

研究紹介

北海道東部の森林において
林冠木の細根が
土壌窒素動態に与える影響中山 理智
(環境生態学コース)Soil nitrogen dynamics affected
by the fine roots of canopy trees
in Eastern Hokkaido, JapanMasataka Nakayama
(Course of Environmental Ecology)

Plants release mixtures of labile organic matter from their fine roots (root exudates) into the surrounding soil (rhizosphere). Partly due to the release of root exudates, microbial community structures and their activities within the rhizosphere differ significantly from those in other soil areas (bulk soil). Consequently, nutrient cycling processes, including nitrogen mineralization, are accelerated in the rhizosphere, facilitating nutrient acquisition by plants. This phenomenon, known as the rhizosphere effect, has been repeatedly reported in studies of herbaceous plants; however, the impact of canopy tree fine roots on soil nitrogen dynamics through the effect in forest ecosystems remains largely unknown. Here, I introduce our research investigating the root exudates and rhizosphere effects of the fine roots of canopy trees, *Quercus crispula*, and how these fine roots affect soil nitrogen dynamics. The quantity of root exudates varied daily rather than seasonally, with solar radiation having a strong and positive effect on the amounts. However, even after leaf fall, root exudation was observed. In the rhizosphere, specific bacterial communities were present regardless of season, while ectomycorrhizal fungal populations were higher than in the bulk soil only in summer. Extracellular enzymatic activity relating to nitrogen cycling was higher in the rhizosphere than in the bulk soil across seasons. Nitrogen uptake by the tree was likely lower in winter and spring, leading to labile nitrogen accumulation in the rhizosphere during these periods. On an annual basis, however, the impact of fine roots on apparent inorganic nitrogen dynamics was minor. These results suggest that the canopy tree, *Q. crispula*, accelerates soil nitrogen cycling through root exudation and rhizosphere effects, regardless of season, while the acceleration of the cycle and the utilization of available nitrogen are well-balanced annu-

ally, thereby avoiding unnecessary carbon investment.

Key words : *Quercus crispula*, root exudates, rhizosphere effect, nitrogen dynamics, nitrogen uptake

諸 言

窒素は植物の生育にとって最も重要な元素のひとつである。一方で、森林土壌ではほとんどの窒素は植物が直接利用することができない高分子量の有機態窒素として存在する。そのため、多くの森林生態系において窒素の利用可能性がしばしば一次生産を制限する要因となる¹⁾。高分子量の有機態窒素は微生物による分解・無機化の作用を経て、植物が利用可能な低分子量有機態窒素や無機態窒素へと転換される。近年、地球温暖化の緩和に向け、森林生態系への炭素隔離が着目されているが、一次生産の向上による大気中の二酸化炭素の低減などには分解・無機化プロセスを含む土壌窒素動態の解明が不可欠である。

植物は細根の周辺土壌(根圏)にアミノ酸や糖などの易分解性有機物を含む、根滲出物と呼ばれる化合物を滲出している。根圏では微生物が根滲出物を利用することで微生物の成長や活動が活発であり(根圏効果)、微生物が担う分解・無機化プロセスが促進されることが知られている。すなわち、植物は根から炭素化合物を放出することで、根圏における窒素無機化を促し、効率的に窒素を獲得している。こうした根圏の特異な環境は20世紀初頭にはすでに広く知られており、現在までに根滲出物や根圏に関する多くの研究が行われている。ただし、そのほとんどは草本植物または樹木の実生を用いて行われたものであり、技術的な困難さから森林を構成する成木、特に林冠木における知見は非常に限られている。

樹木は年間を通じて生存するが、従来樹木にとって冬期は休眠期であると考えられてきた。しかし、近年の研究によって落葉樹であっても土壌から窒素を吸収すること、またその窒素が春季の展葉に重要であることが報告されている^{2,3)}。さらに、土壌微生物は氷点下でも活動を継続することが知られている⁴⁾。このことから、冬期間でも林冠木の細根の周りでは特異的な反応が生じている可能性がある。しかし、上述のように林冠木における研究は限られているため、林冠木の根滲出物や根圏での無機化促進効果の季節性は不明である。

我々は国内に広く分布するとともに、しばしば北海道で一斉林を形成する高木であるミズナラを対象とし、根滲出物および根圏でのプロセスに着目することで、林冠木の細根の存在が土壌窒素動態に与える影響やその季節性に関する研究を進めている。本稿ではこれまでに得ら

