

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K12411

研究課題名(和文) 森林攪乱に伴う土壌の機能的コア微生物叢の改変が生態系修復に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) Influence of the alteration of functional core microbiota by forest disturbance on ecosystem restoration

研究代表者

平尾 聡秀 (Hirao, Toshihide)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・講師

研究者番号：90598210

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)：本研究では、シカによる森林の植生衰退が土壌機能の低下を引き起こし、植生回復を阻害する負の植物-土壌フィードバック作用のメカニズムを明らかにするために、樹木実生と土壌微生物間の相互作用を分析した。その結果、植生衰退に伴う土壌中の養分動態の変化が土壌微生物の活性を低下させ、次世代の植物の成長に履歴効果として作用すること、また植物の機能グループ間で応答が異なることが明らかになった。本研究から、森林の植生衰退は、土壌微生物叢の変化によって植生回復を阻害するに留まらず、植生衰退以前と異なる植生への遷移を引き起こす可能性があることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、シカによる森林の植生衰退が環境保全上の大きな課題になっており、生態系修復のため、シカ排除柵が設置されているが、植生回復が十分進まない事例も多い。その原因として植生衰退に伴う土壌機能の低下が植生回復を阻害する負の植物-土壌フィードバック作用が提唱されている。本研究では、シカによる植生衰退が土壌微生物叢の変化を通じて土壌機能を損なう可能性があることを明らかにした。この成果は、植食者を介した地上部-地下部相互作用が履歴効果として森林生態系に影響を及ぼすことについて新たな知見を示すとともに、植生変化の予測や生態系修復の技術の発展に寄与すると期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, interactions between tree seedlings and soil microbes were analyzed to examine the mechanism of negative plant-soil feedback effects, in which deer-induced forest vegetation decline causes degradation of soil functions and impedes vegetation recovery. The results revealed that changes in soil nutrient dynamics associated with vegetation decline reduce the activity of soil microbes, which acts as a legacy effect on the growth of the next generation of plants, and that responses differ among plant functional groups. This study suggests that forest vegetation decline may not only impede vegetation recovery due to changes in soil microbiome, but may also cause a transition to vegetation that is different from that prior to vegetation decline.

研究分野：森林生態学

キーワード：機能遺伝子 樹木実生 硝化作用 植生衰退 植物-土壌フィードバック 土壌微生物叢 ニホンジカ  
履歴効果

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

近年、狩猟圧の減少や土地利用の変化により、各地でニホンジカ *Cervus nippon* の個体群密度が増加し、その植食圧によって森林植生が急速に衰退しつつある。その結果、森林の生態系サービスにも顕著な影響が現れており、生態系修復の取り組みが環境保全上の大きな課題になっている。

シカによって引き起こされる森林攪乱に対する生態系修復の主要なアプローチの1つとして、シカ排除柵の設置が挙げられる。当初はシカ排除柵内の光環境を適切に制御することで、植生の回復が見込めると考えられていたが、植生回復が十分進まない事例も多いことが次第に明らかになってきた。この現象を説明する仮説として、シカによる植生衰退が土壌機能を改変し、それが植生回復を阻害するという、負の植物 - 土壌フィードバック作用が提唱されている。

植生衰退に伴う負の植物 - 土壌フィードバックについては、これまで養分動態に基づくメカニズムが調べられてきた。植生衰退によって、成長の遅い植物が減少し、成長の速い植物が増加する。また、植生衰退は土壌表層におけるリターの流亡を促進する。それに伴って、土壌中から可給態窒素が枯渇し、次世代の植物の成長に負の影響を及ぼすと考えられている。

しかし、養分動態に基づく負の植物 - 土壌フィードバックを引き起こす植物と土壌微生物の相互作用については、これまで明らかにされていない。最近では、植物個体の生存や成長に関係する固有の「機能的コア微生物叢」が存在することが認識されている。そのため、植生衰退に伴い、土壌微生物叢の機能がどのように改変され、土壌微生物叢の変化が植物にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることが、植生衰退に伴う負の植物 - 土壌フィードバックを理解する鍵になると考えられる。そのため、植生衰退と土壌微生物の機能の変化を定量的に分析し、シカによる植生衰退が土壌機能に及ぼす影響を解明する必要がある。

## 2. 研究の目的

本研究では、野外調査と操作実験により、樹木実生の動態と土壌微生物叢の機能の関係を定量分析し、シカによる植生衰退が土壌微生物叢の改変を通じて森林の生態系修復に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。具体的には、次の2つの課題に取り組んだ。

