

2023年度学生論文賞 第2次審査用論文

大規模な人為的攪乱がササの形質変化  
を介して枯葉の分解と森林棲両生類に  
及ぼす影響

2023年11月28日

2020246 長崎夕 (経済学科)

2020150 佐藤来未 (社会情報学科)

令和5年度提出

## 目次

要旨	1
緒言	2
材料と方法	3
材料	
調査地	
フェノール分析	
チシマザサの枯葉の分解実験	
エゾサンショウウオ幼生の飼育実験	
統計処理	
結果	7
考察	8
謝辞	10
引用文献	12
図	14

## 要旨

日本の北方林では「掻き起こし（以下、掻起）」と呼ばれる「重機でササを剥がす施業」が行われている。掻起により樹木の発達は促される事例が多く報告されているが、掻起は森林の状態を大きく変化させる施業である。もし掻起によりササの化学成分が変化するならば、その効果は土壌の分解過程に大きな影響を及ぼす可能性があり、加えて、森林の他の生物の発育を左右するだろう。したがって、掻起にともなう大規模攪乱がどのようにササの状態を変え、どのように波及するかを調べることは、本施業の有効性を示すのみならず、森林管理を考慮する上で重要な課題である。本研究では、「森林の分解過程と森林棲生物に及ぼす林業施業にともなう大規模攪乱の影響」を明らかにするために、掻起後のチシマザサ（以下、ササ）に着目し、その葉の成分分析と枯葉の分解実験により「ササの形質変化が枯葉の分解過程に及ぼす影響」を評価した。加えて、ササの枯葉の培養水を用いたエゾサンショウウオ（本種は北海道固有の森林棲両生類である）の孵化幼生の飼育実験を行い、「ササの形質変化が森林棲生物に及ぼす影響」を評価した。

本調査地のチシマザサは、掻起後しばらくは新葉のフェノールを掻起履歴のない対照区よりも高めていた。フェノールは植物の防衛物質であるため、掻起からの回復過程でササは防衛を強化しているのかもしれない。その効果は数十年持続するが、50年後にはほぼ消失していた。次に、掻起から10年および50年経過した場所のササの枯葉を共通調査地に設置し分解過程を観察したところ、掻起から10年経過した掻起区の枯葉の分解速度は対照区よりも遅かったが、掻起から50年経過した場所の枯葉では処理間で分解速度に差はみられなかった。上記の結果は、フェノールなどの難分解性成分が反映されたためと考えられる。一方で、枯葉の培養水で飼育したエゾサンショウウオ幼生の成長速度は、掻起から10年経過した掻起区において対照区よりも速かった。幼生成長の決定因子は未特定だが、枯葉の何かしらの成分が関与していると思われる。

**キーワード：**掻き起こし・サンショウウオ・チシマザサ・フェノール・林業施業

## 緒言

我々人類は、森林からさまざまな生態系サービスを得ている。例えば森林は、多様な生物が生息できる環境を提供することでそこに生息する生物の働きを維持させ、その結果、水・酸素・エネルギーなどの資源を供給している（Millennium Ecosystem Assessment, 2005）。加えて森林には、樹木が光合成によって二酸化炭素を吸収したり、根が伸長することによって土壌を固定したりすることで、環境変動が起こった際にもその影響が緩和される作用もある（森, 2012）。このような森林のサービスは、人間が今後も持続的に生活するために不可欠である。しかし現在、多くの地域において、化学物質による汚染や樹木の伐採といった人間活動（人為的攪乱）によって森林機能が大きく改変されることが懸念されている（Houghton et al., 1999）。森林には攪乱に対して抵抗する力や、攪乱後の状態から元の状態に戻る力（レジリエンス）が備わっている（森, 2012）。しかし、そのような森林の能力をも超える大規模な攪乱は、生態系の維持機構を崩壊させ、その結果、森林が元の状態に戻れなかったり、戻れたとしても長い時間を要したりすることが指摘されている（森, 2012）。したがって、長期的な視点に立ち、攪乱後の森林の状態の変化と、その変化の過程でどのような影響を森林棲生物に及ぼすかについて調べる必要がある。

日本の北方林では 1960 年代より、「掻き起こし」と呼ばれる「ブルドーザなどの大型の重機を用いて土壌を剥がす林業施業」が実施されてきた（Asada et al., 2017；図 1）。日本の北方林ではササ類（北海道では主にチシマザサ）が繁茂して樹木の育成を阻害することが問題視されてきたため、ササとともに下層植生を除去する施業が行われているのである。掻き起こしによって、カンバ類の樹木の発達が促されるという事例が数多く報告されており（Ozawa et al., 2001；Asada et al., 2017）、森林形成におけるこの施業の有効性は実証されている。しかし、掻き起こしは森林の状態を大きく変化させる施業である。もし掻き起こしによりササの化学成分が変化するなら、その効果は土壌の分解過程に大きな影響を及ぼす可能性があり、加えて、森林の他の生物の発育や生存を大きく左右するだろう。したがって、掻き起こしにともなう大規模攪乱がどのようにササの状態を変え、その効果がどのように波及するかについて詳細に調べることは、本施業の有効性を示すのみならず、森林管理を考慮する上で重要な課題である。

