

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 19 日現在

機関番号：11301
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011 ～ 2012
 課題番号：23780331
 研究課題名（和文） 間伐強度が森林土壌の窒素貯留機能に及ぼす影響解明のための微生物学的アプローチ
 研究課題名（英文） Microbiological approach for the influence elucidation which thinning intensity exerts on the nitrogen storage function of forest soil
 研究代表者 多田 千佳 (TADA CHIKA)
 東北大学・大学院農学研究科・助教
 研究者番号：30413892

研究成果の概要（和文）：

本研究は、日本の人工林管理である間伐強度の違いが、窒素循環の律速であるアンモニア酸化を担うアンモニア酸化真性細菌（AOB）とアンモニア酸化古細菌（AOA）に注目し、この微生物生態系へ与える影響を解析した。その結果、土壌間隙水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は強度間伐で最も低かった。春先にかけて、強度間伐では、AOB の存在比が、その他の間伐区に比較して高いことが明らかとなった。これより、強度間伐では他区とアンモニア酸化微生物の構成が異なり、窒素循環にも影響を与える可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In this study, the relationship between thinning intensity and ammonia-oxidizing prokaryotes was investigated.

Concentrations of NO_3 , NH_4 included in pore water of forest soil were analyzed. Ammonia oxidizing bacteria(AOB) and ammonia oxidizing archaea(AOA) were quantified by real-time PCR. The comparative community compositions of ammonia-oxidizing microbes among thinning intensities were determined using PCR-DGGE.

Concentration of NO_3 in pore water of strong thinned forest soil was lowest than that of other forest soils. In June, intensive thinning significantly increased the *amoA* gene copies of AOB, as compared to unthinned or weakly thinned forests, whereas in the other months this did not differ greatly among thinning intensities. The *amoA* gene copies of AOA were lowest in intensively thinned forests in May and July. The ratio of AOA/AOB in intensively thinned forests strongly decreased, as compared to those in unthinned and weakly thinned forests from May to July. These results suggested that ammonia oxidizing microbes in strong thinned were effected to nitrogen cycle.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・環境農学・水域汚染

キーワード：森林管理

1. 研究開始当初の背景

人類の活動によって大気に排出される窒素酸化物の量は、2005年で自然生態系が固定する窒素量とほぼ同等の185tまで増加し、世界的に窒素飽和が起こっている (Galloway et al. 2008)。それに伴い、雨水に含まれる窒素濃度も増加傾向にある。畜産由来の窒素揮散も大気汚染に大きな影響を与えており、日本では、家畜排泄物中の窒素量の約30%が大気に揮散すると言われる。関東周辺の針葉樹林では、林内降水による窒素量は13~136 kgN/ha yrと報告され、北海道や本州の山岳地帯の5kgN/ha yrに比較して2倍以上の高濃度である (Hayashi et al, 2002, Ito et al. 2003)。

通常、森林は窒素制限状態にあるため、系外への窒素溶脱は少なく、降雨流出時を除き、渓流水中の窒素濃度は極めて低くなる。しかし、これら 大気降下物経路での慢性的な高窒素素負荷が、森林生態系における窒素代謝に影響を及ぼすことで窒素溶脱が促進され、結果、平水時の渓流水中の窒素濃度は上昇する。

欧米では、渓流水中の NO_3^- 濃度が年間を通して 1 mg N L^{-1} を超え、森林の窒素飽和状態にあり、日本でも、関東地域等の大都市近郊森林では、既に渓流水中の NO_3^- 濃度が高いことが示されている (Ohnishi et al. 1997)。さらに、上記の渓流水の窒素濃度増加の要因として、大気からの慢性的な高窒素素負荷だけでなく、間伐手遅れ等の森林管理の不備から生じるスギやヒノキ等の人工林の荒廃によって、森林生態系における窒素貯留能の低下が指摘されている。間伐は、人工林の重要な管理手法であり、日本では、通常、総面積の33%を抜き切りする間伐方法が取られてきた。一方、近年、生物多様性の維持を目的に針葉樹林に広葉樹

林を混ぜる混交林化が提案され (Seiwa, 2009)、総面積の66%を間伐する強度間伐が当試験林で実施されている。これらの森林管理の違いによって、我々が行った調査 (図)では、下草植生の違いや広葉樹の移入が生じ、間伐強度の違う試験区で窒素貯留能やアンモニア酸化細菌の構成が異なっていた (Tadaら, 2009)。

しかし、針広混交化を含めた植生の種多様性が、水源涵養や窒素貯留機能等、森林の多様な生態系機能に及ぼす影響は未解明である。今後、窒素飽和対策という観点も含めて持続可能な森林管理手法として混交林化を推し進めていく上でも、混交過程での種の多様化メカニズムの解明に加えて、様々な生態系機能の向上の有無、その定量評価とメカニズム解明は不可欠と言える。

以上より、本研究では、人工林管理による下層植生の種の多様化の違いが、森林の生態系機能にどのような影響があるのか、特に、生態系機能の一つである水質浄化機能としての土壌における窒素貯留に及ぼす影響に着目し、その影響メカニズムの解明を水文水質学的アプローチと微生物学的アプローチの融合により実施する。