### (1) シカによる植生衰退は土壌微生物叢をどのように改変するのか？

シカによる植生衰退は、土壌の攪乱と貧栄養化によって、特に有機態窒素の無機化と硝化プロセスにかかわる土壌微生物の活性が低下すると予測される。多地点のシカ排除柵内外で調査を行い、改変された土壌微生物叢を特定する。

### (2) 改変された土壌微生物叢は樹木実生の動態をどのように変化させるか？

樹木は外生菌根菌 EMF と共生するグループとアーバスキュラー菌根菌 AMF と共生するグループに大別される。前者は EMF が有機態窒素を直接利用できるため、有機物に富む土壌環境下で相対的に成長率が高く、後者は AMF が他の土壌微生物による無機態窒素の供給に依存しているため、有機態窒素の無機化や硝化作用が活発な土壌環境下で相対的に成長率が高いと予測される(図1)。シカ柵内外で樹木実生と土壌の相互移植を行い、土壌微生物叢の実生動態への効果を検証する。

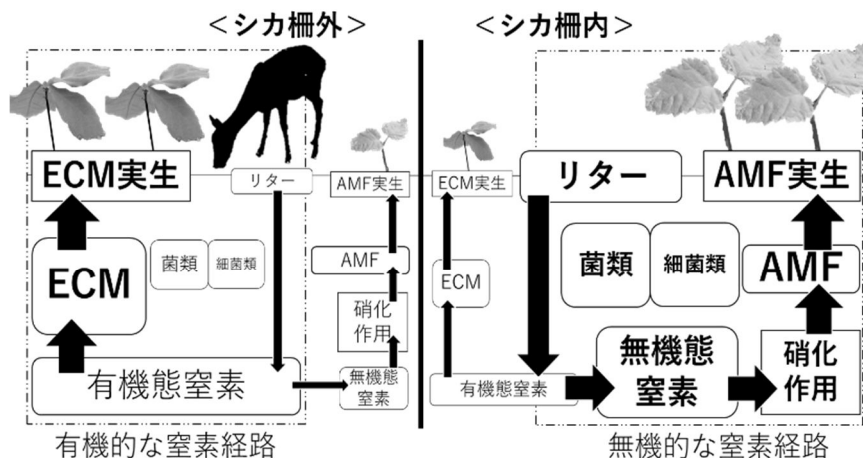


図1.シカ柵内外の土壌中における窒素経路とアーバスキュラー菌根菌 AMF・外生菌根菌 ECM 共生植物の成長率の差異

### 3. 研究の方法

東京大学秩父演習林において、標高 800 m~1,800 m の冷温帯林に 2013 年に設置された 15 カ所のシカ排除柵を利用した。シカ排除柵内外に 30 m 四方の調査区（シカ排除区・対照区）を設置し、調査区に出現する全樹木個体について、樹種の同定と胸高周囲長の測定を行った。この調査区において、次の 2 つの課題に取り組んだ。

#### (1) 植生衰退に伴う土壤微生物叢の変化の評価

30 カ所の各調査区に 2 m 四方の方形区を 5 個設置して、展葉後（6 月）と落葉前（9 月）に下層植生の被度と種数を測定した。また、各方形区から深度別（0 cm・10 cm）季節別（6 月・9 月）に土壌を採取して、ゲノム DNA を抽出し、菌類の rRNA ITS2 領域と細菌類の 16S rRNA 遺伝子を対象とした土壤微生物叢のアンプリコンシーケンス解析を行った。これらのうち、標高 1,400 m 付近に位置しており、植生が同等な 6 ケ所の調査区について、土壌から総 RNA を抽出して逆転写し、菌類と細菌類の活性、および硝化機能遺伝子の活性を定量 PCR により測定した。また、土壌の硝酸態窒素濃度とアンモニア態窒素濃度を測定した。これらのデータから、シカ柵内外で下層植生の被度・種数の違いと土壤微生物叢の違いを比較し、植生衰退に伴って変化する土壤微生物叢を評価した。