ササ類は日本の森林の代表的な下層植物である（Noguchi & Yoshida 2005）。日本に自生するササ類はササ属やアズマザサ属など 6 属で、これらは温暖な気候に加え寒冷な冷温帯や亜寒帯にも広く分布する（内村, 2014）。ササは栄養成長のために稈と呼ばれる節が中空になっている莖を伸ばし、森林の各地に生息域を広げる（松尾ら, 2010）。この高い栄養成長能力によって、日本の森林面積の約 30% がササに覆われている（齋藤, 2013）。特に北海道ではチシマザサ（*Sasa kurilensis*）やクマイザサ（*S. senanensis*）が繁茂し、それらの被度は北海道の森林面積の 89% 以上に及ぶ（豊岡ら, 1983）。チシマザサはササ類の中でも特に大きく、稈長は 2m~3m に達する（図 1）。古くから人々はチシマザサのタケノコ（雪解け直

後に出てくる新しい稈)を山菜として食用としてきたが、チシマザサは下層植生を完全に覆うことで商業木材の苗木の定着や成長を阻害するため、林業において根絶の対象とされている (Noguchi & Yoshida, 2004).

本研究の目的は、「森林での枯葉の分解過程と森林棲生物に及ぼす林業施業にともなう大規模な人為的攪乱の影響」を明らかにすることである。具体的にはまず、下層植生としてチシマザサに着目し、「掻き起こし後のチシマザサの形質変化が枯葉の分解過程に及ぼす影響」を北海道大学天塩研究林にて調査した。天塩研究林では1972年から林業の施業履歴が残されており、「いつどこで掻き起こしが行われたか」について記録されている。本研究では、地理情報システム (GIS: Geographic Information System) の情報に基づき、天塩研究林内で「掻き起こしからの経過年数の異なる12箇所」と「掻き起こし (伐採) 履歴のない2箇所 (天然林)」を選定し、それらの場所で採取したチシマザサの新葉 (調査の当年に生産された葉) のフェノール成分を分析した。フェノールは植物が生産する化合物の1種である (Lattanzio, 2013)。フェノールは細菌の活動や昆虫の食害を抑制する効果を持つため、植物にとって防衛物質として作用する (Kulbat, 2016)。この調査の結果、チシマザサの新葉のフェノール含有量は掻き起こしからの回復過程で高まっており、その効果は数十年持続していたが、50年後にはほぼ消失していた。そこで次に、掻き起こしから10年経過した調査地 (回復途上の場所) および50年経過した調査地 (回復が完了したと思われる場所) に特に注目し、これらの調査地で採取したチシマザサの枯葉を用いた分解実験を実施した。なお、この実験では、各調査地の近辺で掻き起こし履歴のない場所を「対照区」とし、掻き起こしがあった「掻起区」の結果と比較した。最後に、上述の調査地で採取した枯葉を水槽内で培養し、その培養水を用いたエゾサンショウウオ幼生の飼育実験を行った。エゾサンショウウオは北海道固有の森林棲両生類で、彼らは幼生の時期に森林の水溜りで生活する。その水溜りにはよく、チシマザサの枯葉が沈んでいる。エゾサンショウウオの幼生は、水質に応じて孵化直後の成長速度を調整することが知られており (Katayama et al., 2016, 2021; Katayama & Tanimura, 2023)、本研究ではエゾサンショウウオの孵化幼生に焦点を当てた生物検定 (バイオアッセイ) を実施した。以上の調査および実験の結果から、「掻き起こしによるチシマザサの形質変化が枯葉の分解過程と森林棲生物に及ぼす影響」を評価した。

## 材料と方法

### 材料

チシマザサは日本の北部の山岳地帯に生育する大型のササである (図1)。1つの個体 (ジェネット) は、生涯を通して多数の稈 (ラメット) を生産し、その過程で栄養成長を続ける。個々の稈の寿命は約8年で、個体の寿命は60年以上になることもある (笹ら, 1991)。北日本では、5月下旬から6月上旬に古い稈の周囲に食用となる新しいタケノコが出てくる。これらはヒメタケノコやネマガリダケという通称で市場に流通している。