2. 研究の目的

林業衰退に伴う森林管理 (間伐) 放棄が森林の生態系機能の低下をもたらすと考えられ、その主な一つに、森林土壌からの多量の窒素溶脱による流入水域の窒素汚染が懸念されている。本研究では森林土壌の窒素貯留機能に着目し、間伐強度による森林の窒素貯留機能に及ぼす影響について微生物学的視点から解明することを目的にする。具体的には、間伐強度を操作して長い歴史を持つ当大

学試験林で、①間伐強度の違いによる樹種多様性、②土壌間隙水の窒素鉛直濃度分布および③窒素循環に関わる微生物群集構造を遺伝子解析法により質的量的に解明することで、④森林管理と窒素貯留機能との関係性を解明し、持続可能な森林資源および健全な水資源を確保するための森林管理手法を提案する。

3. 研究の方法

本研究では、間伐強度の違いによって生じる樹種の多様性の違いが森林土壌の窒素貯留能に及ぼす影響を解明するため、同一の土壌環境下で間伐強度を変化させた各試験林地で、樹種の多様性の把握と土壌窒素貯留能力およびそれに関わる微生物群集構造を定量評価する。具体的には、年に2度の樹種の多様性調査、毎月1度土壌間隙水等のサンプリングを行う。土壌窒素貯留能は深度20cm, 50cm, 80cmから間隙水を採取し、窒素成分等を分析して解明する。微生物はリター層の下A層0-5cmの土壌、各区リター層、植物ごとの根、葉のDNAを抽出し、得られたDNAから窒素循環に関わるアンモニア酸化細菌および古細菌、Anammox菌の存在量をrealtimePCRで測定し、種構成をDGGEおよびシーケンス解析で解明する。これらの結果の総合的解析によって、間伐強度の違いと樹種の多様性が窒素貯留能に及ぼす影響およびその機構について微生物学的アプローチから解明する。

4. 研究成果

調査した全土壌間隙水中のNO₃-N濃度は、強度間伐で0.7 mg l⁻¹以下、無間伐で1.7 mg l⁻¹から26.8 mg l⁻¹、弱度間伐で0.16 mg l⁻¹から17.6 mg l⁻¹であり、強度間伐で最も低かった。AOBの解析では、定量PCRにより6

月の強度間伐における遺伝子コピー数が同月他区に比較して多かったが、他の月で差はなかった。また6月の弱度間伐と無間伐では土壌深度が深くなるにつれて遺伝子コピー数は減少したが、強度間伐では深度による差はなかった。AOAの解析では、5月と7月の強度間伐にて各月の他区より遺伝子コピー数が増えることが観察された。また、根の量については、強度間伐が無間伐の10倍以上、弱度間伐の1.5倍であった。しかし、根に付着するAOB, AOAと、土の中のAOB, AOA数に大きな差は認められなかった。AOA/AOBの比は強度間伐では5~7月で他区より小さかった。その他の8月~11月までにおいては、各区におけるAOA/AOB比に違いは見られなかった。Anammox菌はPCRにて検出された。また、DGGEの結果では、強度間伐では、その他の間伐区に比較して、AOBの多様性が多いことが示された。これより、強度間伐では他区とアンモニア酸化微生物の構成が異なり、特に、春の窒素循環にも影響を与える可能性が示唆された。

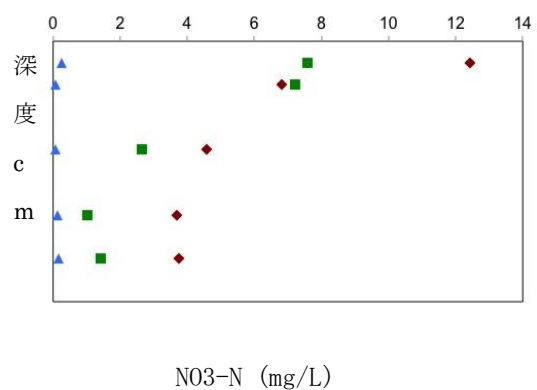


図1 土壌間隙水中のNO₃-N濃度

- ▲ : 強度間伐区
- : 弱度間伐区
- ◆ : 無間伐区

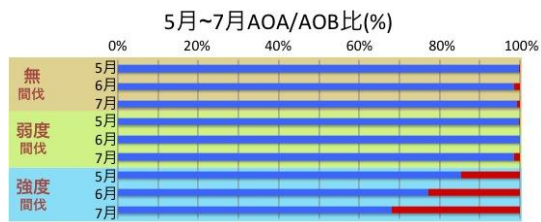


図2 間伐強度の違いによる AOA/AOB 比

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 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

1) 伊藤優太郎、多田千佳 他、**間伐強度の異なる人工林の土壌中のアンモニア酸化微生物量**、日本畜産環境学会、2012年9月6日、秋田県立大学

2) 渡辺圭司、多田千佳 他、**Microbial community structure on tree leaves**, 第28回日本微生物生態学会, 2012年9月19-22日, 豊橋技術科学大学

3) 渡辺圭司、多田千佳 他、**間伐強度の違いが土壌細菌叢に与える影響**, 日本生態学会第60回大会, 2013年3月6日, 静岡県コンベンションアーツセンター

4) Yutaro Ito, Fuyumi Tojo, Mirai Watanabe, Keiji Watanabe, Seiji Hayashi, Chika Tada (2013) Changes in the diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in forest soils due to differences in thinning intensity, FEMS2013, July21-25, Leipzig, Germany

6. 研究組織

(1) 研究代表者

多田 千佳 (TADA CHIKA)

東北大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：30413892