

C-2 酸性・汚染物質の環境-生命系に与える影響に関する研究

(1) 根圏環境の酸性化が微生物及び養分バランスに与える影響に関する研究

農林水産省林野庁森林総合研究所

森林環境部 養分動態研究室 赤間亮夫・溝口岳男・重永英年・長倉淳子

森林生物部 土壌微生物研究室 岡部宏秋・赤間慶子・山中高史

平成8～10年度合計予算額 29,382 千円

〔要旨〕 関東平野のスギ林で衰退の見られる地点の土壌を調べたところ、pHの低下とともに硝酸態窒素の集積しているものが認められた。

そこで、苗木をこのような窒素過剰ないしは酸性化という状況においてその生育を調べたところ、このような養分環境の変化は根圏の微生物に対して影響が大きいことがわかった。また微生物と共生した状態の苗木は、このような窒素過剰状態で地上部と根のバランスに変動を起こしてこくとも認められた。さらに窒素過剰が進んだ状態では、伸長成長の減退、針葉の含水率の変動などの症状も見られた。このような現象は、マグネシウムやカルシウムの不足と関連している可能性も考えられた。

次に、実際の林地における窒素系酸性化物質の負荷が、林木にどのような影響を及ぼすかを、平地のスギ林において調べた。2年間の処理により、土壌pHは、対照に比べると低下傾向を示していた。土壌水成分では、硝酸イオンの増加（窒素量の増加）にともなってカルシウムやマグネシウム濃度の増加が見られた。これはカルシウムやマグネシウムが水に溶けやすくなっていることを示しており、いずれは水の流れに従ってこのような塩基類が流亡し、その後、土壌の酸性化が急激に進行する可能性がある。林地でも窒素化合物の処理は、短期的には根圏の細菌類の増加をもたらした。また、窒素化合物の処理によりスギの針葉に含まれる様々な成分の一時的な増加が見られたあとに、リンやカリウムの濃度低下が見られた。一方、光合成や蒸散などの生理活性にはほとんど差が認められておらず、このような含有成分の変化がただちに衰退につながるものか否かは今のところはっきりしていない。しかし、さらに反応が進んで土壌中のカルシウムやマグネシウムなどが不足してきた場合には、衰退につながる可能性は高くなるものと考えられた。

〔キーワード〕 スギ、根圏微生物、硝酸、塩基、酸性雨

1. はじめに

わが国でも、いくつかの樹木の衰退現象が報告されているが、特に関東地方のスギは顕著な症状を見せている。このスギの衰退が酸性降下物と関係があるか否かを解明することは重要な問題である。これまでの酸性降下物の試験では、草本植物では接触害が見られることがあるが、スギの場合には降雨等の酸性度よりもはるかに強い酸を散布しても傷などの直接的な症状は現れな

った。次に考えられるのは、酸性降下物が土壌に蓄積し、その結果としての土壌条件の変化がスギの衰退を引き起こすという可能性である。

主な酸性降下物としては、硫黄化合物と窒素化合物があるが、このうち硫黄化合物は、排出量の減少、生態系内における移動性が低い、植物による取り込みが少ない、などの特徴を有している。これに対し、窒素化合物の排出量は減少していない。また、窒素化合物は生態系内での移動性が硫黄化合物よりも高いので土壌中への浸透が速く、そのため、窒素化合物の負荷による土壌の酸性化や塩基の流亡等の土壌の化学性の変化は、硫黄化合物よりも速やかに起こると考えられる。さらに、窒素化合物は植物にとっては主要な養分元素であるため、その供給量の変化は生育に対する影響が大きい。窒素化合物の負荷により、土壌の酸性化が進み塩基が流亡するとともに、この過程で窒素の過剰化現象が生じることも懸念されている。この結果、樹木の養分バランスが不均衡になり、組織が軟弱になるなど諸被害を受けやすくなると考えられる。このように、窒素化合物の負荷量の増加は森林生態系に対する影響が重大と考えられる。しかしながら、窒素化合物は養分元素であることから、その害作用はあまりないと考えられ、従来の酸性降下物に関する試験では、硫黄化合物である硫酸を用いた試験が多く行われた。これまでの植物に対する試験結果があまり明瞭でなかった原因のひとつはこのような点にもあったと考えられる。近年ヨーロッパでも、酸性降下物としては窒素化合物が問題視されてきている。さらに、スギの衰退が見られる関東地方では、降雨の成分組成において、窒素化合物である硝酸イオンの割合が相対的に高くなっている。このようなことから、本研究ではスギ苗のポット試験において、窒素化合物を過剰に与えて酸性化させた場合のスギの成長状態、あるいは栄養生理状態をしらべた。

一方、このような症状と、野外の衰退現象との関係を考えるには、苗木と成木という樹木の大きさの違い、ポットの栽培環境と林地の気象条件の違い、土壌がポットに詰められている状態と林地にある状態の違い、すなわち土壌の物理性、化学性などの条件の違いなどを補わなければならない。そこで、本研究においてはさらに、ある程度の大きさをもった林分の土壌に、窒素系の硝酸酸性溶液を継続的に散布し、林木と土壌を同時に、継続的に観察することにより、その影響を明らかにする。また、林地土壌に負荷される窒素化合物のうち主要なものは硝酸態とアンモニア態である。硝酸態窒素はいうまでもないが、アンモニア態窒素も土壌中では微生物の硝酸化成作用により、速やかに硝酸態窒素となって酸性化の原因となる。さらに、アンモニア態窒素は、比較的流亡しにくいので長く林地にとどまり、徐々に酸性化していく。そこで、アンモニア態窒素を含んだ硝酸アンモニウムも散布し、林地への影響を調べる。

