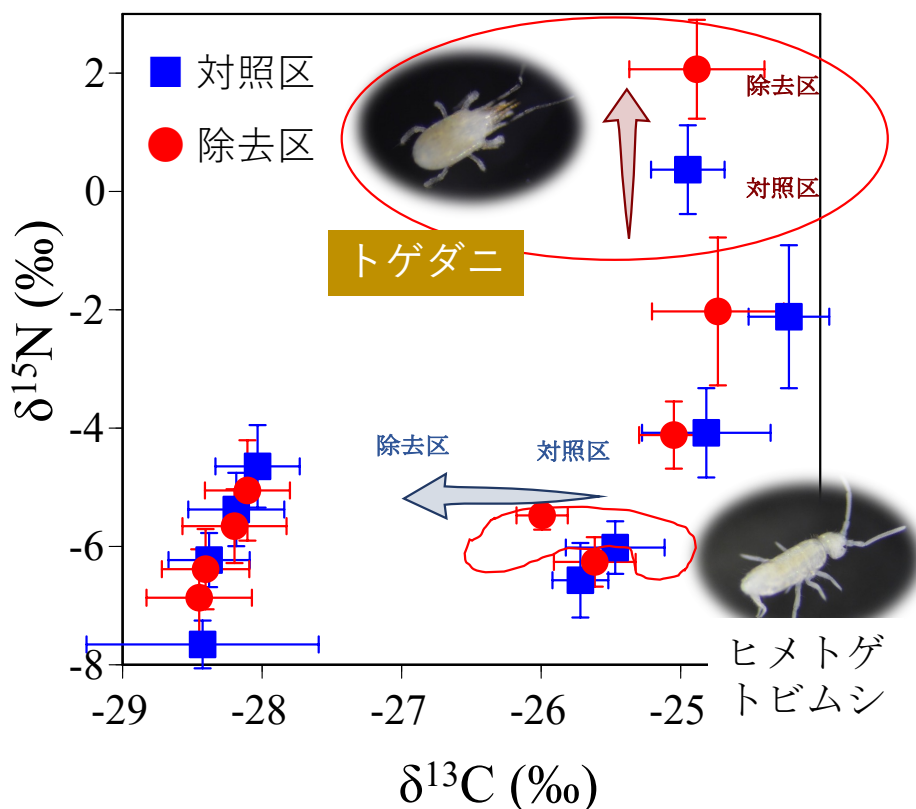


図1. 落葉除去後2ヶ月目における各土壌動物分類群と落葉の $\delta^{13}\text{C}$ (横軸) と $\delta^{15}\text{N}$ (縦軸) エラーバーは標準誤差

住み場所となる土壌有機物層自体の安定同位体比は、処理区間で大きく変化しなかった。落葉の除去後2ヶ月において、除去区と対照区で採集した土壌動物を目レベルでまとめて計測し、両区の安定同位体比を比較したところ、トゲダニ亜目では、除去区において窒素安定同位体比が高い傾向が見られ(図1)、この傾向は14ヶ月目でも同様であった。また、主要なトビムシ4種については、表層性のヒメトゲトビムシにおいて、落葉の除去後2ヶ月目、14ヶ月目においては除去区で炭素安定同位体比が低い傾向が見られた。トビムシ群集の組成は除去後2ヶ月目の時点では、表層性の種の割合が除去区が少ない傾向があったが、14ヶ月目には処理区間での種組成の差は見られなくなっていた。

以上の結果は、トゲダニについては、落葉除去により落葉層の深い層に生息する餌に依存するようになったことを反映していると考えられた。一方、表層性のトビムシについては攪乱によって摂食する餌が変化していることを示唆していると考えられた。以上から、安定同位体比による土壌動物群集に与える攪乱の影響の検知は、一部の土壌動物の分類群においては、目レベルでまとめて計測することで可能であることがわかった。一方、トビムシにおいては種レベルで反応が異なることが示され、こうした同位体の反応がトビムシの種組成の差が見られない14ヶ月後も続いていることが明らかになった。

