

令和元年6月3日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K16220

研究課題名(和文) シカ食害による森林植生と土壤微生物相の機能的変化がリター分解に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) Influence of the functional changes of forest vegetation and soil microbiota by deer herbivory on litter decomposition

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) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、リターの形質と土壤微生物の機能の関係を考慮して、ニホンジカによる植生衰退がリター分解プロセスに及ぼす影響を明らかにするために、リター-土壤微生物間の相互作用を分析した。その結果、リター分解においては、局所的に適応した土壤微生物との組み合わせによって、最適な分解が行われるというホームフィールド・アドバンテージ現象が存在し、シカによる植生衰退はリター-土壤微生物間の相互作用を改変することが明らかになった。本研究から、シカ食害はリター分解に関わる腐食連鎖を不可逆的に変化させ、森林の物質循環に影響を及ぼし得ることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

森林生態系は重要な炭素シンクであり、リター分解は森林の炭素動態の主要なプロセスの1つである。これまで、リター分解速度は気候とリターの形質によって決まると考えられてきたが、近年では、リターの形質と適応的な土壤微生物の組み合わせで分解が促進されることが知られている。本研究では、シカによる植生衰退が、リター-土壤微生物間の関係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-地下部相互作用が生態系プロセスに及ぼす影響について新たな知見を示すとともに、森林の炭素動態の予測に寄与すると期待される。

研究成果の概要(英文)：This study examined interactions between litters and soil microbiomes to understand the influence of vegetation decline by Sika deer on litter decomposition processes, based on relationships between functional traits of litters and functional roles of soil microbes. Field experiments indicated that litter decomposition occurred more rapidly when the litter was combined with a home soil than with an away soil (i.e., home-field advantage), and vegetation decline by deer browsing altered interactions between litters and soil microbiomes. The results suggest that deer herbivory affected carbon cycles in forest ecosystems through irreversibly changing detritus food chains involved with litter decomposition.

研究分野：群集生態学

キーワード：ニホンジカ 森林生態系 リター分解 機能形質 土壤微生物 ホームフィールド・アドバンテージ効果 局所適応

1. 研究開始当初の背景

近年、狩猟の減少や地球温暖化により、世界各地でシカ類の個体群密度が増加し、生態系に大きな変化をもたらしていることが報告されている。日本列島においても、ニホンジカの密度が急速に増加し、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、植物リターの分解に関わる腐食連鎖が損なわれ、森林の物質循環に大きな変化が生じる可能性が指摘されている。

リター分解は森林生態系の炭素循環を規定する主要なプロセスであり、分解速度は3つの要因(気候・リターの形質・土壤微生物の機能)によって決まると考えられる。特に、気候条件の同じ地域内では、安定供給されるリターと土壤微生物の間に強い相互作用が生じて、特定のリター分解に局所適応した土壤微生物相が形成される。そのため、適応的なリターと土壤微生物の組み合わせにおいて、分解速度が最大になるホームフィールド・アドバンテージ(HFA)効果の重要性が報告されている。

急速な環境変化により植生が衰退すると、リターの形質が大きく変化する。そのため、リター-土壤微生物間の相互作用も変化し、本来あったHFA効果が損なわれる可能性がある。植生の衰退した森林生態系を将来的に復元するには、リターの形質と土壤微生物の機能の関係をメカニスティックに理解し、植生衰退に伴うリター分解プロセスの変化が不可逆かどうかを明らかにすることが必要な知見になる。

これまでの研究では、シカの嗜好性植物に由来する質の低いリターへの変化に着目していたが、分解速度が低下する場合と低下しない場合があり、一致した結論は得られていなかった。その原因として、土壤微生物がブラックボックスで扱われ、リターと土壤微生物の組み合わせで生じるHFA効果が考慮されていないことがある。そのため、リターの形質と土壤微生物の機能の変化を定量的に分析し、シカ食害による植生衰退がリター分解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、シカ食害に伴うリターと土壤微生物の機能的変化が、その相互作用の変化を通じてリター分解プロセスに及ぼす影響を明らかにして、森林生態系の復元に必要な知見を得ることを目的とした。具体的には、植生衰退に伴うリター分解のHFA効果の検証とそのメカニズムの解明のため、次の5つの課題に取り組んだ。