#### (2) 実生動態に対する土壤微生物叢の効果の検証

調査区のうち標高 1,400 m 付近に位置し、植生が同等な 6 ケ所において、各調査区に 2 m 四方の方形区を 3 個設置して、展葉後（6 月）と落葉前（9 月）に樹木実生の成長速度・死亡率の調査を行った。この際、シカ排除柵外の対照区は植食による樹木実生の枯損を防ぐため一時的なシカ柵を設置して保護した。また、上層木で優占する EMF 共生樹木のウダイカンバ *Betula maximowicziana* と AMF 共生樹木のウリハダカエデ *Acer rufinerve*・ナンゴクミネカエデ *A. australe* の種子を採取した。同じ 6 ケ所の調査区において、落葉後（10 月）にシカ排除区と対照区から 400 mL の土壌コアを 24 個ずつ採取し、シカ排除区と対照区間で相互移植した。これらの相互移植した土壌に、採取したウダイカンバとウリハダカエデの種子を播種し、発芽した実生の成長速度と死亡率を測定した。そして、次の統計モデルにより、土壌の由来・樹木実生の由来・環境要因が、移植した土壌と本来の土壌の実生動態に及ぼす影響を解析した。実生動態  $Y = \alpha + \beta_1 \times \text{土壌の由来} + \beta_2 \times \text{樹木実生の由来} + \beta_3 \times \text{環境要因} + \varepsilon$ 。これによって、植生衰退による土壤微生物叢の変化が実生動態に及ぼす効果を定量的に評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) 植生衰退に伴う土壤微生物叢の変化の評価

下層植生については、対照区よりもシカ排除区で有意に被度と種数が大きかった。また、DNA に基づいて解析した土壤微生物叢のうち、菌類については、シカ排除区よりも対照区で有意に EMF の優占度が大きかった。一方で、細菌類については、シカ排除区と対照区の間で機能的な違いは見られなかった。さらに、RNA により活性のある土壤微生物叢を解析した結果、菌類と細菌類の活性については、シカ排除区よりも対照区で有意に大きかった。また、硝化機能遺伝子の活性について、全細菌量あたりの硝化機能遺伝子量は、対照区よりもシカ排除区で有意に大きかった。なお、アンモニア態窒素濃度についてはシカ排除区と対照区の間で有意差が見られなかったが、硝酸態窒素濃度については対照区よりもシカ排除区で有意に大きかった。

#### (2) 実生動態に対する土壤微生物叢の効果の検証

樹木実生の調査の結果、AMF 共生樹木の実生成長速度は、シカ排除区よりも対照区で有意に小さく、逆に EMF 共生樹木の実生成長速度は、シカ排除区よりも対照区で有意に大きくなった。なお、AMF 共生樹木と EMF 共生樹木のどちらも、シカ排除区と対照区の間で死亡率に有意な違いは見られなかった。また、樹木実生と土壌の相互移植については、EMF 共生樹木のウダイカンバが十分に発芽しなかったため、AMF 共生樹木のウリハダカエデ・ナンゴクミネカエデについてのみ実施した。その結果、両種とも、シカ排除区由来の土壌よりも、対照区由来の土壌において、有意に実生成長率が小さくなった。なお、樹木実生の由来と環境要因については、有意な効果を示さなかった。

シカ排除柵外の対照区における硝化機能遺伝子量の低下は、植生衰退に伴う土壤環境の改変が硝化プロセスの不活性化を引き起こすことを示唆している。一方、菌類・細菌類の活性はシカ排除柵外の対照区で増加しており、土壤微生物へ窒素が不動化されていると考えられる。そして、利用可能な硝酸態窒素量が減少することによって AMF 共生樹木の実生成長速度が減少するのに対して、利用可能な有機態窒素量が増加することにより EMF 共生樹木の実生成長速度は増加したと考えられる。シカ排除柵外の対照区において、菌類・細菌類の活性が高まった理由として、シカの掘り起こしや踏圧などによる土壌の耕耘や、窒素獲得を巡り競争関係にあった下層植生の衰退などが要因として考えられる。

以上の結果から、植生衰退に伴う攪乱が土壤微生物機能を改変することによって、樹木実生に

対する負の植物 - 土壌フィードバック効果を発揮しており、その作用が AMF 共生樹木と EMF 共生樹木の間で大きく異なることが示された。このことは、シカによる植生衰退が、負の植物 - 土壌フィードバック効果を通じて植生回復を阻害するに留まらず、植生衰退以前と異なる植生への遷移を引き起こす可能性があることを示唆している。