(2) イノシシの攪乱を制御すると土壌動物群集の安定同位体比が変化するか？

土壌動物の安定同位体は目・亜目レベルでまとめたトビムシ、トゲダニ、ササラダニと、2mm以上とそれ以下のサイズで画分した堆積有機物を対象として $\delta^{13}\text{C}$ ・ $\delta^{15}\text{N}$ を測定し、処理区間の差を一般化線形混合モデルで解析した。安定同位体比はササラダニの $\delta^{15}\text{N}$ が設置2年後のイノシシ排除区で有意に増加した(図2)。一方でササラダニの餌資源となる土壌有機物の同位体比は変化しなかった。このことから掘り返しに伴う土壌有機物と鉱物質土壌の混合やそれに伴うリターのすき込みがササラダニの群集構造や餌資源の安定同位体比に変化を及ぼすことが考えられた。4分類群の個体数はいずれもイノシシ排除区で有意に増加した。トビムシの種数もイノシシ排除区で増加した。また、処理区間のトビムシの種組成の差異を解析した結果、ヒメトゲトビムシやカギヅメハゴロモトビムシ属といった表層を中心に生活している種が特にイノシシ排除

区で多く見られることが示された。ササラダニの群集構造は、本調査と並行して行った同様の実験において、種数の減少、群集構造の処理区間の相違が観察されている。以上から、イノシシの存在の有無は土壤動物が存在する上で重要な環境要因であると考えられた。すなわち、イノシシの掘り返しは土壤層の混合による物理的なストレスを土壤動物に与えることで個体数を減少させ、その影響は特に表層で強く特にササラダニでは、それが同位体比に反映されていると考えられた。

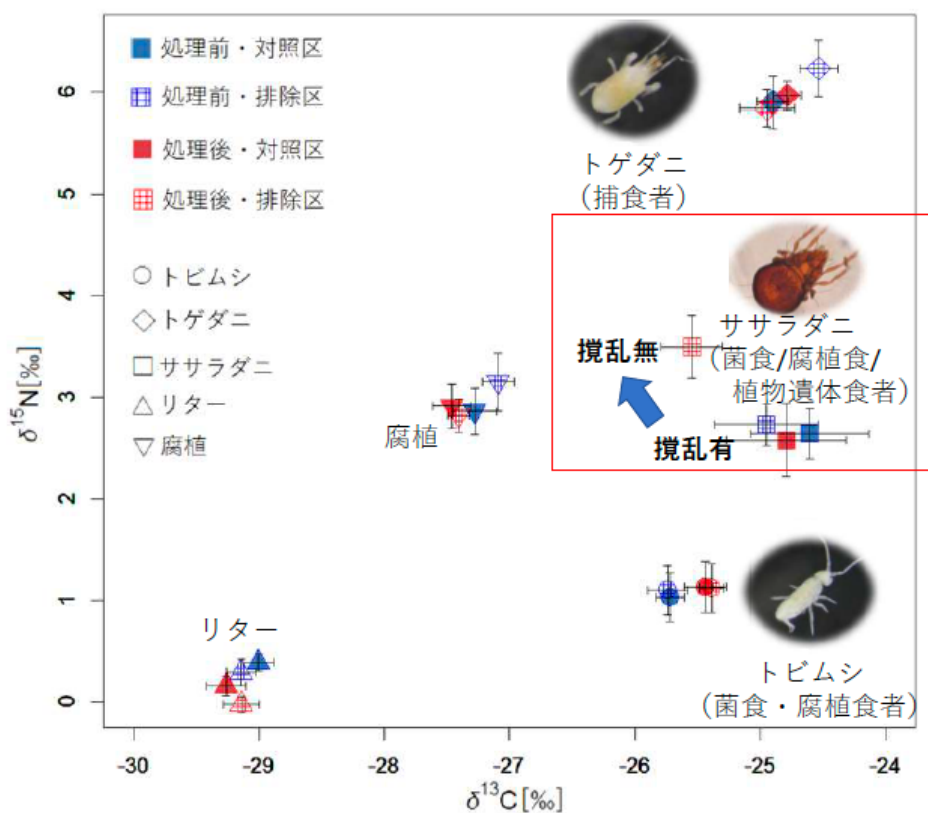


図 2. 各土壤動物分類群と落葉の $\delta^{13}\text{C}$ (横軸) と $\delta^{15}\text{N}$ (縦軸)
エラーバーは標準誤差

