

ヒノキ林土壌の細根研究への土壌微細形態学的方法の応用

糟谷 信彦・武田 博清・岩坪 五郎

Application of the soil micromorphological methods to
the fine root studies in a *Chamaecyparis obtusa* forest

Nobuhiko KASUYA, Hiroshi TAKEDA and Goro IWATSUBO

要 旨

土壌微細形態学での薄片法を用いてヒノキ天然生林での土壌堆積腐植層での細根の微細分布を調べた。また、同時に水洗法により土壌堆積腐植層での細根の現存量を推定した。細根の土壌堆積腐植層での垂直分布の様式は、水洗法と土壌薄片法で同様な傾向を示した。調査林分において細根の大部分は土壌堆積腐植層の深さ1～5 cm (F層に対応する層位) に分布していた。土壌堆積腐植層での細根の現存量は7.1 t/h aと推定された。また、土壌の薄片法により細根の形態をもとにして、細根を1 mm以下の吸収根と1 mm以上の肥大成長を示す細根に区別できた。土壌堆積腐植層での細根の95%以上は吸収根からなりたっていた。さらに、土壌薄片のメチレンブルーによる染色法を用いて吸収根は、1) 青く染色される新しい吸収根、2) 皮層と中心柱のスベリン化した吸収根、3) 分解により皮層の失われた吸収根、4) 表皮のみを残す吸収根の4つのタイプに区別された。本研究において示されたように、土壌の薄片法を用いることで、細根の形態に基づく吸収根と(肥大成長を示す)細根との区別、さらに染色法を用いることで吸収根の発生から枯死までの形態の変化を明らかにすることが出来た。この手法は、これまで有機物を多く含むモダールやモル型土壌における細根の動態研究に簡便な方法を提供している。

はじめに

森林生態系の養分循環の機構解明において、地下部での細根の現存量、成長量、枯死量などからの細根の動態研究の重要性が指摘されてきている¹⁾。しかし、土壌からの細根の現存量は、水洗法のような直接法によって推定されており、根の土壌からの採集に多大な労力が必要とされている。さらに、直接法で得られた、細根を生根と枯死根などに区別することは、困難な場合が多い。ここでは、直接法に代わる方法として、土壌の微細形態学で用いられてきている土壌薄片法を用い、ヒノキ林の土壌堆積腐植における細根の分布様式に関する研究を例とした応用を紹介する。この方法は、これまで細根の研究が特に困難であった、土壌に有機物を多く含む堆積腐植層の細根の研究に簡易な方法を提供する。

本研究にあたり調査の便宜を図られた京都大学農学部上賀茂試験地の職員、研究の成果を討論してくださった京都大学農学部森林生態学研究室の皆さんに謝意を表します。なお本研究は科学研究費(一般研究C: 課題番号03660153, 代表者, 武田博清と総合研究A: 課題番号04304002, 代表者, 安部琢哉, 研究分担者, 武田博清)の部分的な助成を受けている。

調査地概要および方法

細根の現存量と土壌における微細分布の様式を、京都市の京都大学農学部、上賀茂試験地内の約80年生の天然生ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) 林において調査した。調査地の上層木は、おもにヒノキから成り立っていた。下層植生は、おもにヒサカキ、サカキ、コバノミツバツツジなどから構成されていた。土壌は、乾性褐色森林土B_h型に属し、鉱物質土壌A層の発達が悪く、厚さ1 cm程度であった。土壌の堆積腐植層は、モーダ型を示し、L、F、H層から成立し、厚さ3-6 cmであった。細根は、おもに堆積腐植層に分布していた。