このような窒素化合物は、林地土壌に降下後、ただちに植物に吸収されるものや塩基類を伴って流亡するもののほかに、土壌微生物によって化学的変換を受けるもの、微生物体に取り込まれて有機化するものなどがある。また、樹木は通常は、菌根菌等の土壌微生物と共生状態にあり、これらの微生物が養分吸収に深く関与している。このため、樹木の衰退と酸性降下物の関係を調べるうえで土壌微生物との関係を解明することは不可欠の要因である。

本研究では、林地に人為的に窒素系の酸性物質を負荷し、土壌、土壌微生物、樹木というつながりにおいて、窒素の動きに関連した養分バランスの変動や根圏の微生物の変動等の生物的反応を調べ、酸性降下物が樹木の衰退現象に対して関与する可能性があるのか、あるとすればどのようなメカニズムであるのかを究明する。

2. 関東平野のスギ林における土壌の無機態窒素と pH の状況

秋季（10月）に関東平野の各地のスギ林の土壌を調査した。試料を採取したのは、主に社寺林であり、スギの生育しているところの土壌の表層0～5cmを採取した。試料については、pHとKCl抽出によるアンモニア態窒素、硝酸態窒素の濃度を測定した。アンモニア態窒素の濃度は低かったため、硝酸態窒素とpHの関係を図示すると図-1のようになる。

全体的にpHは低く、硝酸態窒素の濃度は高いと考えられる。

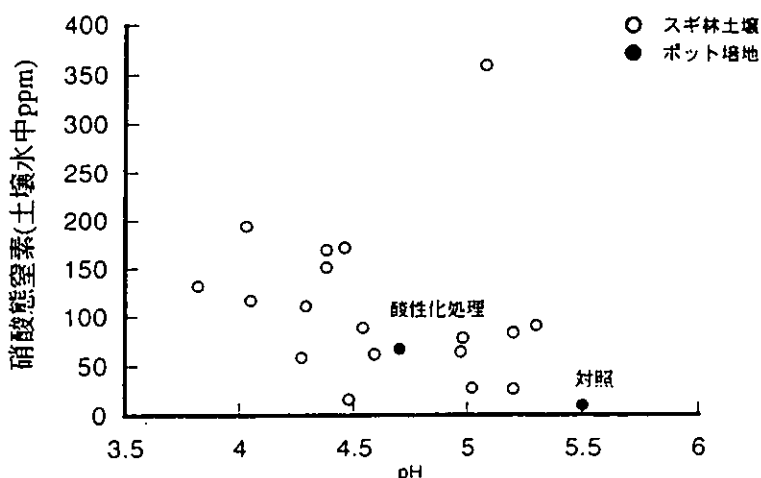


図-1 関東地方のスギ林土壌及びポット試験培地の土壌条件

3. スギ苗ポット試験における培地の酸性化の影響

(1) ガラス室内において、スギ1年生苗の砂耕栽培試験を行った。窒素源として、土壌中で酸化されて酸性化の元となるアンモニア態窒素を与えた区（酸性化处理区）と、対照として硝酸態窒素を与えた区（対照区）をもうけた。さらに、塩基類の状態を変えるためにカリウムを与えた区と与えない区を組み合わせた。5月から11月まで、週1～2回、砂の表面に培養液を与えた。11月初旬に蒸散を測定後、苗を収穫し、根の一部および栽培培地中における菌根の形成状態と亜硝酸酸化菌数を調べた。また、針葉と根を化学分析した。

①苗の収穫時における培地の条件は図-1のようであった。酸性化处理区ではpHの低下と硝酸態窒素の集積が認められ、関東平野のスギ林の土壌の表層部と比べると、酸性化の程度は中程度に相当する状況になっていたと考えられる。

②酸性化处理及びカリウムの供給量の違いによる影響は、伸長成長量及び針葉の含水率にあらわれていた。

ア、伸長成長量は、酸性化处理区で、またカリウムを施用した方が少なかった。

5月から10月までの伸長成長量 (cm)

	+ K	- K
酸性化	6.54 ± 3.56	10.18 ± 4.32
対照	11.58 ± 2.12	14.10 ± 2.80

イ、針葉の含水率は、酸性化处理区が高く、対照区のうちカリウムを与えなかったものの含水率は低かった。

	+K	-K
酸性化	74.55±2.67	74.68±2.03
対照	72.54±3.61	68.44±3.52

③根の周囲には複数種の菌根菌が検出された。酸性化処理あるいはカリウムを施用した場合に、根内孢子量と根面菌糸量が少なかった。

④亜硝酸酸化菌数測定法について、栽培に用いた砂と根を試料として検討した。亜硝酸酸化菌は、対照区よりもアンモニア態窒素を施用した酸性化処理区で、また栽培培地中よりも根圏で多かった。

亜硝酸酸化菌数 (単位: /g 生重; 括弧内は試料数)

処理	根圏	砂 (培地)
酸性化	5400±1600(11)	>100
対照	470± 92(12)	98± 8(4)

以上のポット試験の結果、スギ苗においては、アンモニア態窒素の施用による酸性化処理により、伸長成長の低下と地上部(針葉)の含水率の上昇が認められた。さらに、菌根の形成されている状況においては、カリウムの施用は蒸散の増加をもたらす一方、乾重の増加を抑制する傾向を示した。これは、カリウムと拮抗するマグネシウムあるいはカルシウムの相対的な不足による可能性が考えられる。また、窒素化合物による酸性化処理に対して、根の近傍(根圏)の微生物は、根から離れた土壤中の微生物よりも敏感に反応することが認められた。