(3) 固定液を用いずにトビムシをツルグレン装置で抽出する手法の開発

現在一般に流通する冷却装置は冷媒をもちいたコンプレッサー方式と、熱電効果（ペルチェ効果）をもちいた半導体方式に大別される。コンプレッサー方式は装置への揚水・漏水を生じないチャンネルの施工・厳重な断熱処理・大掛かりな装置や施工が必要であることから、本研究では、ペルチェ素子に絞って装置開発をおこなった。まず市販の単層ペルチェ素子と二層式のカスケードペルチェによる到達温度を比較した結果、ワットあたりの室温からの温度降下 (ΔC) は二層式のほうが優れていることが確認された。しかしながら、市販のカスケードペルチェは高価であったため、安価な単層ペルチェ素子を熱伝導シリコンで接着して二層とし、一層目に流す電力と二層目に流す電力を変えた簡易なカスケード方式のペルチェ冷却装置を自作した。消費電力と冷却性能のバランスを勘案した結果、最終的には一層目を約 10W (5V 2A)、二層目を約 18W (6V 3A) で駆動することとした。

続いて、ペルチェ素子から発生する熱の発散の方式について検討した。ペルチェ素子は熱電効果によって熱を表面から裏面へと移動する半導体であり、この過程で熱損失が発生する。この損失は熱仕事量を上回るため、ペルチェ素子による冷却においてはコンプレッサー方式以上に冷却機構の開発が必須である。開発にあたっては、ペルチェ素子のヒートシンク直付による空冷方式と、循環水をペルチェ素子裏に流し、ラジエーターで熱を発散させる水冷方式の二つを比較した。その結果、空冷方式では装置の個体差が大きかった。この要因として、現実の設置条件下では冷却装置同士が近接しており、冷却装置同士が干渉した結果、温度の上昇した空気が十分に発散・換気されなかったことが考えられた。また、これに対し、水冷方式では水流制御の観点から、循環水を直列つなぎとしていたが、吸収すべき熱量に対して水流が十分早かったために、循環水の上流で温度が低く、下流で温度が高くなるといった系統的な違いの影響は軽微であったと考えられた。

この結果を踏まえて、更なる装置の改良策として、ペルチェ素子の一層目と二層目を分離し、一層目を抽出装置内に配置し、二層目を抽出装置外に配置して、両者を循環水で接続することを発案した。この改修により、使用するペルチェ素子の数の削減と、二層目を大電力で駆動して集約的に空冷することによる放熱性の改善、電機配線の単純化を達成した。最終的に完成した装置