調査地に、10×20mのプロットを設定し、さらに2×5 mの10個のサブプロットに分けた。1992年3月12日に各サブプロットから1個の土壌サンプルを採集した。細根の微細分布を調査する目的で、表面積25cm² (5×5 cm) で、堆積腐植層 (A_o 層) とその下の鉱物質層であるA層の境界までの深さの土壌を採集した。吸収根である直径1ミリメートル以下の細根は土壌の上層部、特にA_o層に集中的に分布していた。採取した土壌のサンプルは実験室に持ち帰り、約1週間、風乾した。その後、土壌ブロックをアルミホイルで包み、溶解したポリエチレングリコール (分子量4000) を充填した。土壌が固化した後に、5×5 cmで堆積腐植層の厚さのサンプルを、5×2.5cmで土壌堆積腐植の厚さのサンプルに2等分した。一方のサンプルは、水でポリエチレングリコールを溶解させて、水洗法で土壌からの細根を採集した。採集した細根は、風乾の後に重量の測定を行った。もう一方の土壌サンプルは、ポリエチレングリコールを再度、充填して薄片の作成に供した。すなわち各土壌サンプルから1垂直断面を薄片にし、土壌表層から深さ1 cm毎に切断し、メチレンブルーで染色の後スライドガラス標本にした。土壌薄片作製の詳細については武田 (1987) に述べられている²⁾。これを光学顕微鏡により観察し、細根は描画装置を用いてスケッチした。このスケッチの面積をプランメーターによって測定し、吸収根のタイプ毎に記録した。

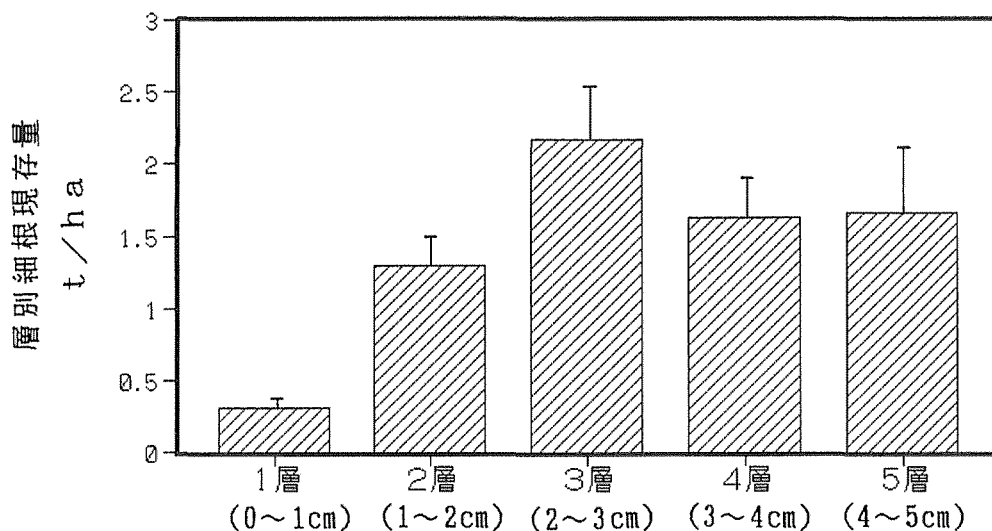


図1. 水洗い法による細根現存量の垂直変化
縦棒は標準偏差を表す

結果と考察

1. ヒノキ林における細根の土壤堆積腐植層での分布様式と現存量

図1に土壤堆積腐植層における細根の現存量の分布様式を示す。細根は2 cmから5 cmのF層に対応する層位に多く分布していた。これらの細根の大部分は、直径1 mm以下の吸収根から成り立っていた。土壤堆積腐植層と鉱物質土壌層との境界に直径1.5mm程度の肥大化した細根が分布し、それらの細根から上部の土壤堆積腐植層に吸収根が広がって分布していた。水洗法により2 mm以下の細根の現存量は、7.1 t/haと推定された。この値は、これまで北米を中心とした常緑針葉樹林の29調査林分での細根現存量の平均値、7.3 t/haに近い値であった³⁾。

2. 細根の形態による分類

これまで細根は、その直径により微細根や細根に区別されている。ここでは、土壤薄片に出現した細根の形態を観察することで、細根を、写真2のBに示す肥大成長を示す細根と、写真2のA, B, Cのように一次成長のみを示す吸収根に区別することが出来た。図2に示すように、細根