(2) スギ挿し木苗に対する菌根菌接種試験

無菌根状態で育成したスギ挿し木苗に4種の菌根菌を接種・感染させ、砂耕状態で1 mM 硝酸態窒素を窒素源として育てたもの(pH5.5:標準)と、さらに硝酸(1 mM)を加えて酸性化処理したものを窒素源として育てたもの(pH3.0:+硝酸)の生育を比較した。

その結果、pH3程度の砂耕のスギ苗における窒素の成長促進効果は、硝酸態窒素2 mM程度でも認められ、特に地上部に大きく現れた。また菌根がある方が地上部の割合が大きくなった。このような地上部と根のバランスの変動は、乾燥に対する抵抗性の低下につながる可能性がある。

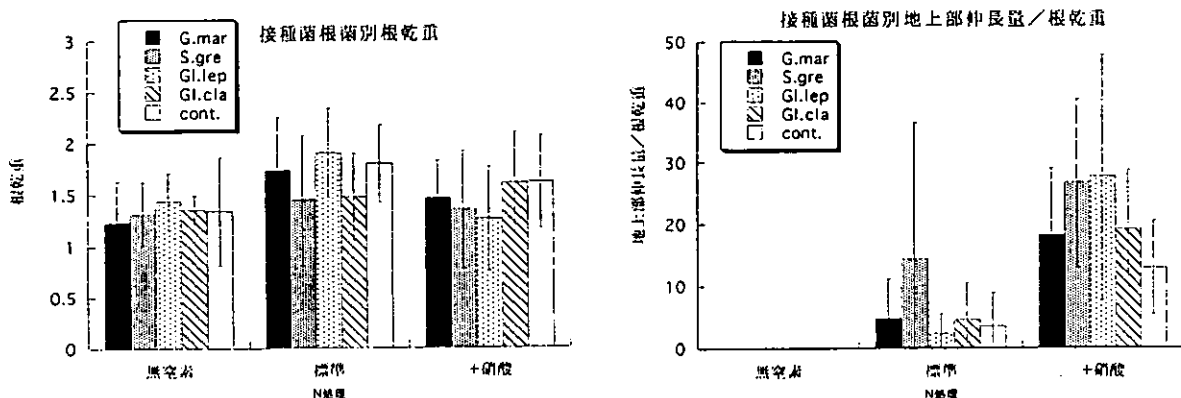


図-2

4. スギ林における人工酸性雨散布試験

森林総合研究所千代田試験地（茨城県内）にある平坦なスギ19年生（設定時）林分内に処理区画を設定し、散布溶液処理装置と樹木観察用の足場を設置した。設定時のスギの平均樹高は約13m、平均胸高直径は約19cmであった。この林内に、窒素系の人工酸性雨としての硝酸溶液を散布する区（A、F区）と、土壤中で酸化して硝酸イオンになるアンモニア態窒素を含んだ硝酸アンモニウム硝酸を散布する区（B、E区）、及び対照（水散布）区（C、D区）を設けた。各区画の面積は約20m²で、繰り返しは2回とした。散布溶液は、硝酸、硝酸アンモニウムともに0.01mol/Lであり、硝酸溶液のpHは2である。これらの溶液を1997年3月から月1回の頻度で散布した。1回当たりの散布量は降雨に換算して10mmに相当する量である。窒素の負荷量でいうと、硝酸散布区で168kg/ha・年、硝酸アンモニウム散布区で336kg/ha・年であった。

表層から10cmの深さのところの土壤水を隔月で採取し、分析した。また、表層（0.5cm）の土壤を採取し、根圏および土壤中の総細菌数、アンモニア酸化細菌数、亜硝酸酸化細菌数および脱窒菌数の測定と、化学性の分析を行った。

1年目と2年目の8月に、スギの光合成、蒸散を測定し、1年目の8月と11月及び翌年の3、6、7、10月には葉を採取して分析した。

(1) 土壤

1997年の4、5、6、9、12月及び1998年3、6月に各処理区の表層（0.5cm）の土壤を採取し、pH（H₂O）及びpH（KCl）を測定した。採取は、それぞれの月の溶液散布の直前に行った。すなわち、前回散布の約1カ月後である。

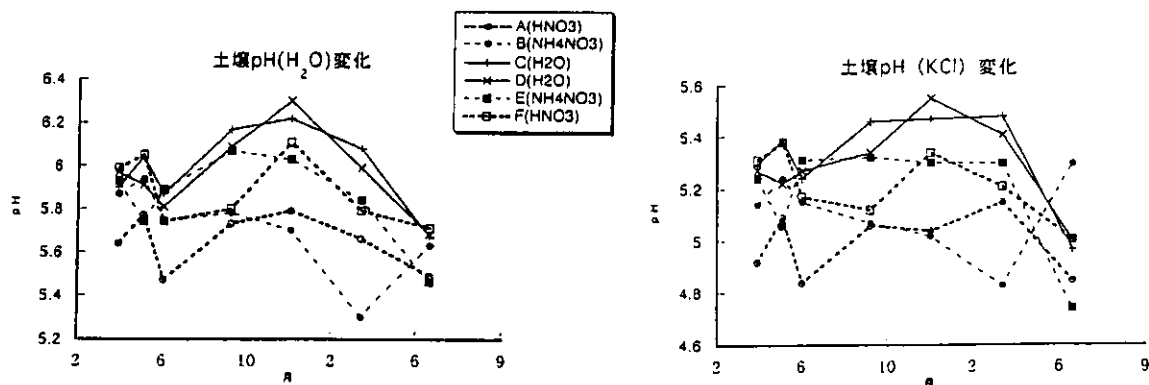


図-3

土壤のpHは対照区との比較で検討すると、pH（H₂O）、pH（KCl）ともに硝酸散布、硝酸アンモニウム散布によって低下してきた。変化のしかたは硝酸の方が速く酸性化を起こすが、時間がたつと硝酸アンモニウムを散布した方が低pHになるようだ。