は、冷却装置 5 機を 1 ユニットとし、10W で駆動する 1 層目のペルチェ素子 5 個と約 100W で駆動するペルチェ素子 1 個ならびに水循環用モーター類や放熱ファンなどを加えて、合計 160W 程度で駆動する仕様となった。消費電力は前出の水冷モデルと同等であり、到達温度は氷点下に達したことから、冷却効率としても改善案が優れていると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Masumoto Shota, Kitagawa Ryo, Nishizawa Keita, Osono Takashi, Hasegawa Motohiro, Iimura Yasuo, Matsuoka Shunsuke, Kaneko Ryo, Uchida Masaki, Mori Akira S.	4. 巻 27
2. 論文標題 Integrative assessment of the effects of shrub coverage on soil respiration in a tundra ecosystem	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Polar Science	6. 最初と最後の頁 100562 ~ 100562
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.polar.2020.100562	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuoka Shunsuke, Doi Hideyuki, Masumoto Shota, Kitagawa Ryo, Nishizawa Keita, Tanaka Kaho, Hasegawa Motohiro, Hobara Satoru, Osono Takashi, Mori Akira S., Uchida Masaki	4. 巻 27
2. 論文標題 Taxonomic, functional, and phylogenetic diversity of fungi in a forest-tundra ecotone in Qu?bec	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Polar Science	6. 最初と最後の頁 100594 ~ 100594
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.polar.2020.100594	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 長谷川元洋	4. 巻 87
2. 論文標題 小笠原の土壌動物	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 森林科学	6. 最初と最後の頁 11-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11519/jjsk.87.0_11	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 長谷川元洋、原口岳、藤本修平、佐藤圭一郎、吉田創志
2. 発表標題 炭素・窒素安定同位体比を用いた環境攪乱に対する中型土壌動物の反応の検知
3. 学会等名 日本土壌動物学会第43回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原口岳、長谷川元洋
2. 発表標題 カスケードベルチェによる土壌動物抽出装置下での試料冷却装置の設計検討
3. 学会等名 日本土壌動物学会第43回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原口岳、吉田創志、藤本修平、佐藤圭一郎、長谷川元洋
2. 発表標題 リター除去より1年超経過後の土壌食物網：炭素窒素安定同位体分析による検討
3. 学会等名 JPGU-AGU Joint Meeting
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 HASEGAWA M, HARAGUCHI T F, FUJIMOTO S, SATO K
2. 発表標題 Soil meso-faunal response to forest-floor disturbance: using carbon and nitrogen stable isotope measurements to a litter manipulation experiment
3. 学会等名 XVIII International Colloquium on Soil Zoology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川元洋、豊田鮎、原口岳、佐藤重穂
2. 発表標題 照葉樹林におけるイノシシの攪乱がササラダニ群集に与える影響
3. 学会等名 日本生態学会第69回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大原秀斗, 原口岳, 長谷川元洋, 豊田鮎, 佐藤重穂, 大園享司
2. 発表標題 イノシシの攪乱が照葉樹林の土壤動物群集に与える影響: 安定同位体比を用いた評価
3. 学会等名 日本生態学会第69回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原口 岳, 藤本 修平, 佐藤 圭一郎, 長谷川 元洋
2. 発表標題 土壤攪乱によってもたらされる土壤小型節足動物の栄養ニッチシフト: 炭素窒素安定同位体分析をもちいた評価」
3. 学会等名 JPGU-AGU Joint Meeting, on-line
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷川 元洋、岡部 貴美子
2. 発表標題 針葉樹人工林と落葉広葉樹林の間の土壤の交換が土壤ダニ群集構造に与える影響
3. 学会等名 日本生態学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川元洋、岡部貴美子、稲垣善之
2. 発表標題 ヒノキ人工林の土壤ブロックの交換がトビムシ群集構造に与える効果- 2年の効果-
3. 学会等名 日本土壤動物学会第42回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原口岳、長谷川元洋
2. 発表標題 土壌小型節足動物の同位体分析を目的としたツルグレン装置の改良
3. 学会等名 日本土壌動物学会第42回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷川元洋、豊田鮎、原口岳、佐藤 重穂
2. 発表標題 照葉樹林におけるイノシシの攪乱が森林の土壌動物群集に与える影響
3. 学会等名 日本生態学会第67回大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 長谷川元洋	4. 発行年 2020年
2. 出版社 京都大学学術出版会	5. 総ページ数 41
3. 書名 群集構造を記述するモデルと指数、編集)大串 隆之、近藤 倫生、難波 利率、生物群集を理解する	

1. 著者名 一澤圭、中森泰三、田村浩志、須摩靖彦、古野勝久、田中真悟、新島恵子、長谷川元洋、伊藤良作	4. 発行年 2020年
2. 出版社 權歌書房	5. 総ページ数 107
3. 書名 粘管目、日本昆虫目録 第1巻 無翅昆虫類、町田龍一郎(編)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	豊田 鮎 (Toyota Ayu) (50730800)	香川大学・農学部・准教授 (16201)	
研究分担者	原口 岳 (Haraguchi Takashi) (90721407)	地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所(環境研究部、食と農の研究部及び水産研究部)・その他部局等・研究員(任期付) (84410)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関