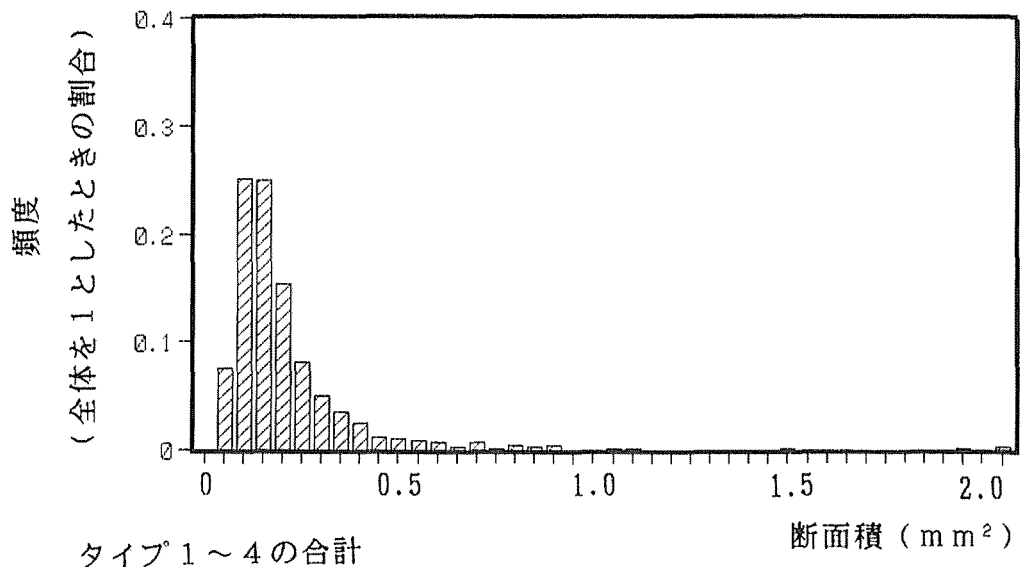


図2. 細根の断面積による頻度分布

の出現個数の90%以上は、断面積 0.4mm^2 (直径で約 0.7mm)以下の吸収根により占められた。

吸収根は、1. メチレンブルーによる染色で青く染まる新しい吸収根、2. 皮層や中心柱が褐色にスベリン化した吸収根、3. 皮層が消失し中心柱の残った吸収根、と、4. 表皮と内皮のみが残った分解した吸収根の4つのタイプに区別することができる。写真3-Aに示すように新しく発生した吸収根は、皮層と中心柱の細胞壁が青色に染色されている。写真3-Cは発生後、吸収根の皮層がスベリン化して褐色に変化しているが、中心柱の内部の原生木部や篩部細胞を取り囲む細胞の細胞壁は青く染色されている。このように、メチレンブルーで染色される1、2のタ

イブの吸収根は、通道組織などの形態から生きた吸収根に対応することが示唆される。吸収根において肥大成長は、認められなかった。吸収根は、発生の後、組織のスぺリン化を経てタイプ3、4のように組織が微生物や土壤動物により分解していく。Reynolds (1975) は Douglas Fir (*Pseudotsuga menziesii*) の細根の薄片を試験的に観察し、分解過程においてまず最初に失われる組織は師部と内鞘で、次に木部であろうと推察している⁴⁾。今回の観察においては、まず師部あるいは皮層から失われはじめ、内皮の層と表皮層が2重のリングを形づくるというパターンが多かった。その後これらのリングは菌や土壤動物によって分解され、分解過程が完了する。

3. 土壤薄片法による細根の分布様式の検討

図3に吸収根の4タイプが、観察した薄片上でどのくらいの面積を占めるか土壤層毎に示した。タイプ1に属する生きた吸収根の割合は、吸収根の全体の中で面積で31%、個体数で24%を占めていた。タイプ2に属するスぺリン化した吸収根は、面積で35%、個体数の36%を占めていた。