これらの土壤の3月から9月の無機態窒素を測定したが、すべて低濃度で処理の影響は認められなかった。また、9月に採取した土壤の全炭素、全窒素濃度を測定した結果にも処理の影響は

認められなかった。

処理	硝酸		硝安		対照	
	処理区名	A区	F区	B区	E区	C区
全炭素 (%)	6.2	11.8	7.0	10.8	13.0	7.6
全窒素 (%)	0.41	0.67	0.44	0.61	0.66	0.48

(2) 土壤水

表層から10cmの付近の土壤から、吸引法で土壤水を採取した。採取時期は、土壤と同じく前回散布の約1カ月後である。

1年目は、8月から10月にかけてほとんど降雨のない乾燥状態が続いていて、10月の測定結果では硝酸区及び硝酸アンモニウム区の土壤が対照区より乾燥傾向にあった。少雨の時期に、窒素化合物処理区は対照区よりも、土壤が乾燥する傾向があるようだ。

この土壤水の成分を分析した結果、塩類濃度示す電気伝導度(EC)は、硝酸アンモニウム区で8月及び12月に増加していた。これを個々のイオンの濃度で検討してみると、この時期に高濃度を示しているのは陰イオンでは硝酸イオン(NO_3^- -N)、陽イオンではカルシウム(Ca)とマグネシウム(Mg)であった。硝酸区では2区のうち1区でこれらの濃度の上昇が少しみられたが、硝酸アンモニウム区ほどではなかった。土壤水中のイオン濃度の増加は1年目の方が顕著であったが、2年目は雨が多かったのでその影響を受けた可能性もある。

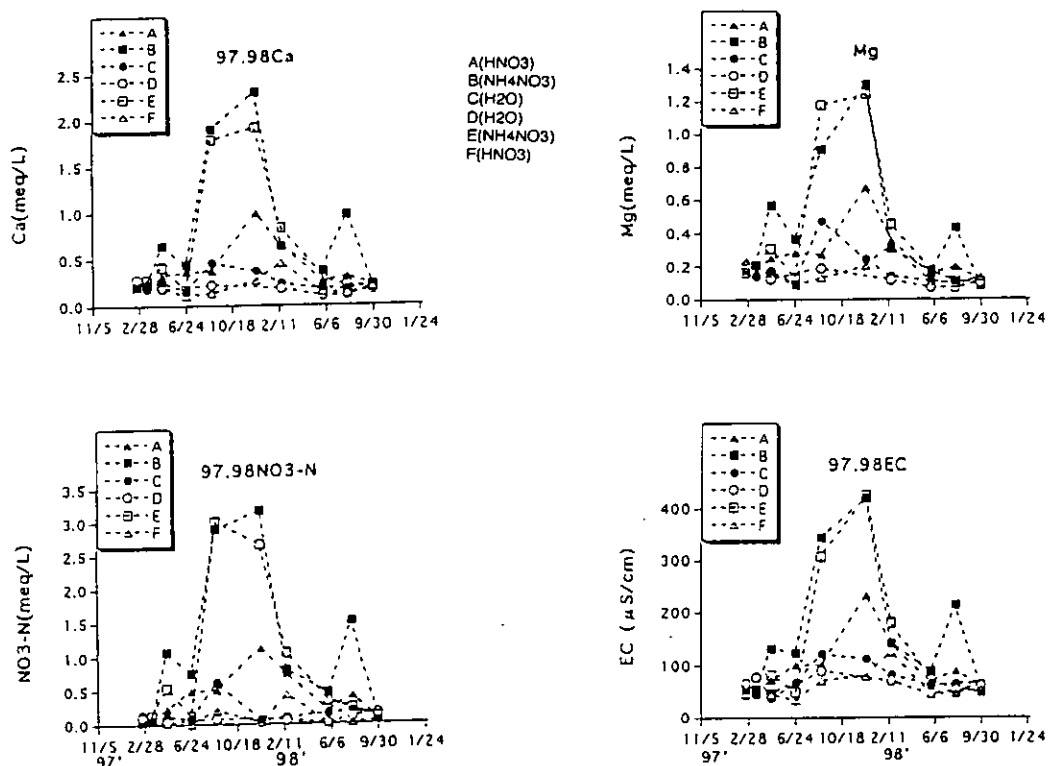


図-4
土壤水

(3) 土壤微生物 (細菌)

1年目の3、4、5、6、9、12月に採取した表層土壌を、そこに含まれる根と土壌に分離し、根圏と土壌に存在する細菌数を測定した。細菌の種類は、総細菌数の他にアンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌、脱窒菌を測定した。

①土壌中の細菌数には、まだ処理の影響はみられなかったが、根面では6月頃から処理の影響が認められるようになってきた。すなわち、硝酸アンモニウム散布区の亜硝酸酸化菌、硝酸散布、硝酸アンモニウム散布両区での脱窒菌などの増加がみられた。