れた結果を紹介するとともに、現在進行中の研究に関して概説する。

1. ミズナラ林冠木からの根滲出物放出量とその規定要因の解明⁵⁾

根滲出物は根圏効果を引き起こす原因の一つであることから、その量は根圏効果の大きさに強く影響する⁶⁾。そこで、我々は第一に根滲出物量の測定とその量に影響する要因の解明に取り組んだ。根滲出物の採取は近年開発された *Cuvette* 法と呼ばれる方法⁷⁾を用い、5月から11月にかけて、8月を除いて毎月2回行った。

その結果、林冠木であるミズナラの根滲出物は(1)季節よりも日々の変動が大きいこと、(2)前日の日射量とその量におおきく影響すること、(3)落葉後である11月でも根滲出物が観測され、その量は日射量との回帰直線の切片近くであること(Fig. 1)が明らかとなった。これらの結果から、林冠木の根滲出物は前日の光合成量に強く影響する一方で、一定程度は光合成量に限らず、また季節を問わず滲出することが示唆された。

また、調査地の年間日射量に基づいて計算を行うと、根滲出物としての炭素放出量は年間で葉リターの炭素の10%ほどに相当することが推定された。落葉後の11月から展葉前の4月にかけての期間は回帰直線の切片相当の炭素が日々放出されていると仮定すると、この期間に放出される根滲出物は年間の葉リターの約3%に相当することも推定された。

2. 樹木根圏の窒素循環促進効果および微生物群集の季節性^{8,9)}

落葉期間中も根滲出物が放出されているという1の結果は、冬期においても林冠木の細根周辺では微生物が多く、窒素循環が促進されている可能性を示唆している。そこで、当該可能性を検証するために、我々は落葉後に着目してミズナラ根圏の調査を行った。なお、厳冬期である12月から3月にかけては土壌が凍結しているため、落葉後の11月(初冬)、展葉前の4月(初春)および比較として8月(盛夏)を対象とした。

2-1. 根圏土壌における細胞外酵素活性の季節性

微生物は細胞外酵素を生産し、分解や無機化を行う。そこで、本研究では窒素循環に関わる β -1, 4-N-acetylglucosaminidase(NAGase)を含む6種の細胞外酵素の活性を物質循環速度の指標として測定した。ミズナラ根圏および非根圏土壌に加え、比較として林床植生であるミヤコザサ根圏も同様に調査した。その結果、リン循環、窒素循環に関わる細胞外酵素(Acid phosphatase および NAGase)は季節を問わず、ミズナラおよびミヤコザサともに根圏で非根圏より活性が高く、ミズナラ根圏でよりその影響が顕著であった(Fig. 2)。一方で、炭素循環に

関わる Xylosidase や Glucosidase の活性は必ずしも非根圏より高いものではなく、根圏では特定の元素の循環が主として促進されていることが示唆された。

また、根圏において、可溶態の有機態窒素濃度は初冬および初春においてのみ高かった。これは、初冬や初春も含め季節を問わず細根の周りでは有機物の分解が促進される一方で、盛んに養水分の吸収が行われる夏期に比べ、初冬・初春では窒素の吸収量が低下するためであると考えられた。

2-2. 根圏土壌の微生物の量と群集構造およびその季節性

本研究ではミズナラおよびササ根圏から DNA を抽出し、定量 PCR を用いて細菌、古細菌および真菌の DNA 量を測定するとともに、次世代シーケンスによって原核