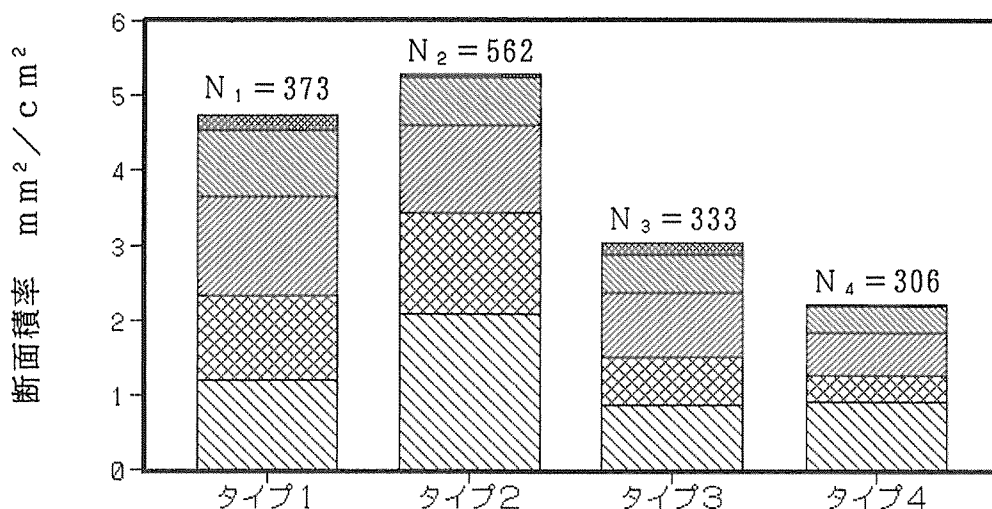


図3. タイプ別の各層における細根断面積率の積み上げグラフ
グラフは上から1層、2層、3層、4層、5層の順に積み重なっているNはサンプル数を表す

一方、分解過程にあるタイプ3、4の吸収根は面積で20%と14%、個体数で21%と19%を占めていた。

図4に各土壤層での単位面積当りの土壤薄片に現れた細根の断面積の合計を表す。この面積率と、同様に表層から1 cm毎に分けて得られた細根重データとの間には、相関関係があった ($P=0.99$)。また、水による洗い出しの過程で、タイプ4などの組織のもろくなった細根が失われることが考えられるので、タイプ1~4の合計だけでなく、タイプ1~3の合計、タイプ1~2の合計、タイプ1のみの3つの場合についても調べたところ、いずれも相関がみられた ($P=0.99$)。

Van Noordwijk ら (1992) は、トウモロコシについて、実際に洗いだした根の長さ、土壤薄片上の根の断面からの根長推定値を比較した⁵⁾。その結果、ばらつきはみられるものの、サンプ

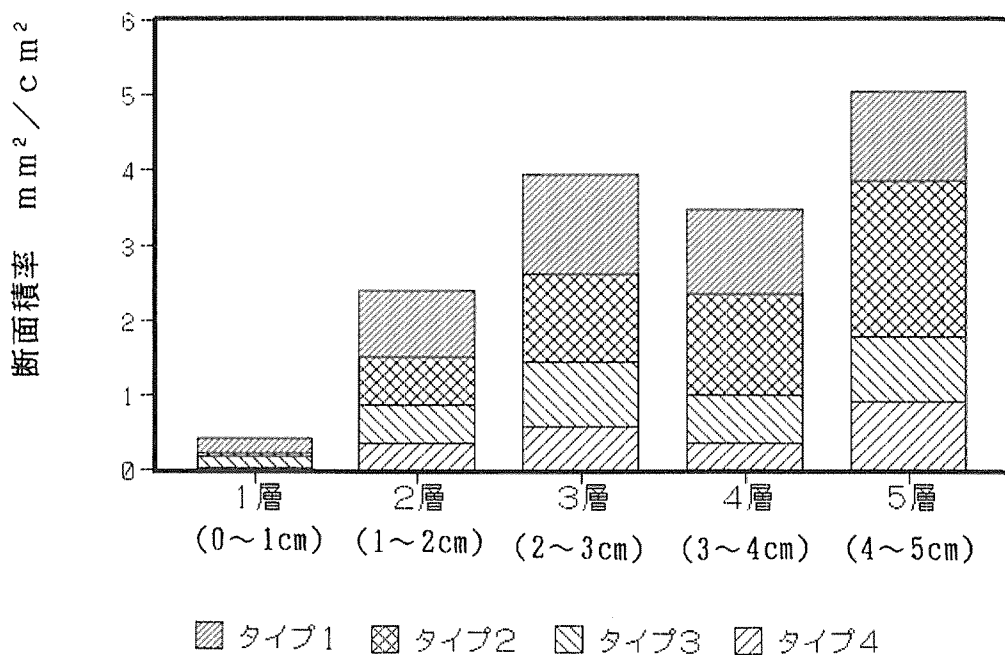


図4. 細根断面積率の垂直変化

ル数が少ないことを考え合わせれば、システムの異なることはないであろうと述べている。今回の研究では、土壤の1断面と細根重を比較したが、断面の位置や数についてはさらに検討する必要がある。

