

森林管理が土壌微生物の分解機能の多様性に及ぼす影響

二宮 亜由美^{1, #}, 山本 桐也^{2, #}, 向井 真那³, 辻井 悠希³, 横山 大稀³, 北山 兼弘^{3*}

¹京都府立嵯峨野高等学校, ²徳島市立高等学校, ³京都大学大学院農学研究科

要旨

本研究では、人間の管理によって変化した樹木種の多様性が、土壌微生物の分解機能の空間的多様性にどのような影響を与えるのかについて、京都周辺の3つの森林（常緑広葉樹林、里山林、ヒノキ林）を比較して評価した。各森林から表層土壌を一定間隔で10コア採取し、コア毎に土壌懸濁液を作成し、31種類の有機物が基質として含まれるエコプレートに添加して25度で96時間培養し、土壌微生物による基質の分解度を吸光度を用いて測定した。得られた30コア×31有機物分解度のマトリクス・データに、主成分分析を適用して、コア間の分解機能のばらつきを評価した。樹木種多様性は、常緑広葉樹林>里山林>ヒノキ林の順に低下した。主成分分析の結果、常緑広葉樹林と里山林に比べて、単一樹種のヒノキ林では分解機能のコア間のばらつきが有意に小さかった。以上の結果は、樹木種多様性の著しい低下が土壌微生物の分解機能の空間的多様性の低下を引き起こすことを示唆した。森林の生物多様性を守るために、森林管理を行う際には地上部の多様性のみならず、地下部の多様性にも目を向ける必要がある。

重要語句：土壌微生物、分解機能、樹木種多様性、エコプレート、管理

序論

森林生態系は樹木や土壌中の分解者など多様な生物から構成されており、それらの生物が密接に関係することで維持されている。樹木が光合成によって生産した落葉・落枝は、土壌に加入後、土壌微生物などによって分解される。分解により落葉・落枝から放出された無機物は再び樹木に吸収され、森林生態系を支える。分解には多様な土壌微生物が関わっている（北山ら2007）⁽¹⁾、このような物質循環の維持は生物多様性の重要な機能と言える。

森林生態系において、土壌微生物の多様性には樹木種の多様性が密接に関係していることが指摘されている（北山ら2007, Ushio *et al.* 2008）^(1, 2)。その密接な関係を仲介するのが、落葉・落枝に含まれる有機物や栄養元素の比率の多様性である。土壌では、分解基質（分解される有機物）に応じて微生物群集が変化する。例えば、分解基質に難分解性物質が多く含まれると、それを分解できる微生物群の比率が増加する。落葉・落枝とし

て土壌に加入する物質の種類・量は樹木の種によって異なり、異なる樹種の根元には構成する有機物の量・組成が異なる物質を含む落葉・落枝が供給されるので、樹種毎に根元の土壌微生物群集は異なることが知られている（Ushio *et al.* 2008）⁽²⁾。したがって、樹木の多様性が高い森林においては、各樹木の根元に異なる土壌微生物群集組成が形成され、その結果森林内における土壌微生物群集の空間的多様性が増大する。そのため、樹木種多様性の増加に伴い、森林内における微生物の分解機能の空間的多様性も増加すると考えられる。

森林樹種の多様性は人間の管理によって変化する。近畿周辺の低地では、管理方法の違いにより、以下の3つの森林タイプが広くみられる：遷移が最も進んだ常緑広葉樹林（シイ類、カシ類が優占）、薪炭利用や落ち葉掻きが行われている里山林（コナラ、アカマツが優占）、皆伐後スギやヒノキなどを一斉植林した単一樹種からなる人工林。樹木種の多様性は、人為の強度増加に伴い減少すると考えられるので、常緑広葉樹林>里山林>人工林の順に低下すると予測される。さらに、このような森林間の樹木種多様性の違いは、土壌微生物群集と分解機能の空間的多様性を変化させ、物質循環にも影響すると予想される。しかし、人間の管理による樹木種多様性の変化が森林生態系の土壌分解機能に与える影響についてはよくわかっていない。