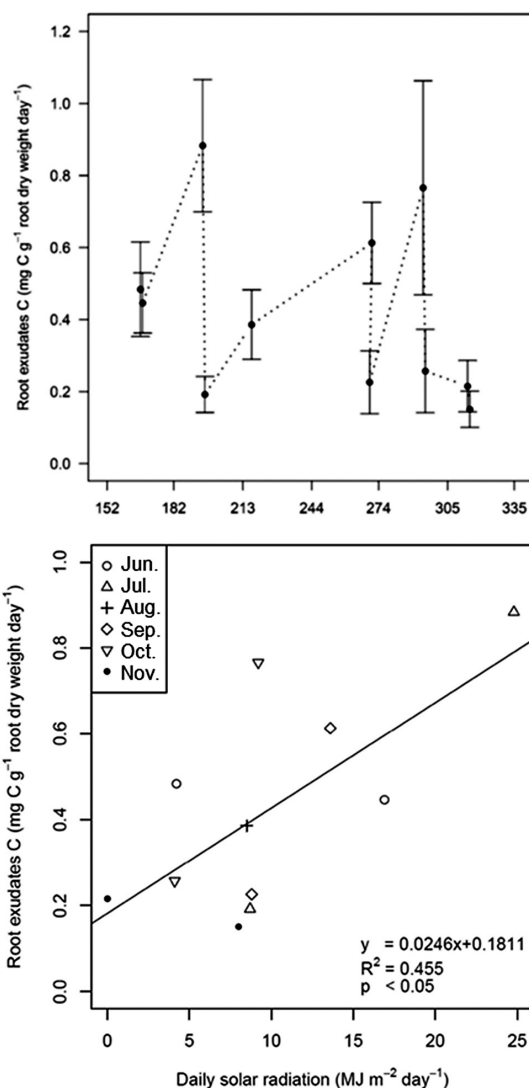


Fig. 1 Seasonal variability of the mass-specific root exudate C and the relationship between the root exudate C and the daily solar radiation on the incubation start day. [Modified from Nakayama and Tatenno (2018) Trees]

生物および真菌の群集構造を解析した。その結果、ミズナラおよびササ根圏において、細菌・古細菌の DNA 量はいずれの季節においても非根圏と有意には異ならないという結果が得られた (Fig. 2)。真菌の DNA 量はミズナラ根圏において季節を問わず非根圏より多いものの (Fig. 2)、細根においてミズナラと共生する真菌である外生菌根菌の相対優占度は盛夏のみ根圏で非根圏より有意に多かった。このことから、ミズナラは光合成が盛んな夏期に外生菌根菌に炭素を多く投資する一方で、外生菌根菌の活動が低下する初冬や初春は他の真菌の生育が根圏で盛んであることが示唆された。

また、群集構造解析の結果、ミズナラ根圏には *Proteobacteria* や *Acidobacteria* に分類される一部の微生物を含む微生物グループ (図中の Module 1) が季節を問わず一貫して多いことが明らかとなった (Fig. 3)。これら根圏に多い微生物の推定存在量は pH や含水率と有意な相関を示したことから、Module 1 の微生物は根圏特異な低 pH、高含水率の環境を好んでいることが示唆された。さらに、Module 1 の微生物の推定存在量は Xylosidase を除く、測定したすべての細胞外酵素活性と有意な正の相関関係を持っていた。このことから、高い成長速度や活性を持ち、根圏の環境を好む微生物が根圏での窒素やリン循環の促進に重要な役割を担うことが示唆された。

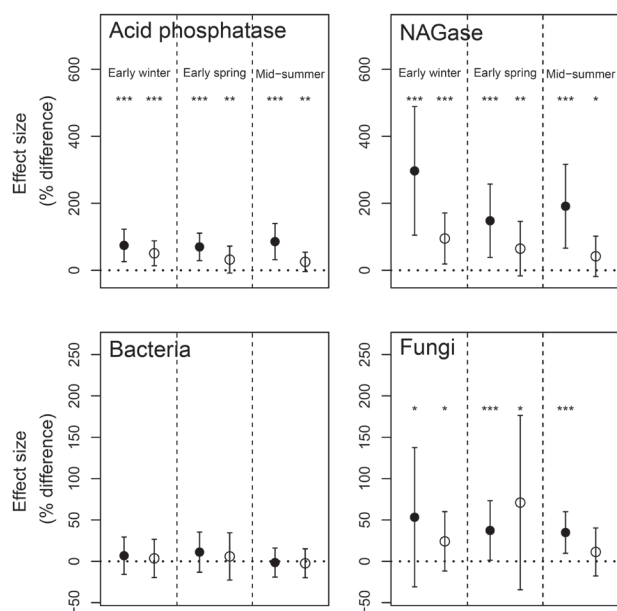


Fig. 2 Rhizosphere effects on the activity of extracellular enzymes and gene abundances. The filled and open circles represent the rhizosphere effect for the canopy tree and understory vegetation, respectively. The circles and error bars represent means ($n=16$) and standard deviation. The symbols (*, **, and ***) indicate that the effect significantly differs from zero. The symbols are as follows: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, and *** $P<0.001$. [Modified from Nakayama and Taten (2022) Rhizosphere]