## 調査地

野外調査は、北海道大学天塩研究林（北海道天塩郡幌延町；緯度：44° 54′-45° 06′N；経度：141° 56′-142° 10′E；面積：22,517 ha）で実施した。天塩研究林は日本の最北の森林地帯に属する。本研究林の年平均気温は約 5°C（最高 35°C；最低-35°C）で、年平均降水量は約 1000mm である。植生は主にシラカンバなどの落葉樹やエゾアカマツなどの針葉樹による混成林で、下層植生にはチシマザサやクマイザサの群落が広がる。本研究は、過去の施業履歴を記録した GIS データに基づき、天塩研究林内で「掻き起こしからの経過年数の異なる 12 箇所」と「掻き起こし（伐採）履歴のない 2 箇所」を選定して実施した。2021 年の 7 月に、各調査地内に「互いに 5m 離れているサブプロット」を 3 つ設置し、そのサブプロットの中心に自生していたチシマザサの稈から新葉を採取した（なお、掻き起こしから経過年数の浅いいくつかのサブプロットにはチシマザサが存在しなかったため、それらのサブプロットでは新葉を採取できなかった）。この作業は、指導教員が参画する北海道大学と東京大学の研究者との共同実験の一環として実施された。

採取した葉は封筒に入れて小樽商科大学に持ち帰り、室内で十分に自然乾燥させた後、後述のフェノール分析まで研究室内の冷暗な場所で保管した。

## フェノール分析

2022 年 9 月に、保管していたチシマザサの葉の乾燥試料をサブプロット別に電動ブレンダー（Wonder Blender, Osaka Chemical, Osaka）を用いて粉末化した後、乾燥粉末 50 mg を電子天秤で測り取り、15 mL のコニカルチューブに入れた。それらのコニカルチューブに 50%メタノール 10 mL を加えて蓋をし、40°Cの超音波浴中で 1 時間インキュベートすることで、サンプルに含まれる全てのフェノール類（総フェノール）を 50%メタノール（10mL）に抽出した。抽出サンプルの総フェノール濃度（mg/g）は、フォリン-チオカルト法（Julkunen-Tiitto, 1985）に従い測定した。

## チシマザサの枯葉の分解実験

調査地間でチシマザサの枯葉の分解速度を比較するため、リターバッグを用いた分解実験を実施した。この実験は、北海道大学天塩研究林内で掻き起こしから 10 年経過した調査地（サイト A）と 50 年経過した調査地（サイト B）に特に注目して実施した。サイト A と B は、直線距離で 1km 以上離れている。そのため、調査地間で環境要因が異なる可能性があり、その違いが結果を左右することが危惧される。そこで、各調査地の近くで掻き起こし履歴のない場所を対照区として設置した（以降、「対照区」と「掻起区」をプロットと呼ぶ）。それぞれの調査地で対応するプロット（対照区 対 掻起区）は、類似した環境要因である可能性が高い。そのため、これらプロットの間での比較は、調査地間の環境要因の効果を考慮した解析、

つまり、環境要因の効果を除去（あるいは緩和）した上での処理（掻き起こし）の効果の検証となる（Katayama et al., 2020を参照）。

2021年7月に、各プロットから20枚以上の枯葉を無作為に選び、それらを封筒に入れて小樽商科大学に持ち帰り、室内で十分に自然乾燥させた。

2021年9月22日に枯葉の分解実験のセッティングを実施した。分解実験を遂行するために、採取した枯葉の中から1.5g以上の大きめの枯葉を12枚選び、枯葉ごとに500mgの枯葉の断片を3枚ずつ作成した。それらの断片を個別に不織布のポリエチレン製の袋（9.5 cm × 7 cm）に入れ、リターバッグを作成した（図2a）。このリターバッグは合計144個（2調査地 × 2処理 [プロット] × 12枚の葉 × 3繰り返し）を作成した。各枯葉由来のリターバッグが1つずつ含まれるように、これらのリターバッグを3セットに分け、北海道大学天塩研究林のチシマザサの群落（サイトC）の中に配置した（図2b）。リターバッグはセットごとに分けて配置し、セット内の並びは無作為である。サイトCはサイトA・Bとは別の場所で、サイトAおよびBからそれぞれ6kmほど離れている（このセッティングまでは指導教員が実施した）。

これらのリターバッグは、サイトCの林床下で保持され、その後セットごとに3回に分けて回収された（つまり個々の回収では、各枯葉由来のリターバッグが1つずつ回収された）。1回目の回収は2022年5月13日（設置から233日後）に実施し、2回目と3回目は、それぞれ2022年8月1日（313日後）と2022年10月21日（394日後）に実施した。回収後、リターバッグに残っていた枯葉を封筒に移し、乾燥剤（シリカゲル）とともにジップロック内に入れ、1ヶ月以上常温で乾燥させた。乾燥後の枯葉は電子天秤を用いて重量を測定した。リターバッグに残っていた「枯葉の相対重量: Relative Litter Mass, RLM (%)」は、次の式を用いて計算した；

$$RLM (\%) = LM_t / LM_0 \times 100$$

ここで、 $LM_0$  と  $LM_t$  は、それぞれ初期の枯葉質量（500 mg）と  $t$  番目の回収の枯葉質量である。この「枯葉の相対重量」を基に、枯葉毎に分解速度係数  $k$  を計算した（方法に関しては後述する）。