土壤堆積腐植層において細根は、おもにF層に分布していた。写真1のA~Dに示されるように、F層では分解過程にあるヒノキの鱗片葉、トビムシやササラダニの糞、細根がモザイク状の構造を作り上げていた。ヒノキの細根は、土壤堆積腐植層のF層の形成において重要な構成要素となっていることが示された。

4. 細根の研究における土壤薄片法の検討

土壤薄片法を用いることで、これまで研究の困難であった有機物に富む土壤堆積腐植層の細根の分布様式や、細根の形態を用いた細根の分類が可能になった。これまでの細根の研究では、土壤に有機物が多い場合、土壤からの細根の水洗による回収に多大な時間と労力が必要とされてきた。この研究で紹介したように、土壤薄片法を用いることで簡便に土壤堆積腐植層での細根の分布や、細根の発生から枯死までの過程を定量的に記述することが出来た。今後、この手法を用いることで、土壤での細根の成長過程や分解過程から細根の個体群の動態を研究する上での重要な方法を提供している。

本研究において、水洗法での現存量推定値と薄片法で推定された細根の面積の関係を相関解析を用いて検討したが、細根の断面積と細根の現存量との相関係数 r は約0.7と高かった。土壤薄片法では、細根は、断面積や個体数として定量することが可能であるが、これらの断面積や個体数の推定値から現存量を推定する方法の検討が今後の課題として残されている。さらにこうした

方法の改善の後、さまざまな樹種に応用されれば、細根動態の解明に役立つであろう。

引用文献

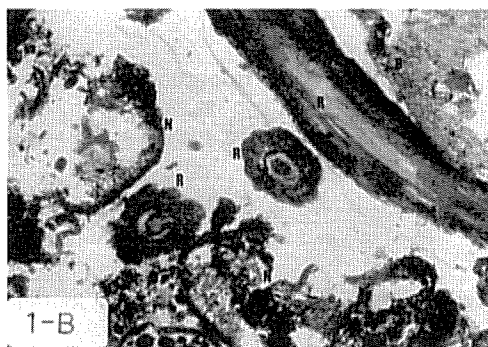
- 1) Fogel, R. (1985) Roots as primary producers in below-ground ecosystems. In : Ecological interactions in soil. 23-36
- 2) 武田博清 (1987) 簡易土壌薄片製作法とそのヒノキ林土壌有機物層の微細形態観察への応用. 京大演報. 58. 1-11
- 3) Vogt, K. A., C. C. Grier, D. J. Vogt (1986) Production, turnover, and nutrient dynamics of above and below ground detritus of world forests. Advances in ecological research. 15. 303-377
- 4) Reynolds, E. R. C. (1975) Tree rootlets and their distribution. In : The development and function of roots. 163-177

Résumé

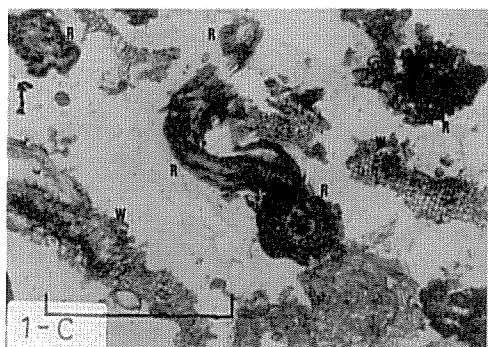
Soil organic layers were impregnated with resin in order to study the microdistribution of fine roots in a *Chamaecyparis obtusa* forest in Japan. Soil thin sections thus made were observed through a microscope. Fine roots were classified by their color and morphology into four types, i) young and stained blue ii) suberized and brown iii) tissue, especially cortex, partly decomposed iv) either epidermis or endodermis remains. There was correlation between the biomass data obtained by the washing method and the fine roots surface area on thin sections ($\alpha = .01$). Consequently, the soil micromorphological methods in this study can be useful for the researches on fine root dynamics.