②散布開始時には、加えた窒素化合物が栄養源として作用して土壤微生物が増加したような現象もあったが、その後は減少して対照区の値に近づいた。

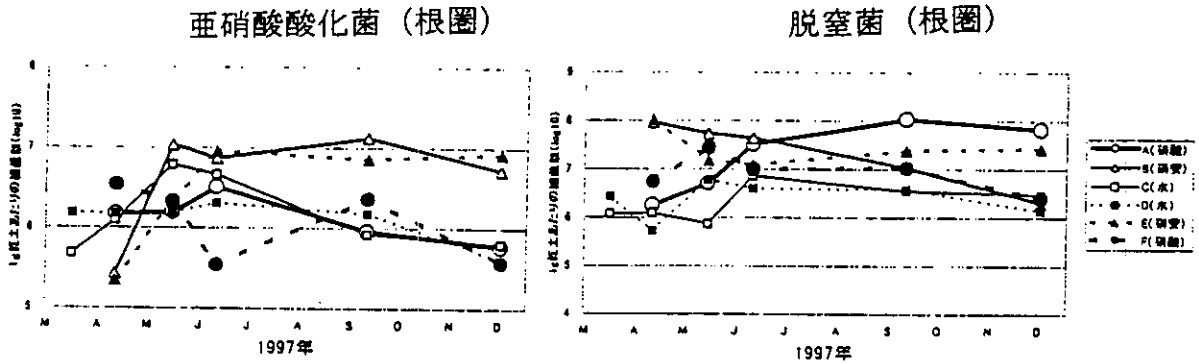


図-5

(4) 土壤微生物 (菌根菌)

10月に、スギの細根における菌根菌の感染状態を調べてみると、新しい白い根、古い着色した根いずれにも、硝酸散布、硝酸アンモニウム散布、対照の処理に関係なく細胞内にコイル状の菌糸が多く感染しているのが見られた。また、古い着色した根にはいずれの処理区においても、細胞内や細胞間隙に嚢状体の菌糸の感染が認められたが、この嚢状体の菌糸は新しい根では、硝酸アンモニウム散布区の一部に認められただけであった。全体としては、硝酸及び硝酸アンモニウムという窒素化合物散布区では、嚢状体やコイル状の菌糸の形成が対照区に比べてわずかに多くなり、初期段階であるが、窒素化合物の散布の影響が出始めたと推察される。

(5) スギの葉の含有成分

スギの当年生葉を採取し、窒素、リン、カリウム、カルシウム、マグネシウムと、遊離アミノ酸、糖の分析を行った。

全窒素濃度は、1年目の8月には硝酸区>硝酸アンモニウム区>対照区の順に高かったが、その後は硝酸アンモニウム区>硝酸区>対照区の順になっていった。その他の無機成分は、1年目の8月には窒素化合物散布区で濃度が増加する傾向がみられたが、11月、および翌年3月にはほとんど差が認められなくなり、2年目にはリン(P)、カリウム(K)の濃度が窒素化合物散布区では対照区よりも低くなってきた。

遊離アミノ酸は、窒素化合物を施用した硝酸散布区と硝酸アンモニウム散布区で全体的に増加

していた。その差は、遊離アミノ酸総量が増える3月と6月に大きいようであったが、3月には水ストレスの指標といわれるプロリンと、γ-アミノ酪酸が、また、6月にはシトルリンとグルタミン酸の増加が対照区に比べて大きかった。他に、グルタミン、アスパラギン酸、アラニン等は対照区に比べて窒素を処理した区では多くの場合に高濃度であるようだった。2年目の秋になるとほとんどのアミノ酸で処理差が見られなくなった。

