

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：82105

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580230

研究課題名(和文) 攪乱地の植生回復に貢献するハンノキ属樹種の窒素固定能力の樹種内・樹種間変動の解明

 研究課題名(英文) Estimation of symbiotic N₂ fixation in *Alnus* species by foliar ¹⁵N natural abundance at Mt. Ontake in Central Japan at different altitude on Mt. Ontake after a massive landslide

研究代表者

飛田 博順 (Tobita, Hiroyuki)

独立行政法人森林総合研究所・植物生態研究領域・主任研究員

研究者番号：10353781

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：ハンノキ属樹種は放線菌のフランキアと根で共生し大気中の窒素を利用する窒素固定能力を持つ。1984年に発生した木曾御嶽山の岩屑流跡地に更新したハンノキ属数樹種の窒素固定能力を、窒素安定同位体比を用いた手法により評価した。その結果、植生の回復が早い低標高(約1100 m)に生育するケヤマハンノキが、高標高(約2000 m)のミヤマハンノキとヤハズハンノキに比べて窒素固定能力が低いこと、高標高の2樹種間では窒素固定能力に差がないことが明らかになった。攪乱後30年たった現在、植生回復に伴う土壌の肥沃化の影響があるものの、依然としてハンノキ属樹種の窒素固定能力が高く維持されていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study is to clarify the difference among species and elevation in N₂ fixation in naturally established several *Alnus* species at the massive landslide area on Mt. Ontake, central part in Japan. The measurements were conducted at fixed-plots, which were set up at different elevations. The altitude of these plots was about 1100 m (Low site), about 1600 m (Middle site), and about 2000 m (High site). In this study, the N₂ fixation was estimated as the fractional contribution of biologically fixed N to the absorbed N from the foliar ¹⁵N data by ¹⁵N natural abundance method. The estimated N₂ fixation was lower in *A. hirsuta* at Low site, which showed the faster revegetation rate, than those at High site. *Alnus maximowiczii* and *Alnus matsumurae* at High site showed no difference in N₂ fixation. From these results, it was suggested that higher N₂ fixation in *Alnus* species would be maintained even after 30 years after the disturbance.

研究分野：樹木生理生態学

キーワード：ハンノキ属樹種 フランキア 窒素安定同位体比 窒素固定 御嶽山 植生回復 窒素循環

1. 研究開始当初の背景

微生物と植物の共生関係により大気中の窒素を利用する共生的生物窒素固定(以下、窒素固定と呼ぶ)は森林生態系の窒素循環の中の主要な一収束経路である。温帯や冷温帯域で窒素固定の役割を担うのは、主に、放線菌の一種のフランキアと共生関係を持つ一群の樹種(8科25属)である。その中でも世界に47種分布し、その全種で窒素固定を行う根粒の形成が確認されているハンノキ属樹種が重要な役割を果たしている。これらハンノキ属樹種の起源の中心は、種数の多さと固有種の多さから北東アジアだろうと考えられている。

ハンノキ属樹種の窒素固定能力は、荒廃地の緑化や攪乱を受けた窒素不足の立地の改善に利用されている。しかし野外に生育するハンノキ属樹種の窒素固定能の評価についてデータは不足している。林道工事跡地に天然更新したケヤマハンノキ林分で窒素固定能力の推定を行い、林分内の窒素循環における窒素固定量の寄与を評価した結果、落葉中に含まれる窒素量の約6割に相当する量を窒素固定により吸収していることが明らかになった。しかし、ケヤマハンノキ1樹種について一林分でのみ実施した評価であるため、ハンノキ属数樹種について多地点での窒素固定能評価が必要である。