#### エゾサンショウウオ幼生の飼育実験

掻き起こしに起因するチシマザサの形質の違いが森林棲生物に及ぼす影響を評価するため、チシマザサの枯葉の培養水を用いたエゾサンショウウオ孵化幼生の飼育実験を実施した。実験に先立ち、チシマザサの枯葉の培養水を作成した。培養に使用したチシマザサの枯葉は上述のサイトAおよびサイトB（それぞれに掻起区と対照区があるので、全部で4プロット）で2023年4月に採取したものである。それぞれのプロットから無作為に最低15枚の枯葉を採取し、調査地別に封筒に入れて小樽商科大学に持ち帰り、室内で十分に自然乾燥させ

た。事前調査により1枚あたりのチシマザサの枯葉の重さは約0.7gだった。そこでプロットごとに10枚の葉を無作為に選び、ハサミで断片化した後、それらの中から枯葉の合計の重さが0.7gになるように断片を選び取り（つまり、複数の枯葉を混合した1枚分相当の枯葉の断片）、内径37cm×25cm×13.5cmのポリプロピレン製の水槽に入れた（図3a）。この作業は4つのプロットで採取した全ての枯葉において実施し、加えて、コントロールとして枯葉を入れない水槽も設けた（つまり、5つの水槽を準備した）。これらの水槽に6Lの水を入れ、2023年5月26日から2023年6月22日までの約1ヶ月間、インキュベーター内（温度15°C、自然日長）で培養した。

飼育実験には2023年4月に北海道大学天塩研究林で採取した7個の卵塊由来のエゾサンショウウオ幼生を使用した（図3bc）。採集したエゾサンショウウオの卵塊は小樽商科大学に持ち帰り、温度15°C（自然日長）に設定したインキュベーター内に水槽ごと移し、実験開始に合わせて孵化タイミングを調整した。全ての実験には、孵化後5時間以内のエゾサンショウウオ幼生（孵化幼生）を用いた。実験開始日に孵化幼生の周りに付着した卵殻を慎重に取り除き、実験水槽に卵塊由来の有機物が入らないように新しい水で孵化幼生を2回リンスした。リンス後の孵化幼生を卵塊由来ごとに改めて1Lの脱塩素水道水を加えた水槽（15.4×11.8×8.0 cm）に入れ、幼生の奇形の有無を確認した。おおよそ2時間後、奇形ではない個体を実験に応じてエゾサンショウウオの卵塊から8～20個体選抜した（卵塊A～C [8個体]、卵塊D～F [12個体]、卵塊G [20個体]）。本実験は、同じ卵塊由来の孵化幼生からほぼ同サイズの幼生5個体を組にし、以下で説明する枯葉の培養水処理、あるいは枯葉のないコントロール水処理に1個体ずつ割り当てた；1）サイトAの搔起区、2）サイトAの対照区、3）サイトBの搔起区、4）サイトBの対照区、および5）コントロール。つまり、本実験のデザインは、合計100個体を実験に使用した20ブロック・5処理のランダムブロックである。

幼生の成長に及ぼす各処理の影響を評価するため、孵化幼生を80 mLの各処理の培養水あるいはコントロールの水を加えたポリプロピレン製の小型水槽（8×5×4cm）に移し、インキュベーター内（15°C、自然日長）で飼育した。本実験では、飼育期間中の環境水の成分の変性を防ぐために、4日目に飼育容器内の培養水を、1日目の実験設定の後に水槽に残っていた培養水（枯葉の培養を続けていた水）と交換した。

実験個体は1日目（実験開始日：図3b）および7日目（実験終了日：図3c）にスキャナー（Canon 9000F Mark II）で腹部側から撮影し、ImageJを用いて全長を計測した。これらの全長データを用いて、以下の式から幼生の1日当たりの成長速度を計算した（Katayama et al., 2016を参照）；

$$\text{成長速度 (mm/日)} = (\text{全長}_7 - \text{全長}_1) / 6\text{日間}$$

ここで全長<sub>1</sub>と全長<sub>7</sub>は、それぞれ1日目と7日目の幼生の全長（mm）である。なお、孵化幼生は口が未発達で餌を食べることができないため、実験期間中は幼生に餌を与えなかった。

## 統計処理

掻き起こしからの経過年数にともなうチシマザサの新葉のフェノール含有量を、単回帰分析 (simple linear regression) で解析した。加えて、掻き起こしから経過年数の浅い (8年から12年) 場所と伐採履歴のない対照区の間、および掻き起こしから50年経過した場所と対照区の間の新葉のフェノールの含有量を、それぞれT検定で比較した。

チシマザサの枯葉の分解速度を調査地および処理間で比較するため、Olson (1963) の指数関数減衰モデルに基づいて分解速度係数 $k$ を求めた。このモデルは以下のように記載される;

$$\text{RLM} (\%) = 100 \times e^{-kt}$$

ここで、 $t$ は時間 (日) で、 $k$ は (日あたりの) 分解速度係数である。この $k$ の値が大きいほど分解速度が速いことを意味する。この両辺の自然対数をとると、このモデルは以下のように変換される;

$$\ln(\text{RLM}) = \ln(100) - kt$$

これは、切片を $\ln(100)$ とする線形単回帰モデルと等価である。この回帰を実行することで、個々の枯葉の由来別に $k$ を計算した。ここで計算した $k$ を、「調査地の違い (サイトA 対 サイトB)」および「処理 (掻起区 対 対照区)」を独立変数にした2要因の分散分析 (two way analysis of variance) で解析した。この解析では交互作用がみられたため、事後検定としてチューキー・クレーマー検定 (Tukey-Kramer test, 有意水準  $< 0.05$ ) を実行した。