本研究では、人間の管理によって変化した樹木種の多様性が土壌微生物の分解機能の空間的多様性に与える影響を明らかにするために、人為強度が異なる京都周辺の3つの森林において地上部の樹木種多様性と土壌微生物の分解機能の空間的多様性の関係を評価した。本研究では、次の仮説を検証した。樹木種多様性は人為強度の増加に伴い減少し、それに伴い土壌微生物の分解機能の空間的多様性も減少する。この仮説が正しければ、樹木種多様性と微生物の分解機能の空間的多様性が常緑広葉樹林で最も高く、人工林では最も低いはずである。

方法

1. 調査地と植生の調査

作業仮説を検証するために、京都大学の周辺において、以下の3つの森林を調査対象として選んだ（表1）。常緑広葉樹林は吉田山に位置し、管理放棄されたために里山から遷移が進行し、形成されたと思われるコジイが優占する森林である。里山林は、同じく吉田山に位置し、常緑広葉樹林から約50 m 離れ

表1. 調査地の概要

森林名	常緑広葉樹林	里山林 (落葉広葉樹林)	ヒノキ林 (植林地)
場所	京都市左京区吉田山	京都市左京区吉田山	京都市北区上賀茂試験地
優占種	コジイ, ソヨゴ, アオハダ	コナラ, アカマツ	ヒノキ
最大樹高 (m)	20.2	29.0	約 15.0

二宮亜由美と山本桐也は貢献度の等しい筆頭著者である。

* 内容に関する連絡先：kanehiro@kais.kyoto-u.ac.jp

た場所にあり、現在も明らかに人為が加えられているコナラを主体とする落葉広葉樹林である。人工林としてはヒノキ植林地を選んだ。ヒノキ林は、京大フィールド科学教育研究センターの上賀茂試験地にあり、ほぼヒノキ1種からなる。

それぞれの森林に設置されている既設調査区を活用し、樹木組成と樹種多様性を明らかにした。各森林調査区の面積は、それぞれ、0.04 ha, 0.04 ha, 0.01 haである。調査区の植生データを石田厚氏（未発表）と岡野めぐみ氏（未発表）から提供していただき、胸高直径10 cm以上の樹木について、樹種毎の胸高断面積を求めた。さらに、胸高断面積を相対値化し、各種の相対優占度とした。

2. 土壌採取

各森林調査区において、中央にラインを一本引き、それに沿って3m間隔で10地点から表層5 cmの土壌コアを採取した(2016年6月4日)。土壌コアの採集には、土壌採土管(直径37 mm)を用いた。3m間隔の土壌採集により、3 m程度の間隔で分布する樹木と土壌の空間分布の対応関係が適切に評価できると考えた。土壌はコア毎にビニール袋に入れ、採集後直ぐにクーラーボックスで冷蔵して、実験室に持ち帰った。3森林から、合計30コアの土壌を採集した(10コア×3森林)。実験室に持ち帰った土壌は、直ぐに冷蔵庫に移し、次の土壌処理まで全ての土壌サンプルを1週間保存した。採集から1週間後、土壌を2 mmメッシュのふるいにかけて、メッシュを通った土壌をコア毎にポリ袋に入れ、さらに冷蔵庫で1週間保存した。

3. 分解機能の定量評価

土壌微生物の分解機能の空間的多様性については、エコプレート(Biolog-EcoPlate, Biolog INC., CA)を用いて評価した。エコプレートには96のウェルがあり、そこに31種類の有機物と水が分解基質として含まれる。1つのウェルに1つの分解基質が含まれ、1つの分解基質は3反復(ウェル)ある。微生物がウェル中の有機物(基質)を分解すると、還元反応によりウェルが無色から紫色に変化する。分解がより速く進むと、より濃い発色を呈する。発色の強さを分光光度計で読み取ることによって、微生物による31種類の基質の分解活性を数値化できる。水はブランクとして用いられる。

篩を通した冷蔵土壌から、コア毎に2 g(±0.02 g)(乾重換算)をポリ瓶に量り取った。これに20 mlの土壌抽出溶液(0.85%NaCl+0.1%Triton)を加え、振とう機を使い180 rpmで30分間振とうし、土壌団粒を破碎した。振とう後の土壌懸濁溶液からピペットを用いて1 ml量り取り、それに希釈用液(0.85%NaCl)9 mlを加え、10倍に希釈した。さらに、10倍