グルコース、フルクトース、シュクロースには処理間差はみられなかったが、デンプンは3月に硝酸区で増加していた。

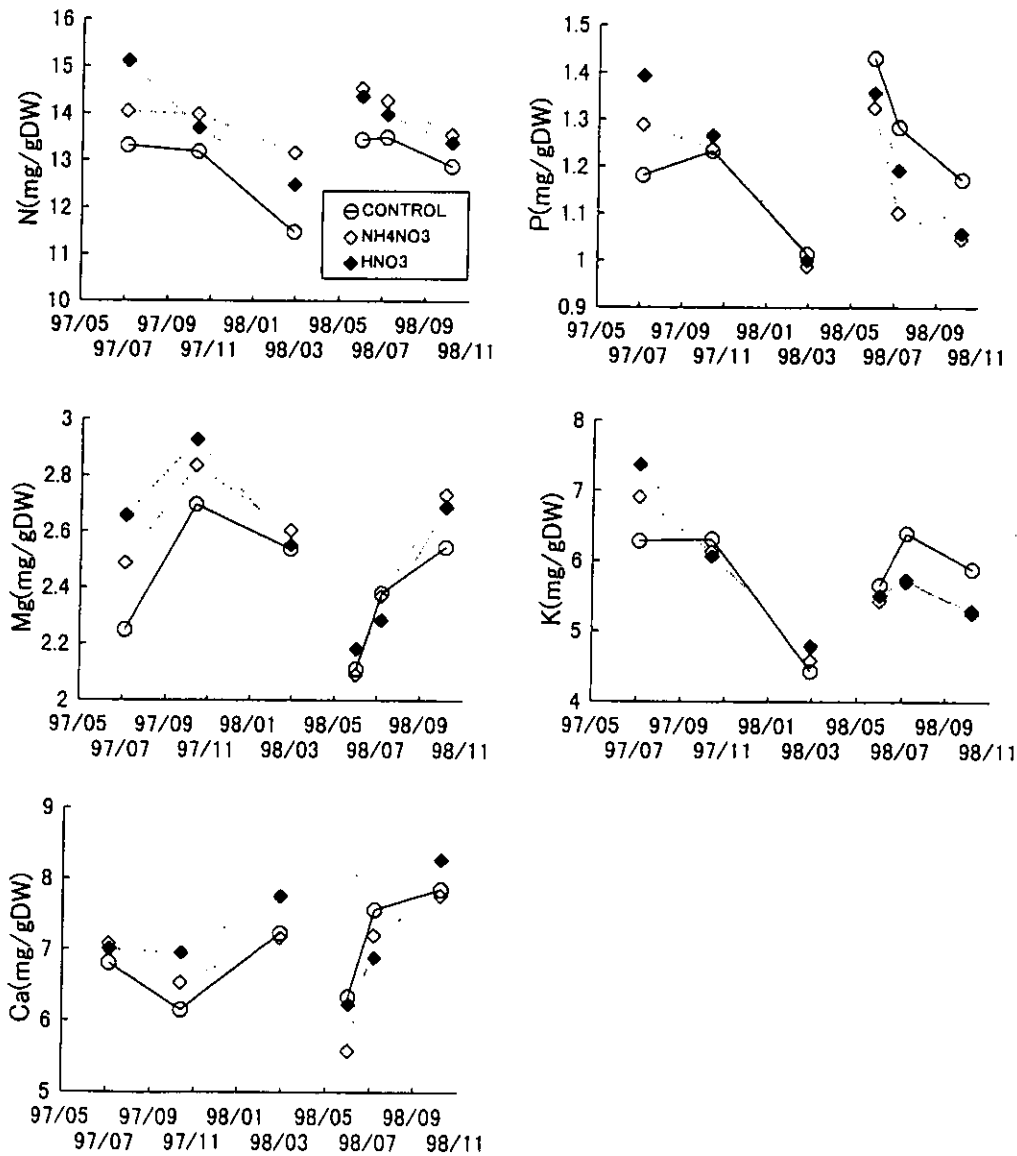


図-6

針葉に含まれる無機成分の変化

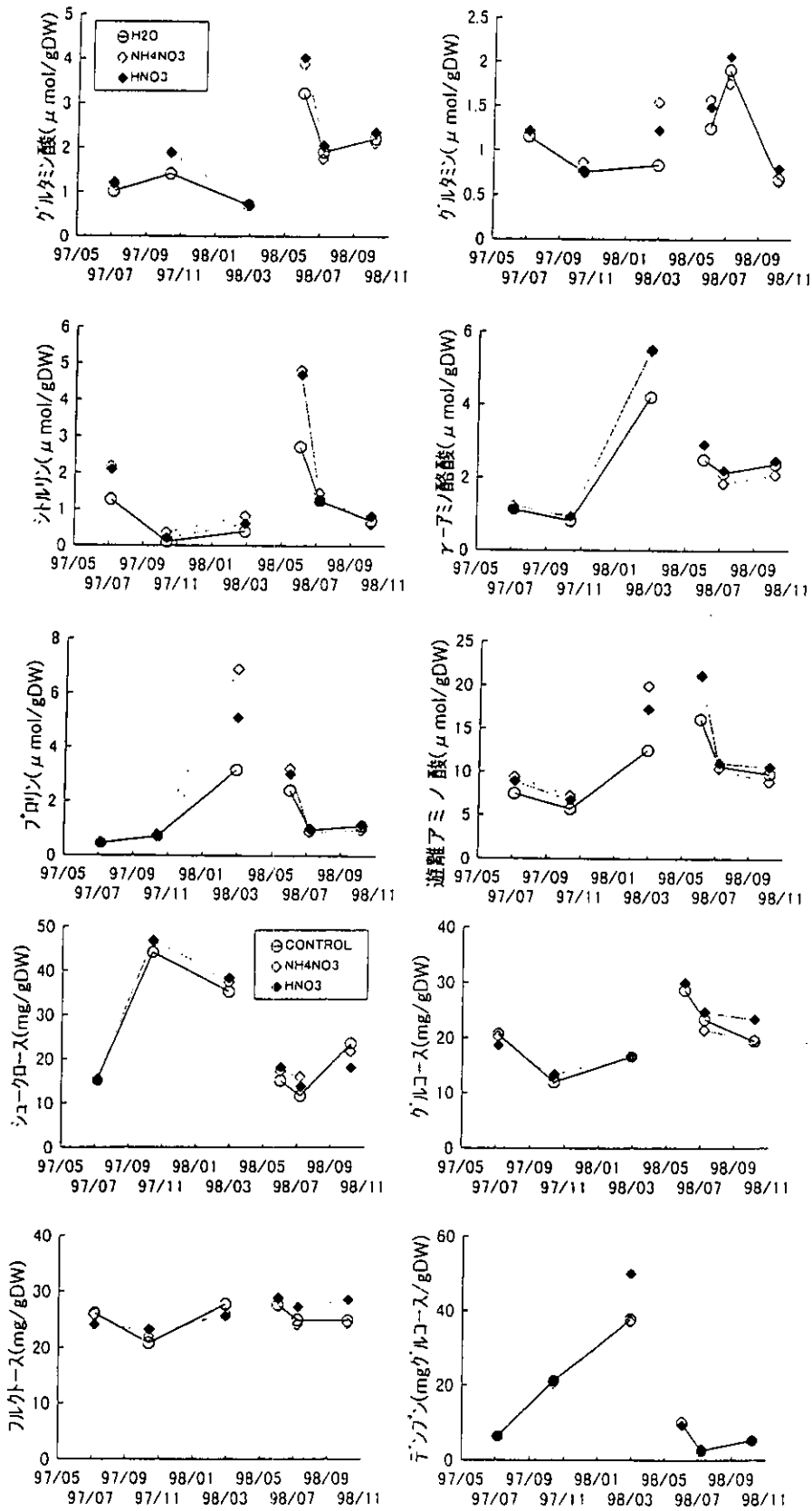


図-7

針葉に含まれる有機成分の変化

(6) スギの光合成・蒸散・水分含量

8月に、スギの樹冠上部において光合成、蒸散と水分含量を測定した。1年目には光合成速度が硝酸散布区で若干高い傾向が見られた。蒸散速度については処理の影響は明らかでなかった。2年目には、光合成速度・蒸散については、処理の影響は明らかでなかった。葉の水分含量は、硝酸アンモニウム散布区で午後になる傾向を見せた。特に、晴れた日の午後には他の区よりも低下していた。