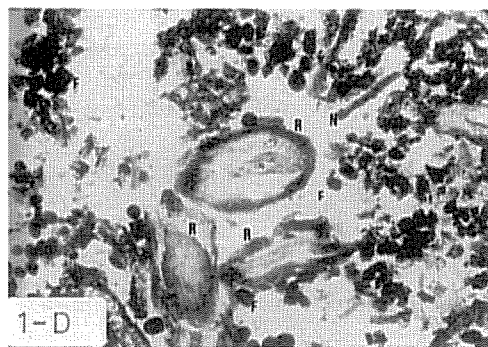
1-A : 土壌堆積腐植のF層における細根の分布様態。細根は、分解したヒノキの鱗片葉とともにF層の構造を形成している。Rはスペリン化したタイプ2の吸収根である。鱗片葉は分解して表皮のみが残っている。内部はトビムシなどの糞に変化している。



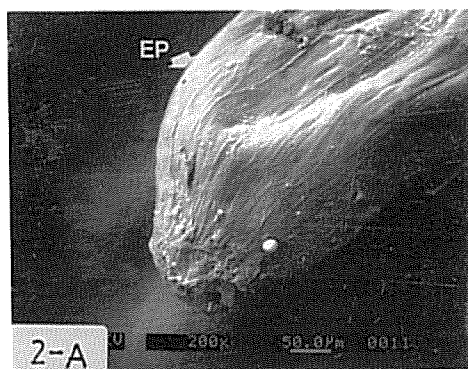
1-B : F層における細根の分布様式。細根、分解葉、虫の糞がモザイク状に分布している。Rは、中心柱がメチレンブルーで染色されたタイプ1の吸収根。B, Nは、それぞれ分解過程にある材、ヒノキ鱗片葉。



1-C : 分解した材の中に入したヒノキの吸収根。Rはタイプ1の生きた吸収根。Wは分解した材。



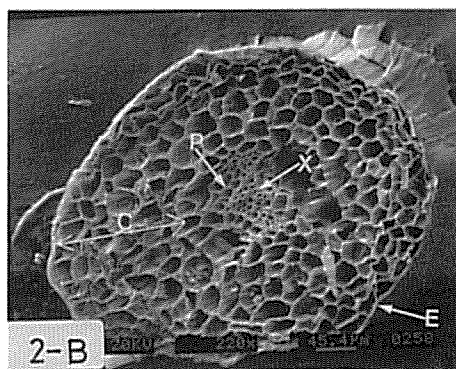
1-D : Rは、いずれもタイプ3の吸収根である。Fは土壌動物の糞を示す。



2-A

0.1mm

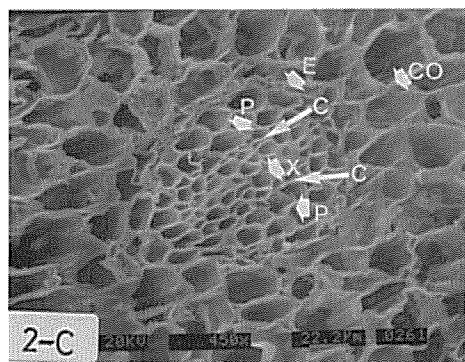
2-A : ヒノキの吸収根の根端部分。
表皮には菌糸が走っている。
EP : 表皮



2-B

0.1mm

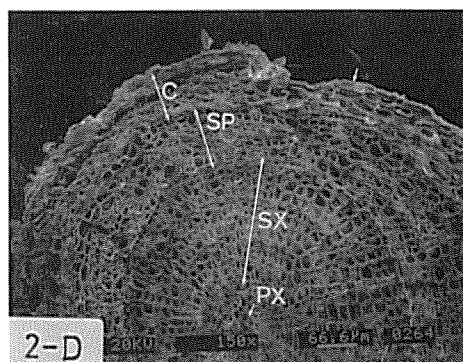
2-B : ヒノキの吸収根の横断面。E : 表皮、P :
一次篩部、X : 一次木部、C : 5, 6層からなる表
層の柔細胞。根端での中心柱には、それを取り囲む
明瞭な内皮が発達していない。



2-C

0.1mm

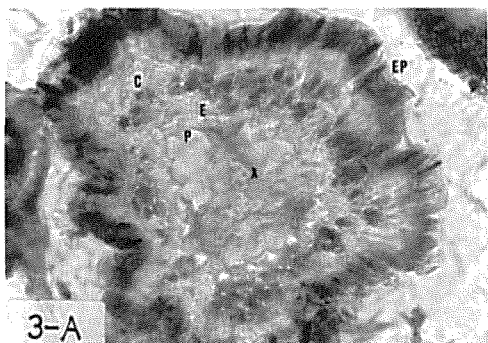
2-C : ヒノキ吸収根の維管束部分の形態。P : 一
次篩部、X : 一次木部、C : 形成層、CO :
皮層。全般において維管束の配列は、2原
型あるいは3原型であった。