希釈後の土壌懸濁溶液を懸濁物が均一になるように振とうし、2mlを量り取った。これに、希釈用液(0.85%NaCl)18 mlを加え、100倍希釈の土壌懸濁液を作成した。各コアから得られた100倍希釈懸濁液を、エコプレート1枚の全てのウェルに150 μlずつ加えた。以上の作業を30コアについて繰り返し、合計30枚のエコプレートを得た。インキュベーターを用いてこれらのプレートを25℃で96時間培養した後、マイクロプレートリーダー(CORONA ELECTRIC)を使い、プレート毎に全てのウェルについて590 nmで吸光度を測定した。

4. 分解機能の空間的多様性に関する統計解析

まず、Zheng *et al.* (2005)⁽³⁾ にならひ、各エコプレートの31分解基質の発色の平均値(AWCD, Average well colour development)を、以下のように計算した。

$$AWCD = \sum (C-R)/n$$

ここで、Cは各分解基質(有機物)の吸光度の3反復(ウェル)間の平均値、Rはブランク(基質:水)の吸光度の強さ、nは基質の数(31)を示す。AWCDは、各土壌コアにおける、31種類の基質の平均的な分解活性を示す。AWCDが森林間で有意に異なるのかについて、分散分析とTukeyの多重比較を用いて検定した。また、1つの森林内における分解基質間の分解活性のばらつきを明らかにするため、各森林内の10コアについて基質毎の吸光度の平均値と標準偏差を算出した。

分解機能の空間的多様性については、31の分解基質に基づき、土壌コア間の分解活性のばらつきから評価した。土壌コア間の分解活性のばらつきについては、主成分分析により解析した。主成分分析とは多変量解析の1つで、サンプル間の類似性を空間的に示す手法である。ここでは、31の変数(基質の平均吸光度)に基づき、30コア間の相対的類似性を2次元に展開した。最も大きな分散を説明する軸を1軸とし、次に大きな分散を説明する軸を2軸とした。1つの森林内で、1軸ないし2軸に沿ったコア間のばらつきが大きいと、コア間の分解機能の空間的ばらつきが大きいことを意味する。この場合、土壌微生物の分解機能の空間的多様性が高いと解釈できる。さらに、分解機能が森林間でどのように異なるのかを明らかにするために、森林毎に10コアの1軸値と2軸値の平均と標準偏差を算出した。全ての統計解析にはR version 3.0.1⁽⁴⁾を使用した。

結果

各森林調査区に出現する、胸高直径10 cm以上の樹種組成を図1に示した。常緑広葉樹林には11種が出現し、最も優占す

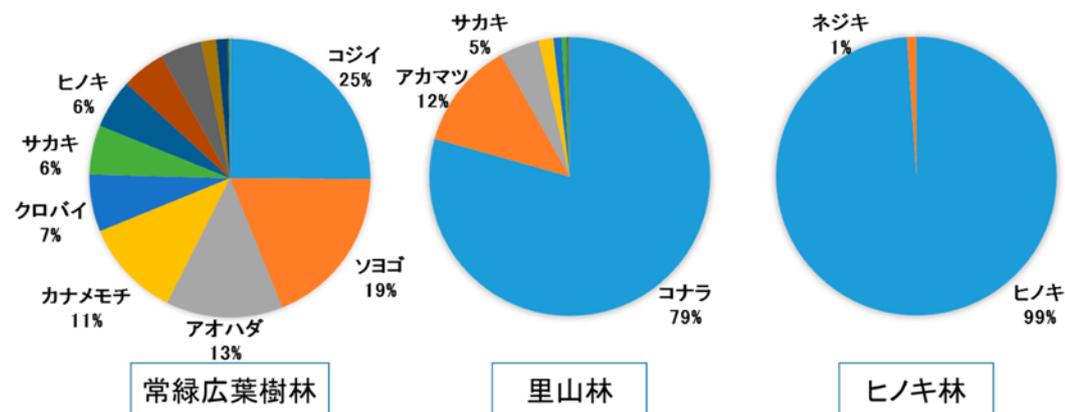


図1. 3つの森林調査区における、胸高直径10cm以上の樹種組成と相対優占度。左から、常緑広葉樹林、里山林、ヒノキ林(人工林)。

る樹種（コジイ）の優占度も相対的に低かった（25%）。一方、里山林には6種が出現し、コナラが大きな相対優占度を示した（79%）。ヒノキ林では2種しか出現せず、ヒノキが99%優占し、ほぼ純林の状態であった。