3. 根圏効果による窒素循環促進と樹木根による窒素吸収のバランス¹⁰⁾

植物は根圏で窒素循環を促進するだけでなく、窒素の吸収も行っている。植物根による土壌窒素動態への影響は分解・無機化の促進とそれによって作られた可給態窒素の吸収量とのバランスによって決まる。しかし、野外において林冠木が窒素循環に与える影響を評価する手法は確立されていない。そこで我々は生きた根を用いて野外で土壌培養を行う手法を開発し (Fig. 4)、ミズナラの細根とともに土壌を一年間野外培養することで、分解・無機化促進と吸収の両方を加味したうえで林冠木の細根が窒素動態に与える影響を評価した。培養に用いた細根の生死は形態および根圏の酵素活性測定により判断した。

細根が生きていた培養器において、根圏では非根圏よりも培養終了時に酵素活性が高いことが明らかとなり、窒素循環プロセスが促進されていたことが示唆された。一方で、細根があってもなくても土壌中で作られた無機態窒素量は見かけ上は変わらないことが明らかとなった。すなわち、2. 1. に示したように窒素循環プロセスの促進効果と窒素吸収のバランスは季節的に変化するものの、林冠木は根圏で窒素循環プロセスを促進することで供給

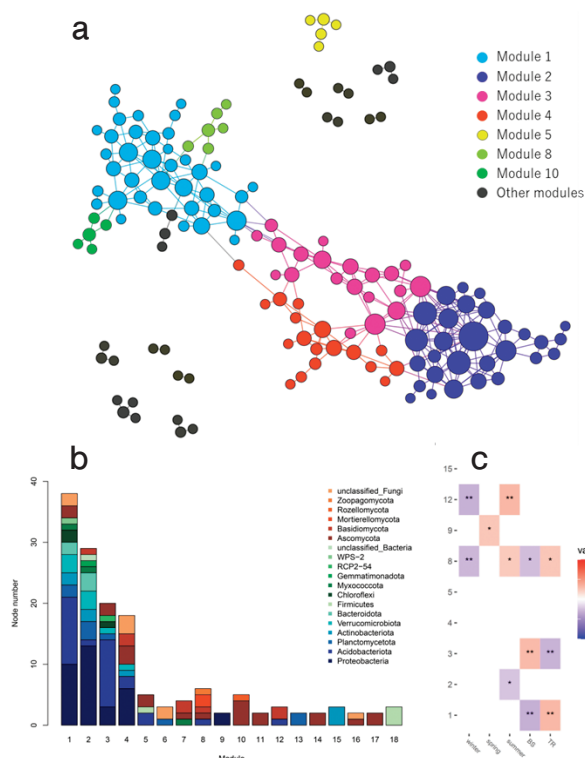


Fig. 3 (a) Microbial co-occurrence network, (b) members of each module, and (c) correlations between estimated absolute abundance of each module and sampling season and positions. BS and TR represent bulk soil and tree rhizosphere, respectively. [Modified from Nakayama and Taten (2025) Plant Soil]

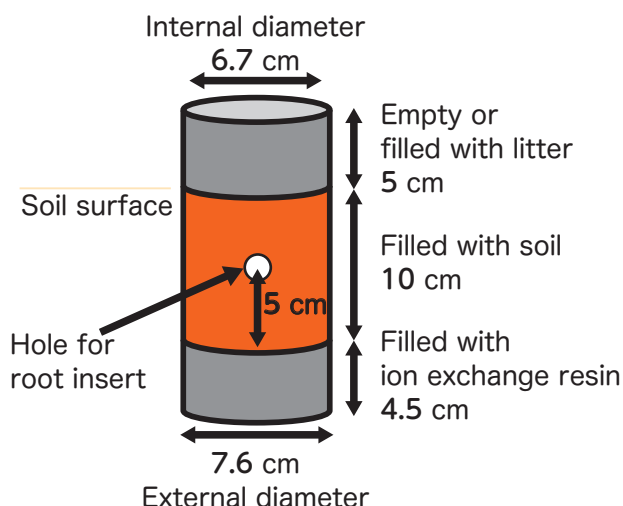


Fig. 4 Schematic of the incubation pipe. [Cited from Nakayama & Tateno (2021) Rhizosphere]

された窒素をすべて吸収しており、年間では吸収と分解・無機化促進との間で量的な釣り合いが取れていることが示唆された。

おわりに

ハーバー・ボッシュ法の登場によって大気中の窒素を工業的に活性窒素に転換できるようになり、食糧生産は飛躍的に向上した一方で、自然界における活性窒素は増加の一途をたどっており、都市近郊の森林などの一部では過剰な窒素が系外へ流出する窒素飽和という現象が生じている。しかし、多くの森林生態系では依然窒素の利用可能性が一次生産の制限要因であり、有機物分解・窒素無機化のプロセスは植物の生育に重要なプロセスである。本稿では森林を構成する林冠木が根圏で分解・無機化に影響し、効率的に窒素を獲得する戦略に関する研究を紹介した。