(1) リターの形質データベースの構築

シカ排除柵内外に出現する樹木種からリターを採取・分析し、リターの形質を評価するための基礎データを得る。

(2) 土壤微生物相の機能プロファイリング手法の開発

土壤微生物相(菌類・細菌類)の分子系統樹と既知の機能から、祖先形質還元法により全体の機能を推定する手法を確立する。

(3) 植生衰退に伴うリター分解のHFA効果の検証

シカ排除柵内外のリターを相互に移植することによって、本来のリター-土壤微生物の組み合わせに比べ、本来とは異なるリター-土壤微生物の組み合わせにおいて、リター分解速度が低下するかどうか(HFA効果)を検証する。

(4) リターの形質の変化がHFA効果に及ぼす影響の評価

相互移植実験において、移植したリターと本来のリターの分解速度の違いが、リターの形質の違いで説明されるかを分析する。

(5) 土壤微生物の機能の変化がHFA効果に及ぼす影響の評価

相互移植実験において、移植と本来のリターの分解速度の違いが、土壤微生物の機能の違いで説明されるかを分析する。

3. 研究の方法

東京大学秩父演習林において、標高800m~1,800mの冷温帯林に2013年に設置されたシカ排除柵6基を利用した。シカ排除柵内外に30m×30mの実験区(シカ排除区・対照区)を設置し、実験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。この実験区において、次の5つの課題に取り組んだ。

(1) リターの形質データベースの構築

10月~11月に実験区に出現した樹木のうち、40種・各3個体からリターを採取し、風乾後にCN・全糖・リグニン・セルロース・フェノール類の含有量を分析した。

(2) 土壤微生物相の機能プロファイリング手法の開発

各実験区においてリターの埋設予定地点から A 層土壌 50 cc を 3 サンプルずつ採取し、これら 3 サンプルを混合した土壌からゲノム DNA を抽出した。これを鋳型として、菌類の rDNA ITS 領域と細菌類の 16S rRNA 遺伝子を対象とした PCR 増幅を行った。得られた PCR 産物に識別タグを付加し、MiSeq (Illumina 社) によるアンプリコンシーケンス解析を行った。得られた両鎖配列を微生物同定用データベース RDP と照合し、菌類・細菌類の組成を決定した。そして、菌類については、機能群データベース FUNGuild と照合して、菌類相全体の機能推定を行った。また、細菌類については、KEGG データベースから既知の機能を系統樹にマッピングし、祖先形質復元により未知の分類群に特定の機能が存在する確率を推定して、細菌相全体の機能推定を行った。

(3) 植生衰退に伴うリター分解の HFA 効果の検証

シカ排除区と対照区でリター相互移植を行い、本来のリター - 土壤微生物の組み合わせに比べ、本来とは異なるリター - 土壤微生物の組み合わせでリター分解速度が低下するかどうか (HFA 効果) を検証した。リターは本来の実験区で平均的な質になるように調整し、乾重 3 g を 1 mm メッシュ (10 cm 四方) バッグに封入した。リターバッグは合計 144 個 (リター 2 × 土壌 2 × 採取数 6 × 反復数 6) を A0 層の下に埋設した。なお、実験区には気象ロガーを設置して、地温・湿度を測定した。

(4) リターの形質の変化が HFA 効果に及ぼす影響の評価

リター分解実験の開始後、2 ヶ月ごとに 6 回リターバッグを回収して、リターの分解率と化学組成を測定した。

(5) 土壤微生物の機能の変化が HFA 効果に及ぼす影響の評価

リター分解実験の開始後、2 ヶ月ごとに 6 回リターバッグ下の土壌を採取して、菌類・細菌類の多様性と機能を分析した。定量 PCR (インターカレーター法) により菌類・細菌類の現存量を推定した。

(6) 統計解析

リター分解実験の終了後、次の統計モデルを用いて、移植したリターと本来のリターの分解速度の違いが、リターの形質と土壤微生物の機能の違いにより説明されるかどうかを解析した。
$$\text{リター分解速度} = \text{ } + \text{ }_1 \times \text{リタータイプ} + \text{ }_2 \times \text{土壌タイプ} + \text{ }_3 \times \text{リター形質} + \text{ }_4 \times \text{土壤微生物機能} + \text{ }。$$
これにより、シカ食害によるリター - 土壤微生物間の相互作用の変化がリター分解プロセスに及ぼす影響を定量的に評価した。