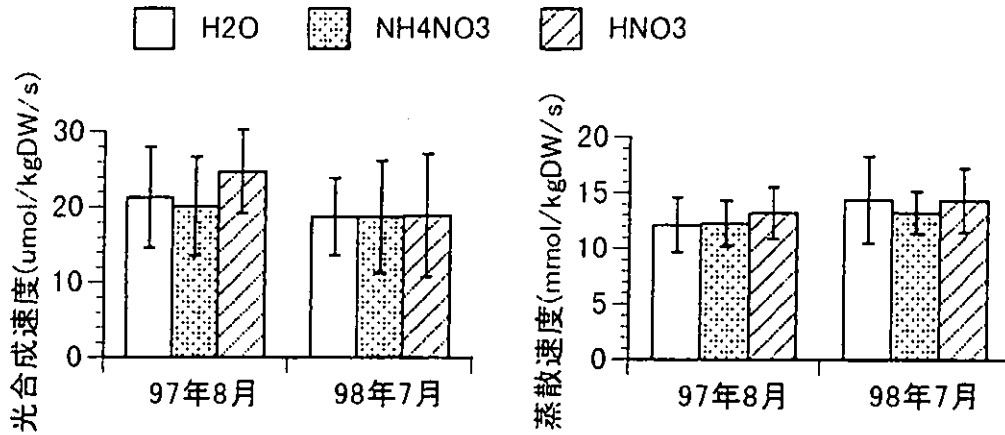


図-8

(7) スギの生長量の変化

樹高生長量は各区とも年々低下する傾向にあるが、対照の水散布区と比較してみると、わずかではあるが窒素化合物処理区は増加する傾向を示した。ただし、硝酸アンモニウム散布区では2年目には低下したように見える。胸高直径生長量は処理間での差はさらにわずかであったが、平均値で見ると窒素化合物処理により増加する傾向にあるようだ。

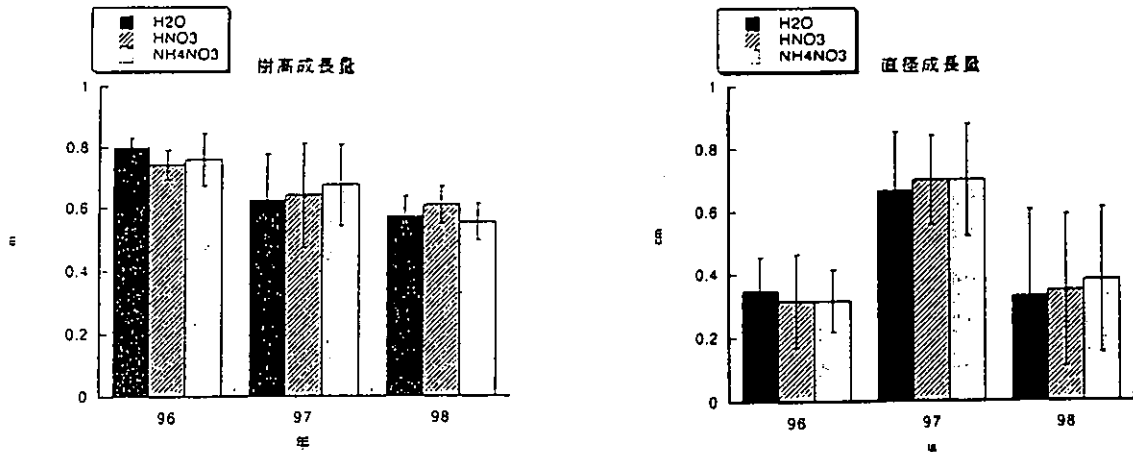


図-9

(8) 人工酸性雨の高頻度処理が根量及び根圏細菌に及ぼす影響

同じ林分の一部で、処理を週1回の頻度で行ったところ、地表面の堆積有機物層下に観察される根の量は、窒素処化合物散布処理により増加していた。また、その根圏の細菌数は、硝酸アンモニウム散布区では脱窒菌、アンモニア酸化菌、亜硝酸酸化菌ともに増加していたが、脱窒菌のみは硝酸散布区でも増加していた。