エゾサンショウウオの1日目の全長と実験期間中の成長速度を、ブロックをランダム効果、処理を主効果とする正規分布を仮定した一般線形混合モデル (general linear mixed model; GLMM) で比較した。この解析は2段階で実施した。まず、チシマザサの枯葉の存在がエゾサンショウウオの成長に影響するかを調べるため、枯葉の調査地の由来を無視して「枯葉を入れた培養水」と「入れなかったコントロール水」の間で、1日目の全長と成長速度を比較した。次にコントロールの水で飼育した場合の結果を除いて、培養した枯葉の由来によって (つまり、「調査地の違い [サイトA 対 サイトB]」および「処理 [掻起区 対 対照区]」を独立変数に指定して)、成長速度に違いがあるかを比較した。

## 結果

掻き起こしから経過年数の浅い (8年から12年) チシマザサの新葉のフェノール含有量

は、掻き起こし履歴がない対照区の新葉よりも有意に多く ( $d.f. = 7, t = -5.879, p < 0.0001$ ), その値は掻き起こしからの経過年数とともに徐々に低下していた ( $R^2 = 0.31, p < 0.0001; y = 4.7830 - 0.0278x$ ; 図 4). しかし、掻き起こしから 50 年経過した場所の新葉では、対照区の新葉と比較して、フェノール含有量に有意な違いはみられなかった ( $d.f. = 9, t = 0.235, p = 0.82$ ).

チシマザサの枯葉の分解速度係数  $k$  は、調査地および処理の有意な効果はみられなかったが、調査地と処理の間に有意な交互作用がみられた (調査地:  $F_{1,47} = 0.060, p = 0.81$ ; 処理:  $F_{1,47} = 2.514, p = 0.12$ ; 調査地  $\times$  処理:  $F_{1,47} = 6.560, p = 0.014$ ; 図 5). 掻き起こしから 10 年経過した場所の枯葉では、対照区よりも掻起区において分解速度係数は小さかったが、50 年経過した場所の枯葉では処理間で有意な違いはみられなかった.

枯葉の培養水を用いたエゾサンショウウオ幼生の飼育実験では、孵化幼生の 1 日目の全長に処理間で有意な違いはみられなかったが ( $F_{1,79} = 2.09, p = 0.15$ ; 図 6a), 飼育期間中の成長速度は、コントロール水で飼育した場合よりも枯葉の培養水で飼育した場合に有意に速かった ( $F_{1,79} = 30.87, p < 0.0001$ ; 図 6b). コントロールの水で飼育した場合を除いて、エゾサンショウウオの孵化幼生の成長に及ぼす培養した枯葉の由来の効果を検証した結果、有意な調査地の効果はみられなかったが ( $F_{1,57} = 0.123, p = 0.726$ ), 処理の効果はみられ ( $F_{1,57} = 4.216, p = 0.0446$ ), 対照区よりも掻起区で採取した枯葉の培養水の方が、エゾサンショウウオの孵化幼生の成長を速めていた (図 7). 調査地と処理の効果の間に、有意な交互作用はみられなかった ( $F_{1,57} = 0.6166, p = 0.4356$ ).

## 考察

本研究の調査地のチシマザサでは、掻き起こし後、しばらくは新葉のフェノール含有量を対照区よりも高めていた (図 4). 植物が生産するフェノールは抗酸化作用によって細菌の活動を抑制させたり、消化阻害によって昆虫の摂食を抑制させたりするため、植物にとって防衛物質として機能する (Kulbat, 2016). つまり、チシマザサは掻き起こしによって被食防衛を強化していたと考えられる. 地球上に植物を食べる動物 (植食者) が出現して以降、植物は植食者に対してさまざまな防衛能力を進化させてきた (Karban & Baldwin, 1997). このような防衛には、常に発現している防衛 (恒常防衛) に加え、植食者からの攻撃 (食害) を受けることで発現する誘導的な防衛 (誘導防衛) も存在する (Agrawal, 1999). 掻き起こしにより「攻撃された」と感知したチシマザサは、その後の回復過程で誘導防衛を発現していたのかもしれない. あるいは、掻き起こし直後で回復過程にあるチシマザサは若いため、この若い時期に防衛を強化させていた可能性もある. 若くて小さい植物は、成長の進んだ大きな植物よりも貯蔵資源が少ないため、植食者に同じ量を食べられたとしても、大きい植物よりも致命的な影響を受けやすい. そのため若い植物は成長の進んだ植物よりも防衛を強化する傾向がみられる (Katayama & Suzuki, 2011). 現時点では、いずれの仮説が正しいか判断できないが、本研究では、「掻き起こし直後のチシマザサは防衛物質として機能するフ