4. 研究成果

(1) リターの形質データベースの構築

シカ排除区内外の実験区に出現した樹木 40 種についてリターの形質を分析した結果、CN・全糖・リグニン・セルロース・フェノール類のいずれについても、大きな種間差が見られた。これらをそれぞれの樹木種のリターの形質を表す指標として、シカ排除区と対照区の樹木種の組成に基づいてリターの形質を比較した結果、上層木のリターではシカ排除区と対照区の違いが検出されなかったが、低木や稚樹・実生のリターでは対照区の総フェノール量がシカ排除区よりも多い傾向が見られた。

(2) 土壤微生物相の機能プロファイリング手法の開発

各実験区におけるリター埋設地点の A 層土壌について、菌類の rDNA ITS 領域と細菌類の 16S rRNA 遺伝子を対象としたアンプリコンシーケンス解析を行った結果、シカ排除区と対照区の間で土壤微生物叢の顕著な違いが見られた。特に、菌類については、対照区で腐生菌が多くなる傾向があり、細菌類については、シカ排除区で Actinobacteria 門などの植物共生細菌が多くなる傾向があった。菌類・細菌類の現存量は、いずれもシカ排除区より対照区の方が多かった。また、機能群データベースに基づいて、菌類相全体の機能推定を行った結果、約 60% の分類群については機能群に分類することができた。機能遺伝子データベースに基づいて、細菌相全体の機能推定を行った結果、Acidobacteria 門などを除く約 70% の分類群については、機能推定を行うことができた。これらの一連の手法を土壤微生物相の機能プロファイリング手法として、その後のリター分解実験の分析に用いた。

(3) 植生衰退に伴うリター分解の HFA 効果の検証

シカ排除区と対照区でリターの相互移植を行い、経時的にリター分解を測定し、本来のリター - 土壤微生物の組み合わせに比べ、本来とは異なるリター - 土壤微生物の組み合わせでリター分解速度が低下するかどうか (HFA 効果) を検証した結果、シカ排除区と対照区のいずれにおいても、移植したリターより本来のリターの分解速度が高く、HFA 効果の存在が確認された。

(4) リターの形質の変化が HFA 効果に及ぼす影響の評価

シカ排除区と対照区間のリター相互移植実験において、移植したリターと本来のリターの分解速度の違いが、埋設したリターの違いによって説明されるかどうかを解析した結果、リターの違いが分解速度に有意に寄与していることが明らかになった。また、リターの形質として CN・フェノール量がリター分解速度に影響を及ぼしていた。

(5) 土壌微生物の機能の変化が HFA 効果に及ぼす影響の評価

シカ排除区と対照区間のリター相互移植実験において、移植したリターと本来のリターの分解速度の違いが、シカ排除区と対照区の土壌の違いによって説明されるかどうかを解析した結果、土壌の違いが分解速度に有意に寄与していることが明らかになった。また、一定以上の現存量があるにもかかわらず、シカ排除区と対照区のどちらかのみで検出される固有の分類群が菌類と細菌類のどちらについても検出され、土壌微生物相の機能との関係が示された。

これらの結果により、移植したリターと本来のリターの分解速度の違いは、リターの形質と特定の土壌微生物分類群の違いで説明され、シカ食害によるリター - 土壌微生物間の相互作用の変化が、リター分解プロセスに影響を及ぼし得ることが明らかになった。このことは、シカ食害がリター分解に関わる腐食連鎖を不可逆的に変化させ、森林の物質循環に影響を及ぼし得ることを示唆している。

森林生態系は重要な炭素シンクであり、リター分解は森林の炭素動態の主要なプロセスの 1 つである。本研究では、シカによる植生衰退が、リター - 土壌微生物間の関係を損なう可能性があることを明らかにした。この知見は、植食者を介した地上部 - 地下部相互作用が生態系プロセスに及ぼす影響について新たな知見を示すとともに、森林の炭素動態の予測に寄与すると期待される。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

Momoko Okada, [Toshihide Hirao](#), Mikio Kaji & Susumu Goto, Role of fallen logs in maintaining the species diversity of understory vascular plants in a mixed coniferous and broad-leaved forest in Hokkaido, northern Japan, *Forest Ecology and Management*, 査読有, 2019, in press.