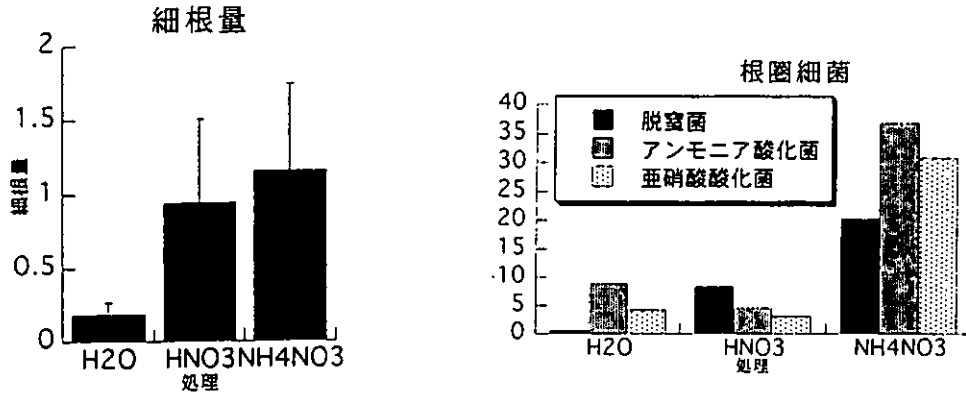


図-10

以上のスギ林における人工酸性雨処理試験の結果は、処理期間がまだ2年間であり、大きな影響は認められず、特に生育状態には明らかな衰退の兆候は認められなかったが、土壌、土壌微生物、スギの含有成分などには変化が現れ始めていた。土壌pHは、対照に比べると窒素化合物散布区で低下傾向を示していたが試料採取に伴う変動などを考えるとまだそれほど大きいとはいえない。しかし、土壌水に含まれる成分の変化を見ると硝酸イオンの増加（窒素量の増加）にともなってカルシウムやマグネシウムの濃度の増加が見られている。窒素化合物の処理は、短期的には根圏における細菌類の増加をもたらすようなので、その働きによる土壌の酸性化は根の近くの方が速く進行する可能性がある。また、スギの針葉に含まれている成分の濃度を見ると、窒素化合物の処理により一時的に様々な成分の増加が見られたあとに、リンやカリウムの濃度の低下が見られた。光合成や蒸散などの生理活性にはほとんど差が認められなかった。

5. まとめ

関東平野のスギ林で衰退の見られる地点の土壌を調べたところ、pHの低下とともに硝酸態窒素の集積しているものが認められた。

そこで、苗木をこのような窒素過剰ないしは酸性化という状況においてその生育を調べたところ、微生物と共生した状態の苗木は、このような養分環境の変化で、地上部と根のバランスに変動を起こしてくることが認められた。さらに窒素過剰が進んだ状態では、伸長成長の減退、針葉の含水率の変動などの症状も見られた。このような現象は、マグネシウムやカルシウムの不足と関連している可能性も考えられた。

次に、実際の林地における窒素化合物の負荷が、林木にどのような影響を及ぼすかを、平地のスギ林において調べた。処理期間が実質的にまだ2年間であり、大きな影響は認められず、特に生育状態には明らかな衰退の兆候は認められなかったが、土壌、土壌微生物、スギの針葉における含有成分などには変化が現れ始めていた。土壌pHは、対照に比べると低下傾向を示していたがまだそれほど大きいとはいえない。しかし、土壌水の含有成分では、硝酸イオンの増加（窒素

量の増加)にともなってカルシウムやマグネシウムの増加が見られている。これはカルシウムやマグネシウム等の塩基が水に溶けやすくなっていることを示している。現在のところはまだ、硝酸や硝酸アンモニウムなどの窒素化合物の処理により土壌水中におけるこれらの塩基類の濃度は増加しているが、いずれは水の流れに従ってこのような塩基類が流亡してしまい、その結果として土壌の酸性化が急激に進む可能性がある。また、窒素化合物の処理は、短期的には根圏における細菌類の増加をもたらすようなので、それらの微生物の働きによる土壌の酸性化反応などは根の近くの方が速く進行する可能性がある。一方、スギの含有成分の濃度を見ると、窒素化合物の処理により一時的に様々な成分の増加が見られたあとに、リンやカリウムの低下が見られた。しかし、光合成や蒸散などの生理活性にはほとんど差が認められておらず、このような含有成分の変化がただちに衰退につながるものか否かは今のところはっきりしていない。ただし、針葉中のカリウムの濃度の低下は土壌水中のカルシウムやマグネシウムの濃度の増加との関連が考えられる。すなわち、カリウム、マグネシウム、カルシウムは互いに拮抗するので、このようなカリウムの減少という現象が起きた可能性がある。現在はカルシウム、マグネシウムの濃度は土壌水中では増加傾向を示しているが、今後さらに反応が進んでカルシウムやマグネシウムなどが不足してきた場合には、ポット試験などの結果から見ても樹木の衰退につながる可能性はさらに高くなるものと考えられる。現在でも窒素化合物を処理したものの中で樹高成長が低下する傾向を示した個体もあり、窒素化合物の過剰に関連した衰退現象については注意しておく必要があるだろう。

[国際共同研究等の状況]

なし

[研究成果の発表状況]

(1) 誌上発表

- ① 赤間亮夫、西本哲昭、溝口岳男：森林立地38(2)：123～132(1996)
「土壌化学的要因による栄養ストレスとスギの生育」
- ② 溝口岳男、奈良一秀：日林論 107、133-136(1996)
「カリウム調整土壌に植栽したスギ・ヒノキ苗の成長、樹体内養分濃度および生理活性」
- ③ Mizoguchi, T., A. Akama and J. Nagakura: Proceedings of the International Symposium on Acidic Deposition and its Impacts (Tsukuba), p305-307(1996)
"Nutrient concentrations of *Cryptomeria japonica* D. Don seedlings grown in mineral-deficient conditions"
- ④ 山中高史、岡部宏秋、赤間慶子、赤間亮夫、溝口岳男、重永英年、長倉淳子：日林論 109、243-244(1999)
「スギ人工林への硝酸・硝安負荷が根圏の微生物環境に及ぼす影響」

(2) 口頭発表

- ① 溝口岳男、赤間亮夫、長倉淳子：108回日林要旨集：275(1997)
「関東周辺の社寺林における交換性土壌塩基濃度とスギ・ヒノキ壮齡林の葉中塩基濃度」

(3) 出願特許
なし

(4) 受賞等
なし

(5) 一般への公表・報道等
なし