国内では、シカによる植生衰退が深刻な地域において、多くのシカ排除柵が設置されており、生態系修復が取り組まれているが、既存の研究の多くは光環境や種子散布など地上部プロセスを調べており、植物 - 土壌フィードバックの影響への着目はまだ少ない。一方、国外では、植生衰退が負の植物 - 土壌フィードバックを通じて植生の遷移や更新に及ぼす影響について、取り組みが進められている。これまでに、植生衰退が土壌動物相や土壌微生物叢の変化を通じて炭素蓄積や養分動態に負の影響を及ぼすこと、菌根菌の活性を低下させることが明らかにされており、いずれも負の植物 - 土壌フィードバックをもたらしことが示されている。しかし、負の植物 - 土壌フィードバックを引き起こす植物と土壌微生物の相互作用については、明らかにされてこなかった。本研究は、土壌微生物叢の改変が、養分動態にかかわる土壌機能の変化として植生に多様な影響を及ぼすことを明らかにした点で、意義があると考えられる。

本研究の成果は、基礎科学として、負の植物 - 土壌フィードバックを引き起こすメカニズムの解明に資するだけでなく、応用科学として、生態系修復を阻害する要因の解明に貢献すると考えられる。例えば、植生衰退が起きた区域において、リターの流亡を防ぐ処置をすることで、土壌微生物叢の変化による土壌機能の低下を防ぐことができ、植生回復に寄与すると考えられる。この知見は「土壌を考慮した生態系修復」であり、森林以外の生態系修復への展開も期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hirao Toshihide、Fujii Masanori、Shigyo Nobuhiko、Kojima Hisaya、Fukui Manabu	4. 巻 87-88
2. 論文標題 Influence of understory vegetation on soil bacterial communities and nitrogen cycling gene abundance in cool-temperate and sub-alpine forests along an elevational gradient	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pedobiologia	6. 最初と最後の頁 150746
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pedobi.2021.150746	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 Shigyo Nobuhiko & Hirao Toshihide	4. 巻 50
2. 論文標題 Saprotrophic and ectomycorrhizal fungi exhibit contrasting richness patterns along elevational gradients in cool-temperate montane forests	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Fungal Ecology	6. 最初と最後の頁 101036
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.funeco.2020.101036	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 牧野結衣・平尾聡秀・梅木清	4. 巻 34
2. 論文標題 奥秩父山地におけるシカ不嗜好性植物2種の分布域拡大過程	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 環境情報科学論文集	6. 最初と最後の頁 156-161
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11492/ceispapers.ceis34.0_156	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 Shigyo Nobuhiko、Umeki Kiyoshi、Hirao Toshihide	4. 巻 10
2. 論文標題 Seasonal Dynamics of Soil Fungal and Bacterial Communities in Cool-Temperate Montane Forests	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1944
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2019.01944	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Takuya, Igarashi Yuji, Hirao Toshihide	4. 巻 5
2. 論文標題 Characterization of the complete chloroplast genome of <i>Betula chichibuensis</i> (Betulaceae), a critically endangered limestone birch	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mitochondrial DNA Part B	6. 最初と最後の頁 2166-2167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/23802359.2020.1768932	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計8件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 梅木清・平尾聡秀
2. 発表標題 奥秩父山地における航空レーザーデータを用いたササ稈密度の推定
3. 学会等名 第133回日本森林学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 本郷恵莉・平尾聡秀・梅木清
2. 発表標題 奥秩父山地における気温・地温の広域時系列予測モデル
3. 学会等名 第133回日本森林学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷川鴻介・平尾聡秀
2. 発表標題 植生衰退が土壤微生物機能の攪乱を介して実生更新に及ぼす履歴効果の解明
3. 学会等名 第132回日本森林学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平尾聡秀・原口竜成・山田利博
2. 発表標題 サワラ人工林における腐朽病害木と健全木の環境マイクロバイオームの違い
3. 学会等名 第132回日本森林学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nobuhiko Shigyo & Toshihide Hirao
2. 発表標題 Tree functional diversity regulates the diversity of soil fungal guilds in cool temperate montane forests
3. 学会等名 Asian Mycological Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 執行宣彦・平尾聡秀
2. 発表標題 土壌菌類ギルド間の相互作用が有機物分解に及ぼす影響
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 塚本宝・梅木清・平尾聡秀
2. 発表標題 シカ食害下の樹木動態と環境要因がリター生産量に及ぼす影響
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 牧野結衣・梅木清・平尾聡秀
2. 発表標題 奥秩父山地におけるシカ忌避植物と環境条件の関係
3. 学会等名 第131回日本森林学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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	森長 真一  (Morinaga Shin-Ichi)  (80568262)	帝京科学大学・生命環境学部・准教授    (33501)	

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
---------	---------