ヒノキ林のAWCDは、常緑広葉樹林・里山林と比べ有意に小さかった（図2, $p < 0.05$ ）。一方、常緑広葉樹林と里山林間ではAWCDの有意な違いは見られなかった（図2, $p > 0.05$ ）。

基質ごとに10コアの平均吸光度を計算した結果、多くの基質の平均吸光度が、ヒノキ林において常緑広葉樹林・里山林よりも有意に小さかった。常緑広葉樹林・里山林間でも、いくつかの基質で平均吸光度の有意な違いがみられたが（図3, $p < 0.05$ ）、両者の大小関係に一貫した傾向はなかった。

31基質の平均吸光度に基づき、主成分分析を用いて30コアを平面座標に展開した結果を図4に示す。第一主成分（1軸）の寄与率は42.0%、第二主成分（2軸）の寄与率は11.3%であり、これらの2軸によって30コア間の全体のばらつきの53.3%が説明された。ヒノキ林の第一主成分（1軸）の平均値は、常緑広葉樹林・里山林と比べて有意に異なった（図5, $p < 0.05$ ）。ヒノキ林の第一主成分（1軸）のばらつき（標準偏差）は、ほかの森林と比べて小さかった（図5、常緑広葉樹林 2.53、里山林 3.13、ヒノキ林 1.79）。一方、常緑広葉樹林と里山林間では、第一主成分（1軸）の平均値は有意に異ならなかった（図5 $p > 0.05$ ）。第二主成分（2軸）の平均値については、森林間で有意な差が見られず（図5, $p > 0.05$ ）、標準偏差も森林間でほとんど差が見られなかった（常緑広葉樹林 1.51、里山林 1.90、ヒノキ林 2.31）。

考察

本研究の調査区では、常緑広葉樹林、里山林、ヒノキ林の順

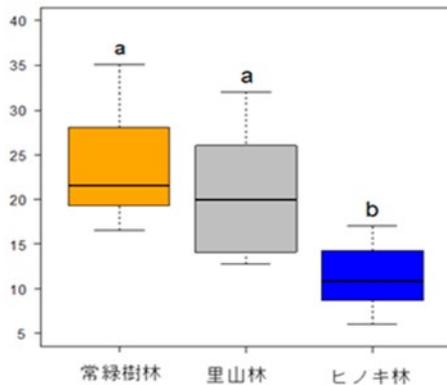


図2. 96時間培養後の各森林のAWCD。異なる記号は $p < 0.05$ の範囲で有意な違いが見られることを示す (Tukey HSD)。

に樹種多様性は低下した（図1）。作業仮説通り、京都周辺の3森林間では、人為が強いほど、樹木の多様性は低下すると思われる。本研究の結果で示された、人為の高まりに伴い、常緑樹優占から落葉樹優占に変化することは、これまでの研究結果と一致している（堤 1989）⁽⁵⁾。

AWCDが森林間で有意に異なったため、土壌微生物の平均的分解活性は森林間で変化すると考えられる。ヒノキ林のAWCDは、常緑広葉樹林・里山林よりも有意に小さかった（図2）。このヒノキ林での平均的分解活性の低下には、針葉樹の落葉・落枝が広葉樹と比べ難分解であることが何らかのメカニズ