また、地球規模での大気中の二酸化炭素(CO₂)濃度の上昇は、地球環境変動に関連する重要な課題の一つであるが、CO₂濃度の上昇に対する樹木の成長促進には、土壌からの十分な窒素供給が必要不可欠と考えられている。しかし、森林土壌では窒素供給が不足する場合がある。そのため窒素固定樹種による森林生態系への窒素供給機能が期待されている。これまでに、ケヤマハンノキのポット植栽苗を用いて環境制御実験を行い、CO₂濃度が上昇したときの窒素固定能力の変化を調べた結果、CO₂濃度の上昇によりケヤマハンノキ1個体あたりの窒素固定量が増加することが明らかになった。ただし、制御実験の一つで別種のミヤマハンノキの反応も調べたところ、個体重量に占める根粒重量の割合や、根粒の窒素固定活性の高さが、CO₂処理にかかわらず、樹種間で異なった。このような反応の違いは共生するフランキア群集の違いが影響しているのかもしれない。しかし、これまで、根系に共生するフランキア群集に関して全く考慮してこなかった。

近年、フランキア菌株の単離培養や分子系統解析の技術が進歩し、根粒中や土壌中のフランキア群集の多様性を調べることが国内外で可能になってきた。例えば、生育環境に応じて樹木側で共生関係を結ぶフランキア群集を選択している可能性が示された。また、カナダの氷河退行跡に生育するハンノキ属樹種では、植生遷移の進行に伴い共生するフランキア群集が変化することが報告された。

これらの報告から、「ハンノキ属樹種が窒

素固定能力を最大限発揮するために、ハンノキ属樹種とフランキア群集間に生育環境に応じた最適な組み合わせがあるのではないだろうか」という仮説を立てた。この仮説を検証するための調査地として、木曾御嶽山で1984年に発生した大規模な泥流跡地を選んだ。この場所では土壌攪乱後の植生・土壌の回復過程を定期的に調査しており、ハンノキ属数樹種が侵入し生育していることが報告されている。

2. 研究の目的

本申請課題では、木曾御嶽山の1984年(30年前)の地震で発生した岩屑流による攪乱跡地において、天然更新したハンノキ属樹種の窒素固定能力の標高間・樹種間比較を行うことを目的とした。具体的には次の2点である。

1. 同所的に生育するハンノキ属樹種間の窒素固定能の違いの有無を明らかにする。2. ハンノキ属の同一樹種内で、生育する標高間の窒素固定能の違いの有無を明らかにする。この結果を受けて、次に続く研究課題では、根粒内で共生するフランキア群集と生育土壌中のフランキア群集の解析を行い、選択的なハンノキ属-フランキアの組み合わせの解明へと発展させる。

3. 研究の方法

(1) 調査地: 長野県王滝村木曾御嶽山(N35°49', E137°30')の1984年に発生した泥流跡地に設定されている固定調査プロット(1985年に設定)を調査地とした。固定プロットは、標高2000mの高標高区(小三笠山北側斜面の荒廃地で自然放置されている場所)と標高約1600mの中標高区(人工播種・施肥が実施されなかった場所)と標高1100mの低標高区(濁川河畔で自然再生した林分)である。高標高区では、攪乱時に表土物質が残った場所(高標高区)と表土物質が残らなかった場所(高標高-表土なし区)の2カ所を対象とした。

(2) 対照とするハンノキ樹種: 調査対象としたハンノキ属樹種は、高標高で、ミヤマハンノキ(樹高約2m)とヤハズハンノキ(樹高約6m)、中標高でミヤマハンノキ(樹高約6m)とヤハズハンノキ(樹高約8m)に加えてヤシャブシ(樹高約8m)、低標高ではケヤマハンノキ(樹高約15m)を対象とした。低標高にヤシャブシも更新していたが、調査開始した段階でほとんどの個体が枯死していた。上層のケヤマハンノキの樹冠による被陰が原因と考えられる。

(3) 葉の窒素安定同位体比を用いた窒素固定の寄与率の評価: ハンノキ属樹種の窒素固定能力は、窒素安定同位体比を用いた手法により評価した。この方法では、自然界に存在する質量数の異なる安定同位体¹⁵N(少量)と¹⁴N(多量)の比率の変化を利用する。窒

素の場合、大気の $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ の値を基準とし、大気の窒素安定同位体比(千分率)は0となる。移動のしやすさが異なるため($^{15}\text{N} < ^{14}\text{N}$)、化学反応等で両者の割合が変化し、窒素安定同位体比が変化する。窒素固定では大気中の窒素を吸収するため0に近い値となる。一方、土壤中に存在する窒素はさまざまな過程を経ているため、大気の数とは異なる場合が多い。この窒素固定由来の窒素安定同位体比と、土壤中の窒素由来の窒素安定同位体比の違いを利用して、樹木が吸収した窒素の中の窒素固定由来の窒素の割合を評価する手法である。