Nobuhiko Shigyo, Kiyoshi Umeki & [Toshihide Hirao](#), Plant functional diversity and soil properties control elevational diversity gradients of soil bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 査読有, 95, 2019, fiz025, DOI: 10.1093/femsec/fiz025.

Kiyoshi Umeki, Mitsuru Kawasaki, Nobuhiko Shigyo & [Toshihide Hirao](#), Inter- and intraspecific patterns in resprouting of trees in undisturbed natural forests along an elevational gradient in central Japan. *Forests*, 査読有, 9, 2018, 672, DOI: 10.3390/f9110672.

Satoshi N. Suzuki & [Toshihide Hirao](#), Recruitment drives successional changes in the community-level leaf mass per area in a winter-deciduous broad-leaf forest. *Journal of Vegetation Science*, 査読有, 29, 2018, 756-764, DOI: 10.1111/jvs.12660.

Nobuhiko Shigyo, Kiyoshi Umeki, Haruka Ohashi, Kiyokazu Kawada & [Toshihide Hirao](#), Phylogenetic constraints to soil properties determine elevational diversity gradients of forest understory vegetation. *Plant Ecology*, 査読有, 218, 2017, 821-834, DOI: 10.1007/s11258-017-0732-z.

山田利博・平尾聡秀, シラカシのボタン材と腐朽材中の菌類群集組成, *樹木医学研究*, 査読有, 21, 2017, 138-139.

執行宣彦・梅木清・平尾聡秀, 東京大学秩父演習林における標高に沿った土壌特性と環境要因の関係, *演習林*, 査読有, 59, 2017, 223-233.

[学会発表] (計 11 件)

田沼美雪・梅木清・平尾聡秀, 奥秩父山地における落葉分解過程に対する落葉形質と環境要因の影響, 第 130 回日本森林学会大会, 2019

執行宣彦・梅木清・平尾聡秀, 落葉分解における土壌微生物群集の固有性, 第 130 回日本森林学会大会, 2019

小原茜・岩崎未季・梅木清・平尾聡秀, シカ食害下の地上部-地下部相互作用が樹木の実生動態に及ぼす影響, 第 130 回日本森林学会大会, 2019

執行宣彦・平尾聡秀・梅木清, 樹木のフェノロジーが土壌微生物群集の季節変動に及ぼす影響, 第 129 回日本森林学会大会, 2018

小原茜・岩崎未季・梅木清・平尾聡秀, ニホンジカが森林土壌の改変を通じて実生動態に及ぼす影響, 第 129 回日本森林学会大会, 2018

執行宣彦・平尾聡秀・梅木清, 森林における土壌細菌群集の機能と復元性に下層植生が及ぼす影響, 環境微生物系学会合同大会 2017, 2017

執行宣彦・平尾聡秀・梅木清, セルロース分解に関わる真菌群集: 環境と季節に対する応

答, 第 128 回日本森林学会大会, 2017

小原茜・岩崎未季・梅木清・楠本大・平尾聡秀, 奥秩父山地の冷温帯林における実生動態の標高変化: 防鹿柵を用いた植生回復の評価, 第 128 回日本森林学会大会, 2017

執行宣彦・平尾聡秀・梅木清, 植物の機能的多様性は土壤微生物の機能的多様性を高めるのか? 第 64 回日本生態学会大会, 2017

執行宣彦・平尾聡秀・梅木清, 土壤細菌の多様性の標高変化に対する土壤特性と植物多様性の相対的重要性, 日本微生物生態学会第 31 回大会, 2016

Nobuhiko Shigyo, Kiyoshi Umeki & Toshihide Hirao, Elevational diversity patterns of understory vegetation determined by soil properties and light conditions, 7th Symposium of Asian University Forest Consortium, 2016

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

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、研究者個人に帰属されます。