フェノールの生産量を高めている」ことを、科学的なデータに基づいて示した。加えて、本研究の結果は、「掻き起こしからの経過年数とともに新葉のフェノール含有量は徐々に低下していき、掻き起こしから 50 年経過した場所では、掻き起区と対照区で新葉のフェノール含有量に違いはみられなくなる」ことも示した (図 4)。したがって、掻き起こしに起因するチシマザサの被食防衛の強化は、掻き起こしから長期間経過すると (長くとも 50 年後には) ほぼ消失すると予想される。

本研究の枯葉の分解実験により、掻き起こしから 10 年経過した場所のチシマザサでは、掻き起こしを経験したことによって枯葉の分解速度を低下させることが示された (図 5)。加えて、チシマザサの枯葉は水に落ちる (水中で培養される) ことによって、森林棲両生類のエゾサンショウウオ幼生の成長を促進させる効果を発揮した (図 6b)。特に、掻き起こしを経験したチシマザサが生産する枯葉は、掻き起こしを経験しなかったチシマザサが生産する枯葉よりも、幼生の成長を促進させる効果は高かった (図 7)。この飼育実験では、掻き起こし処理と調査地の間に交互作用はみられなかったため、個別のプロット由来の枯葉の間での事後検定を実施しなかった。しかし、エゾサンショウウオ幼生の成長速度の平均値をみると、掻き起こしから 50 年経過した調査地由来の枯葉では、掻き起区と対照区の成長促進効果はほぼ同じだったのに対し、掻き起こし後 10 年の調査地由来の枯葉では、掻き起区の方が対照区に比べて促進効果は 11% 強かった (図 7)。このように、掻き起こし後のチシマザサの形質の変化は数十年に渡って持続し、その効果は、森林の枯葉の分解過程と森林棲生物の成長に影響を及ぼす可能性が示された。

本研究に先立って Katayama et al. (2020) は、チシマザサの食用のタケノコの生産性に及ぼす大規模な人為的攪乱の影響を調べるため、天塩研究林内で掻き起こしからの経過年数の異なる 14 箇所を選定し、それらの場所でチシマザサの稈とタケノコの数を調査した。この研究によって、掻き起こしからチシマザサの稈密度とタケノコの生産性が元の状態に戻るには、数十年かかることが示されている。この論文の成果は、掻き起こしによる大規模な人為的攪乱からのチシマザサの回復過程を明らかにする上で重要な知見となる。しかし Katayama et al. (2020) では、チシマザサの量的な変化 (稈の数) を示しているが、質的な変化 (化学成分) には注目していない。植物は環境要因に応答して自身の化学成分を変えることが知られており (Karban & Baldwin, 1997)、その変化により、生態系の生産性や分解速度は大きく左右される (Ohgushi et al., 2007)。したがって、植物の質的な変化を調べることは、生態系の全貌を明らかにする上で重要な課題である。本研究では、陸上の植食性動物に対する植物の防御物質として機能する植物体のフェノールに着目し (Kulbat, 2016)、掻き起こしによりチシマザサが質的 (化学的) にも変化することを明らかにした。

いくつかの先行研究は、植物体のフェノールは枯葉の分解プロセスを減速させる主要成分であることを示している (Bragazza et al., 2007; Manzoni et al., 2008)。これは、分解を担う細菌の活動がフェノールによって抑制されるためである (Lattanzio, 2013)。本研究では、枯葉のフェノールと枯葉の分解速度の間の直接的な因果関係を明らかにしていないが、フェノールのような葉の化学成分は、枯葉にも引き継がれることが知られている

(Schweitzer et al., 2005). 実際に、掻き起こしから 10 年後の調査地の掻起区の枯葉では、分解速度が対照区に比べて 19%遅かった。これは、新葉の時に生産されたフェノールのような難分解性の成分が枯葉に残存し、それらの成分が反映された結果であると考えられる。

フェノールは動物（特に植食者）の摂食を抑制する成分である。そのため我々は、「掻き起こし直後でフェノール含有量の多いチシマザサの枯葉の培養水でエゾサンショウウオの孵化幼生を飼育すると、幼生の成長速度は遅くなる」と予測していた。しかしその予測に反して、掻き起こしを経験した枯葉の培養水では、掻き起こしを経験していない枯葉の培養水よりもエゾサンショウウオ幼生の成長は促進していた（図 7）。この現象を説明するには現時点ではデータは不足している。しかし、いくつかの仮説を提示したい。まず、フェノールは細菌の活動を抑制させるため、フェノールが多い枯葉が培養されると、エゾサンショウウオに対して病原性を示す細菌の働きも抑制される（つまり、より健康になり成長が促進される）かもしれない。ササの葉には防腐作用があるとされており（Chueyen et al., 1982）、掻き起こしを経験したササの葉では、殺菌効果が強化されていた可能性がある。あるいは、枯葉の培養水とコントロール水では、枯葉の培養水の方が、エゾサンショウウオ幼生の成長を圧倒的に促進させるため（図 6b）、枯葉にはエゾサンショウウオ幼生にとって栄養となる成分があるのかもしれない。サンショウウオの成長を促進させた成分は未特定だが、掻き起こしによってフェノール以外の枯葉の何かしらの成分が増減した影響を、本研究の結果は反映していた可能性がある。