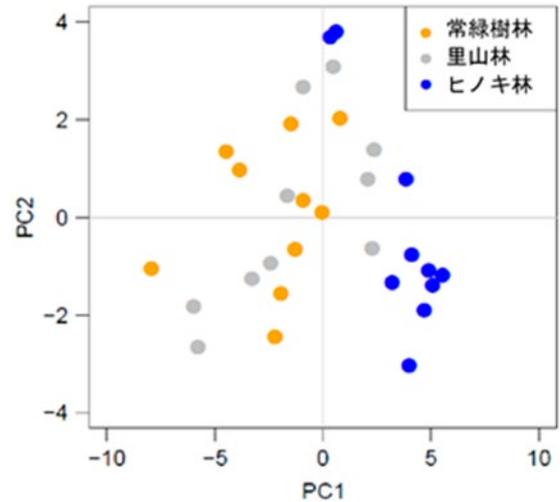


図4. 主成分分析の結果。30コアの第一主成分（1軸）と第二主成分（2軸）を二次元座標上にプロットし、森林間で比較した。点は土壌コアを示す。

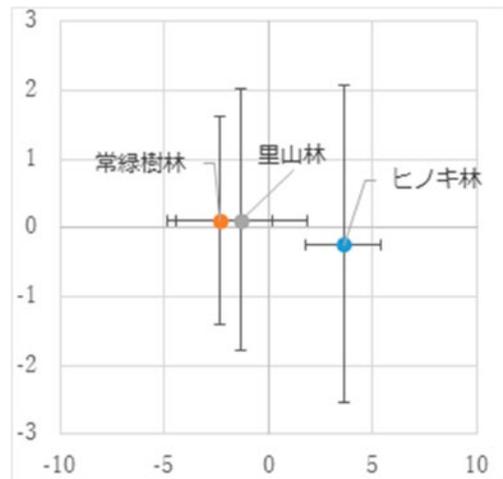


図5. 主成分分析における、第一主成分（1軸）と第二主成分（2軸）の森林毎の平均値（エラーバーは標準偏差）。

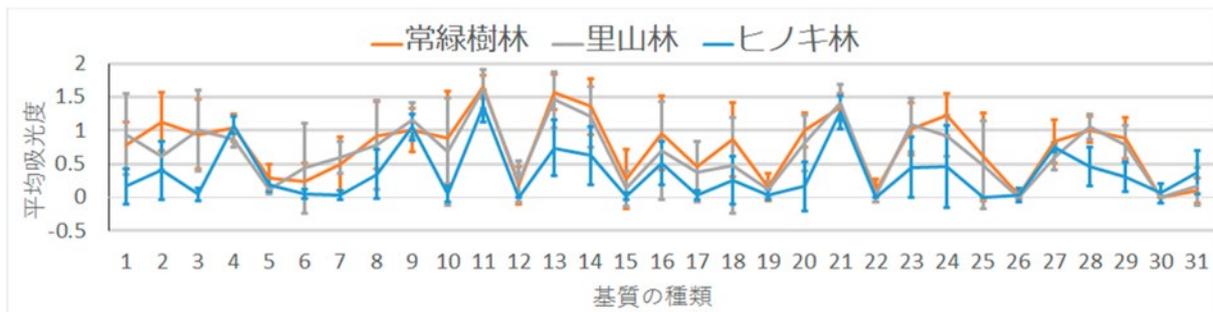


図3. 31の分解基質についての、分解活性の森林内平均値（エラーバーは標準偏差を示す）。分解活性は吸光度で表し、3森林間の比較を示す。

ムを通して関係していると考えられる。例えば、難分解性が強いために、ヒノキ林の土壤微生物群集はある微生物群が優占的となり、このために実験に用いた分解基質でも高い分解性を示さなかった可能性がある。あるいは、ヒノキ林の土壤 pH が低い（データ示さず）ために、微生物群集が低 pH 下で特異になっている可能性もある。アミノ酸などの易分解性基質においても、分解速度がヒノキ林では有意に低かったことから、特異な土壤微生物群集が優占している可能性がある。これについては、今後の研究が必要である。

土壤微生物の分解機能の空間的多様性も森林間で大きく変化した（図 4, 5）。土壤微生物の分解機能の空間的多様性を示す、主成分分析における第一主成分（1 軸）のばらつきがヒノキ林で最も小さかったことから、土壤微生物の分解機能の空間的多様性は、ヒノキ林で低い傾向がある。ヒノキ林ではヒノキが 99% 優占し、森林内に一様に厚くヒノキの落葉・落枝が堆積していることから、土壤微生物の分解機能の空間的多様性は低下しているのだろう。このことは、人間の管理による樹木種多様性の低下が土壤微生物の分解機能の空間的多様性を低下させる、という私たちの仮説を支持する結果である。これは、皆伐・一斉植林のような大規模な人為的なかく乱が土壤微生物の分解機能の空間的多様性を低下させることを示唆している。一方で、常緑広葉樹林と里山林間では、樹木種の多様性が異なるにもかかわらず、土壤微生物の分解機能とその空間的多様性に差は見られなかった（図 5）。里山林では、踏みつけなどにより表土が剥ぎ取られるような大きな人為的影響が林内の一部で観察できたので、樹木種の多様性が低下しても、この土壤環境の空間的異質性が分解活性の空間的多様性を高める効果をもたらした可能性が考えられる。