(3) 葉のサンプリングと分析：標高別の調査地ごとにハンノキ属樹種と窒素固定能を持たない樹種(コントロール樹種：カバノキ属などできるだけ多くの樹種)が同所的に生育している林分パッチを多地点設定した。できるだけハンノキ属樹種が2種生育している場所を選定した。2012年から2014年の8月に、各地点で、ハンノキ属樹種とコントロール樹種の樹冠上部の当年枝を1個体あたり3本採取した。各当年枝に着いている全ての葉を混ぜて、乾燥・粉碎後、窒素安定同位体比を測定した(質量分析器、MAT252, EAConflo IV & Delta V)。

● 安定同位体比

$$\delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = [(R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000,$$

R: $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, R_{standard} : 大気中の窒素の値 (N_2) (0.36637)
 大気中の $\delta^{15}\text{N}$: 0、土壌の $\delta^{15}\text{N}$: 大気と大きく異なる場合もある

調査区ごとにコントロール樹種の値(土壤中の窒素の値を反映)と、窒素固定能を持つハンノキ属樹種の値(窒素固定と土壤中の窒素の混ざった値を反映)から、ハンノキ属樹種が吸収した窒素について、土壤中の窒素と窒素固定由来の窒素の割合を算出する(窒素吸収量に対する窒素固定の寄与率)。本研究では、対照樹種の存在しない場所にも対応できるように、各調査区のコントロール樹種の平均値を算出し、ハンノキ属樹種の窒素吸収量に対する窒素固定量の比(寄与率)を評価した。なお、本研究では、窒素固定の同位体分別を-1と仮定した。ただし、将来的には、この値は各樹種に対して補正が必要である。

● 寄与率 = $(\delta^{15}\text{N}_{\text{reference}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{alnus}}) / (\delta^{15}\text{N}_{\text{reference}} - B)$,

B: 窒素固定の際の同位体分別(仮定: -1)

4. 研究成果

(1) 手法の妥当性：ハンノキ属樹種とコントロール樹種の葉の窒素安定同位体比の差が、中標高区以外の調査区で明瞭に見られ、中標高区を除いて窒素固定の寄与率の評価にこの手法を適用できることを確認することができた。ただし、中標高区では、コントロール樹種のダケカンバの窒素安定同位体

比の値が他の調査区に比べて高く、ハンノキ属樹種との差が不明瞭であり、中標高区でのハンノキ属樹種の窒素固定の寄与率の評価ができなかった。そのため、ミヤマハンノキとヤハズハンノキについて、高標高と中標高間の窒素固定寄与率の比較をすることができなかった。

中標高でダケカンバの窒素安定同位体比の値が高かった理由として2点考えられた。1点目は中標高の調査区の近辺で実施されたヘリコプターによる施肥の影響である。この影響を解明するために、今後、土壌の窒素安定同位体比を確かめる必要がある。2点目は、ダケカンバの周囲にハンノキ属樹種が多かったことの影響である。中標高では、3種のハンノキ属樹種が更新しており、今回対象としたダケカンバと根系が接する状態で生育していた。ハンノキ属樹種の根系からの渗出物等の窒素を利用していただ可能性が考えられる。調査地の選定の仕方や、対照樹種の選定の仕方において、この手法の適用に注意が必要であることが再確認された。

(2) ハンノキ属樹種の窒素固定吸収量に占める窒素固定量の寄与率：窒素固定の寄与率は、植生の回復が早い低標高区のカヤマハンノキ(約6割)が、高標高区と高標高-表土なし区のカヤマハンノキとヤハズハンノキに比べて低かった。植生回復に伴う土壌形成の進行が窒素固定の寄与率に影響していると推察された。同所的に生育するミヤマハンノキとヤハズハンノキの窒素固定の寄与率には、樹種間差が見られなかった(約8割から9割)。以上の結果は、調査年によらず同じ傾向を示した。