枯葉の分解過程や森林に棲む動物の成長は、その場所の森林の機能を左右する（Wardle, 2002）。例えば、枯葉の分解速度が遅くなると森林の生産性は低くなり、エゾサンショウウオのような肉食動物の成長の促進は枯葉を食べる水生昆虫やカエルのオタマジャクシのような草食動物を減らすことで、分解過程をさらに抑制させるかもしれない。したがって本研究の成果は、森林資源の生産性の決定メカニズムやその利用可能性を考慮する上で重要な基礎情報となる。掻き起こしはカンバ類の成長を促すため（Ozawa et al., 2001; Asada et al., 2017）、森林の更新において重要な施業である。しかしその一方で、本研究で提示したように掻き起こしは森林の生産性を数十年にわたり低下させるかもしれない。したがって、森林の生態系サービスを持続的かつ最大限に利用するには不必要な掻き起こしを減らし、必要な時期に必要な掻き起こしを行うという意味決定が必要と思われる。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、小樽商科大学生物學研究室および東京大学の森章研究室の皆さまには大変お世話になりました。北海道大学の小林真博士、農研機構の河上智也博士、小樽商科大学の岳尾璃久氏、および北海道大学天塩研究林スタッフの皆さまには、調査および実験をサポートして頂きました。本実験に関わって頂いた方々に深くお礼を申し上げます。本研究は、JSPS科研費（21A102, 研究代表者：荒谷邦雄）、令和4（2022）年度小樽商科大学グローバルプロジェクト（研究分野）推進公募、および文部科学省教育関係共同利用拠点（北

海道大学・森林圏ステーション) の助成を受けたものです.

## 引用文献

- Agrawal AA (1999) Induced responses to herbivory in wild *radish*: effects on several herbivores and plant fitness. *Ecology* **80**: 1713–1723.
- Asada I, Yamazaki H, Yoshida T (2017) Spatial patterns of oak (*Quercus crispula*) regeneration on scarification site around a conspecific overstory tree. *For Ecol Manag* **393**: 81–88.
- Bragazza L, Siffi C, Iacumin P, Gerdol R (2007) Mass loss and nutrient release during litter decay in peatland: The role of microbial adaptability to litter chemistry. *Soil Biol Biochem* **39**: 257–267.
- Chueyen NV, Kurata T, Kato H, Fujimaki M (1982) Antimicrobial activity of kumazasa (*Sasa albo-marginata*). *Agric Biol Chem* **46**: 971–978.
- Houghton RA, Hackler JL, Lawrence KT (1999) The U.S. carbon budget: contributions from land-use change. *Science* **285**: 574–578.
- Julkunen-Tiitto R (1985) Phenolics constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric Food Chem* **33**: 213–217.
- Karban R, Baldwin IT (1997) *Induced Responses to Herbivory*. Univ of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Katayama N, Kishida O, Miyoshi C, Hayakashi S, Ito K, Sakai R, Naniwa A, Takahashi H, Takagi K (2020) Demography and productivity during the recovery time sequence of a wild edible bamboo after large-scale anthropogenic. *PLoS ONE* **15**: e0243089.
- Katayama N, Kobayashi M, Kishida O (2016) An aquatic vertebrate can use amino acids from environmental water. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* **283**: 20160996.
- Katayama N, Okamura K, Tanimura K (2021) Phenotypic plasticity of salamander hatchlings in the pre-feeding stage in response to future prey. *Zool Sci* **38**: 397–404.
- Katayama N, Suzuki N (2011) Anti-herbivory defense of two *Vicia* species with and without extrafloral nectaries. *Plant Ecol* **212**: 743–752.
- Katayama N, Tanimura K (2023) Growth-promotion effects of dissolved amino acids in three species of *Hynobius* salamander hatchlings. *Zool Sci* **40**: 13–18.
- Kulbat K (2016) The role of phenolic compounds in plant resistance. *Biotechnol Food Sci* **80**: 97–108.
- Lattanzio V (2013) Phenolic compounds: Introduction. In K. G. Ramawat, & J.-M. Mérillon (Eds.), *Natural Products* (pp. 1543-1580). Springer.
- Manzoni S, Jackson RB, Trofymow JA, Porporato A (2008) The global stoichiometry of litter nitrogen mineralization. *Science* **321**: 684–686.
- 松尾歩, 陶山佳久, 蒔田明史 (2010) チュウゴクザサとチンマザサにおける地下茎の分枝・伸長様式とジェネットの空間分布構造. *日本生態学会誌* **60**: 81–88.