結論

私たちの結果は、強い人為が、樹木種多様性の低下を介して、土壤微生物の分解機能の多様性に影響を与えることを示した。これまで、森林管理は人間の利用価値や景観の維持を目的として行われてきた。しかし、森林の生物多様性や生態系機能を維持するためには、土壤微生物の分解機能にも配慮した森林管理が必要である。

謝辞

本研究を進めるにあたり、ELCAS 事務局の皆様には献身的な事務的サポートをいただきました。また、京都大学大学院理学研究科の石田厚教授、京都大学大学院農学研究科の岡野めぐみ氏には調査区の植生データをいただきました。深く感謝申し上げます。

参考文献

1. 北山兼弘, 潮雅之, 和穎朗太. 熱帯降雨林の生態系: 樹木と土壤微生物の協奏曲, 「生物多様性ってなんだろう? 生命のジグソーパズル」, 京都大学総合博物館・京都大学生態学

- 研究センター編. 京都大学出版会, 京都. (2007).
2. Ushio, M., R. Wagai, T. C. Balsler & K. Kitayama. Variations in the soil microbial community composition of a tropical montane forest ecosystem: does tree species matter?. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2699–2702. (2008).
3. Zheng, H., Z. Y. Ouyang, X. K. Wang, Z. G. Fang, T. Q. Zhao & H. Miao. Effects of regenerating forest cover on soil microbial communities: A case in hilly red soil region, Southern China. *Forest Ecology and Management* 217: 244–254. (2005).
4. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <http://www.R-project.org>. (2013).
5. 堤利夫 (編). 森林生態学. 朝倉書店, 東京. (1989).

Influences of Forest Management on the Functional Diversity of Soil Microbial Decomposition

AYUMI NINOMIYA^{1, #}, TOUYA YAMAMOTO^{2, #}, MANA MUKAI³, YUKI TSUJII³, DAIKI YOKOYAMA³ & KANEHIRO KITAYAMA^{3*}

¹Kyoto Prefectural Sagano High School, ²Tokushima Municipal High School, ³Graduate School of Agriculture, Kyoto University.

Abstract

In this study, we investigated if/how reduced tree-species diversity due to human interference affects the spatial variability of soil microbial activities by comparing three forest types, which commonly occur in Kyoto (i.e. evergreen broad-leaved forest, satoyama forest, and hinoki-cypress plantation). We collected ten soil cores from the topsoil at regular intervals in each forest. Soils from each core were diluted 100 times in extracting solution and suspended solids were inoculated to a piece of the Biolog EcoPlate, which contains 31 types of organic compounds for microbial community profiling. Inoculated EcoPlates were incubated at 25°C for 96 hrs. Decomposability of each organic compound was assayed by reading spectral absorbance. A principal component analysis (PCA) was applied to the derived data matrix consisting of 30 cores and 31 compounds. Tree species richness decreased in the order of evergreen broad-leaved forest > satoyama forest > hinoki plantation. Results of PCA indicated that the variability among cores was significantly reduced in the hinoki forest than in the other two forests. This suggests that the spatial variability of soil microbial communities/activities is significantly reduced under the mono-specific canopy of the hinoki forest. Because soil microbial communities are an important aspect of biodiversity in a forest ecosystem, microbial diversity needs to be taken into account for better managing those forests.

Key words: Soil microbial communities, Decomposability, Tree-species diversity, EcoPlates, Human interference

#A. Ninomiya and T. Yamamoto have contributed equally as first authors.

*Correspondence Researcher: kanehiro@kais.kyoto-u.ac.jp