高標高の表土物質の有りと無しの2つの調査区間では、ハンノキ属樹種の窒素固定の寄与率に明瞭な差が見られなかった。ただし、高標高-表土なし区付近の数地点で同様の調査をしたところ、表土物質のないスコリアや赤褐色の火山灰が堆積している場所と、残存土壌の残っている場所では対照樹種の葉の安定同位体比が大きく変動した。これらの結果から、表土の状態がハンノキ属樹種の窒素固定の寄与率に影響を及ぼすことが示唆された。

本研究の結果から、まだ定性的ではあるが、攪乱後30年経過した状態でも、ハンノキ属樹種の窒素利用における窒素固定能力に対する依存度が高く維持されていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2件)

Hiroyuki Tobita, Satoshi Nanami, Shigeaki F Hasegawa, Kenichi Yazaki, Masabumi Komatsu, Mitsutoshi Kitao, Spatial distribution of regenerated woody plants in *Alnus hirsuta* (Turcz.) var. *sibirica* stand in

Japan. Open Journal of Forestry, 査読有り,
5, 2015, 210-220
DOI: 10.4236/ojf.2015.52019

Hiroyuki Tobita, Shigeaki F Hasegawa,
Kenichi Yazaki, Masabumi Komatsu,
Mitsutoshi Kitao, Growth and N₂ fixation
in an *Alnus hirsuta* (Turcz.) var. *sibirica*
stand in Japan, Journal of Biosciences, 査
読有り, 38(4), 2013, 761-776
DOI:10.1007/s12038-013-9369-9

〔学会発表〕(計 3 件)

飛田博順、九町健一、柴田銃江、壁谷大
介、齋藤智之、今村正之、矢崎健一、北
尾光俊、御嶽山の岩屑流跡地に更新した
ハンノキ属樹種の窒素固定能の樹種
間・立地間比較、日本生態学会第 62 回
全国大会講演要旨、PA2-199, 2015.3.21、
鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市)

飛田博順、九町健一、柴田銃江、壁谷大
介、矢崎健一、北尾光俊、御嶽山の土石
流跡地に天然更新したハンノキ属樹種
の葉の窒素安定同位体比の変動、第 61
回日本生態学会講演要旨集、PB3-123、
2014.3.17、広島国際会議場(広島県・広
島市)

Hiroyuki Tobita, Mitsutoshi Kitao,
Ken-ichi Kucho, Kenichi Yazaki,
Masabumi Komatsu, Takuya Kajimoto
(2013) Variation of foliar ¹⁵N natural
abundance in *Alnus* species regenerated
naturally after a massive landslide in
Central Japan. Abstracts of 18th
International Congress on Nitrogen
Fixation. p148, 2013.10.18, 宮崎フェニ
ックスシーガイアリゾートホテル(宮崎
県・宮崎市)

〔図書〕(計 1 件)

Hiroyuki Tobita, Kucho Ken-ichi,
Yamanaka Takashi (2013) Abiotic Factors
Influencing Nitrogen-Fixing Actinorhizal
Symbioses. Symbiotic Endophytes, pp.
103-122. Springer Berlin Heidelberg. (Soil
Biology Vol.37, Aroca, Ricardo (Ed.))
Doi:10.1007/978-3-642-39317-4_6

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

アウトリーチ活動

森林総合研究所との技術交流会にて口頭
発表と現地検討：「御嶽山の岩屑流跡地
に更新したハンノキ属樹種の窒素固定能
の樹種間・立地間比較」(2015 年 2 月
12-13 日・木曾森林管理署・森林管理署
の職員対象)

森林講座にて口頭発表：「森を修復するハ
ンノキ属の樹木」(2013 年 12 月 6 日・多摩
森林科学園・一般市民対象)

木曾地方の森林について考える研究交流
会にて口頭発表：「御嶽山土石流跡地に
おけるハンノキ属樹種の窒素固定能の評
価」(2012 年 11 月 13 日・木曾森林管理
署・森林管理署の職員対象)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飛田 博順 (Tobita, Hiroyuki)
森林総合研究所・植物生態研究領域・主任
研究員
研究者番号：10353781

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：