林冠木の細根からは年間で葉リターの10%ほどに相当する量の有機態炭素が根分泌物として土壤中に放出される。この炭素は根圏において微生物の組成を変え、窒素循環に関わる酵素活性を高めることで、ミズナラの養分獲得に重要な役割を果たしている。一方で、そうした炭素も光合成によって獲得した炭素であり、根圏へ投資しなければ樹体の成長に使えたものである。実際、先行研究において、土壌の養分状況が改善されると菌根菌および根分泌物を含む地下部への炭素投資が減少することが報告されている^{11,12)}。葉リターの10%程という炭素の負担が多いか少ないかの判断はできないが、窒素循環プロセスの促進によって作られた無機態窒素はすべて吸収されており、見かけ上は細根の影響がみられなかったことから、林冠木であるミズナラは必要最低限の炭素を投資し、効率的に窒素を獲得していることが考えられる。

岡山大学への着任後は¹³Cトレーサーなども用いつつ、

根から滲出した炭素がどのように微生物に利用されるかの解明を進めている。分解・無機化の担い手も含め、林冠木が窒素動態に与える影響を詳細に解明することで、森林の土壌窒素循環の全容解明に繋がるものと考えている。窒素は森林の一次生産の制限要因となる一方で、過剰に供給されると地下水・河川に流出して水質汚染を引き起こしたり、二酸化炭素の約300倍の温室効果を持つ一酸化二窒素ガスとして大気へ放出されたりする。陸域の約3割を占める森林生態系において土壌窒素循環を解明し、適切な管理につなげることで、炭素蓄積の増大や温室効果ガス排出抑制なども含め、地球環境保全および持続可能な発展に貢献できるものと考えている。

文 献

- 1) LeBauer, D. S. and K. K. Treseder: Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology*, **89**, 371-379 (2008)
- 2) Ueda, M. U., E. Mizumachi and N. Tokuchi: Winter nitrate uptake by the temperate deciduous tree *Quercus serrata*. *Journal of Forest Research*, **15**, 411-414 (2010)
- 3) Ueda, M. U., N. Tokuchi and T. Hiura: Soil nitrogen pools and plant uptake at sub-zero soil temperature in a cool temperate forest soil: a field experiment using ¹⁵N labeling. *Plant Soil*, **392**, 205-214 (2015)
- 4) Tilston, E. L., T. Sparrman and M. G. Öquist: Unfrozen water content moderates temperature dependence of sub-zero microbial respiration. *Soil Biol Biochem*, **42**, 1396-1407 (2010)
- 5) Nakayama, M. and R. Tateno: Solar radiation strongly influences the quantity of forest tree root exudates. *Trees*, **32**, 871-879 (2018)
- 6) Wang, Q. et al.: Differences in root exudate inputs and rhizosphere effects on soil N transformation between deciduous and evergreen trees. *Plant Soil*, **458**, 277-289 (2021)
- 7) Phillips, R. P., Y. Ehlitz, R. Bier and E. S. Bernhardt: New approach for capturing soluble root exudates in forest soils. *Funct Ecol*, **22**, 990-999 (2008)
- 8) Nakayama, M. and R. Tateno: Shift in the rhizosphere microbial communities between growing- and low-temperature dormant seasons in a northern hardwood forest. *Plant Soil*, **512**, 89-105 (2025)
- 9) Nakayama, M. and R. Tateno: Rhizosphere effects on soil extracellular enzymatic activity and microbial abundance during the low-temperature dormant season in a northern hardwood forest. *Rhizosphere*, **21**, 100465 (2022)
- 10) Nakayama, M. and R. Tateno: In-situ measurement of the effect of canopy tree fine roots on nitrogen availability in forest soil. *Rhizosphere*, **18**, 100324 (2021)
- 11) Höglberg, M. N. et al.: Quantification of effects of season and nitrogen supply on tree below-ground carbon transfer to ectomycorrhizal fungi and other soil organisms in a boreal pine forest. *New Phytologist*, **187**, 485-493 (2010)
- 12) Marshall, J. D. et al.: Components explain, but do eddy fluxes constrain? Carbon budget of a nitrogen-fertilized boreal Scots pine forest. *New Phytologist*, **239**, 2166-2179 (2023)