2-D

0.1mm

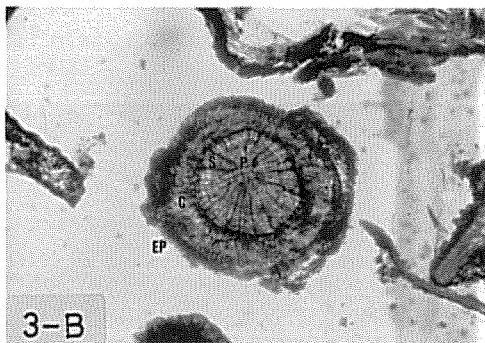
2-D : 肥大成長を示す細根。二次木部に4年間の
年輪を読み取ることができる。PX : 原生
木部、SX : 二次木部、SP : 二次篩部、C :
コルク層。



0.1mm

EP:表皮、S:二次木部、C:皮層、E:内皮、P:一次篩部、X:一次木部。

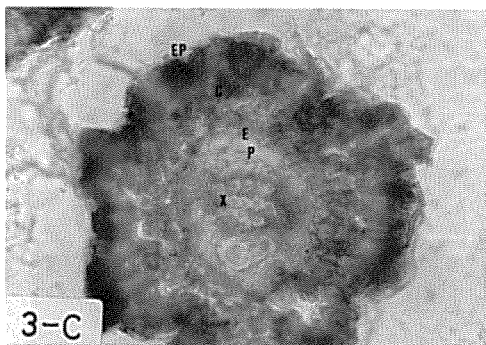
3-A:新しい吸収根。一次篩部と一次木部は放射配列を示している。表皮を除いて組織はメチレンブルーで染色されている。



3-B

1mm

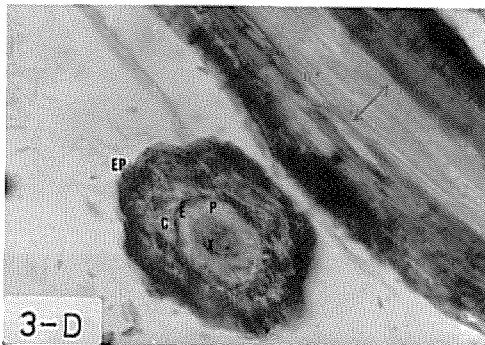
3-B:肥大成長を示す細根。こうした細根は、肥大成長して支持根となっていく。



3-C

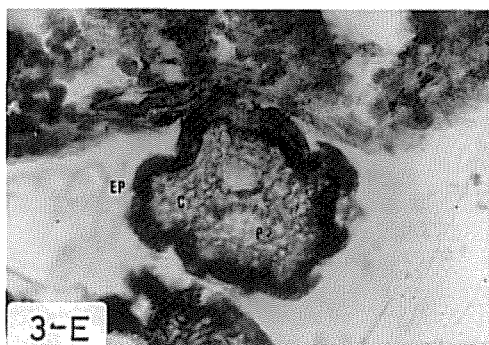
0.1mm

3-C・D:皮層部分がスベリン化した吸収根。中心柱の内部の柔細胞は青く染色されている。右上に縦断面がある。3-A・C・Dは、タイプ1の生きた吸収根。



3-D

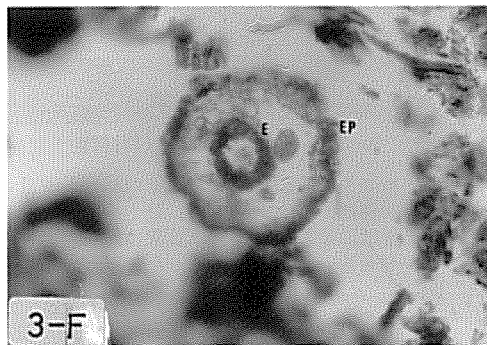
0.1mm



3-E

0.1mm

3-E:根の内部組織が全体にスベリン化して褐色になっている。一次篩部の部分が空洞化している。タイプ2の吸収根の形態。



3-F

0.1mm

3-F:皮層部分が分解して失われた吸収根。内皮部分と表皮部分が残って二重のリングを形成している。3-Gにはササラダニの糞が認められる。