- Millennium Ecosystem Assessment (2005) Ecosystems and human wellbeing: current state and trends. Washington (DC): Island Press.
- 森章編 (2012) エコシステムマネジメントー包括的な生態系の保全と管理へー. 共立出版.
- Noguchi M, Yoshida T (2004) Tree regeneration in partially cut conifer-hardwood mixed forests in northern Japan: roles of establishment substrate and dwarf bamboo. *For Ecol Manag* **190**: 335–344.
- Noguchi M, Yoshida T (2005) Factors influencing the distribution of two co-occurring dwarf bamboo species (*Sasa kurilensis* and *Sasa senanensis*) in a conifer-broadleaved mixed stand in northern Hokkaido. *Ecol Res* **120**: 25–30.
- Ohgushi T, Craig TP, Price PW (2007) Ecological Communities: Plant Mediation in Indirect Interaction Webs. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Olson JS (1963) Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology* **44**: 322–331.
- Ozawa M, Shibata H, Satoh F, Sasa K (2001) Effect of surface soil removal on dynamics of dissolved inorganic nitrogen in snow-dominated forest soil. *Sci World J* **1**: 527–533.
- 齋藤智之 (2013) 林床植物としてのササの管理. *森林科学* **69**: 2–3.
- 笹賀一郎, 吉田憲悟, 佐藤冬樹, 深沢和三, 藤原滉一郎 (1991) チシマザサの根系と地中芽の成長過程. *北海道大学農学部演習林研究報告* **48**: 355–373.
- Schweitzer JA, Bailey JK, Hart SC, Wimp GM, Chapman SK, Whitham TG (2005) The interaction of plant genotype and herbivory decelerate leaf litter decomposition and alter nutrient dynamics. *Oikos* **110**: 133–145.
- 豊岡洪, 佐藤明, 石塚森吉 (1983) 北海道ササ分布図概説. 林業試験場北海道支場 札幌.
- 内村悦三 (2014) タケ・ササ総図典. 創森社.
- Wardle DA (2002) Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, New Jersey.

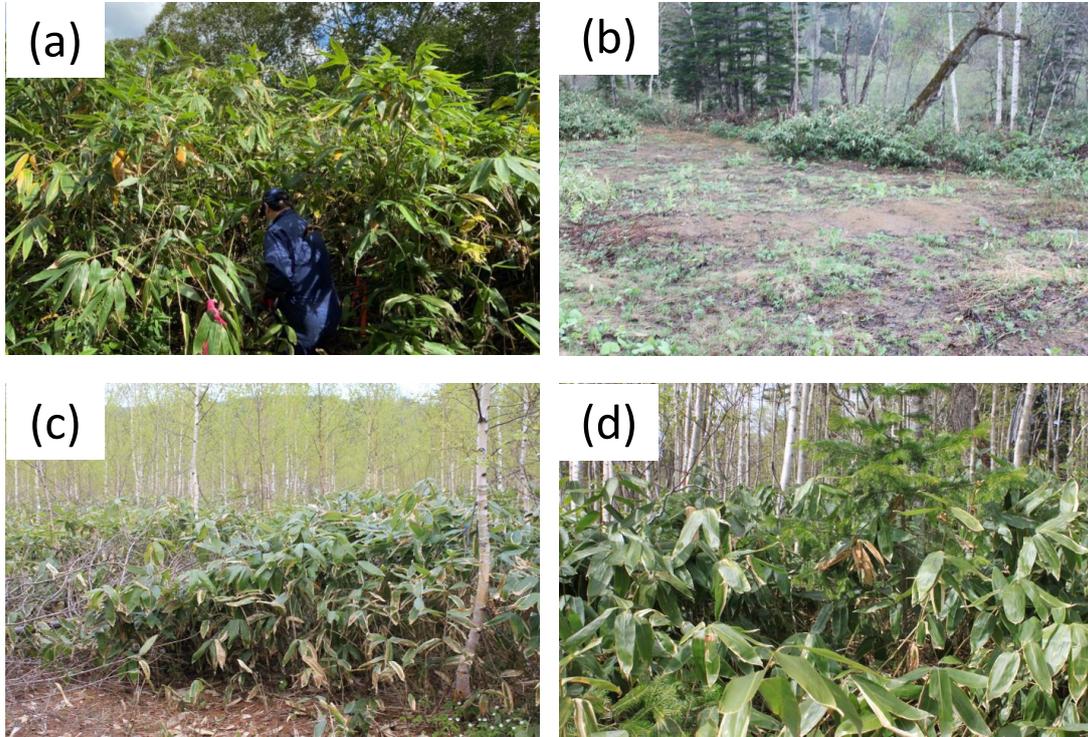


図1. (a)北海道の森林に生育するチシマザサ. 掻き起こしから(b)3年, (c)11年および(d)38年後のチシマザサの群落.

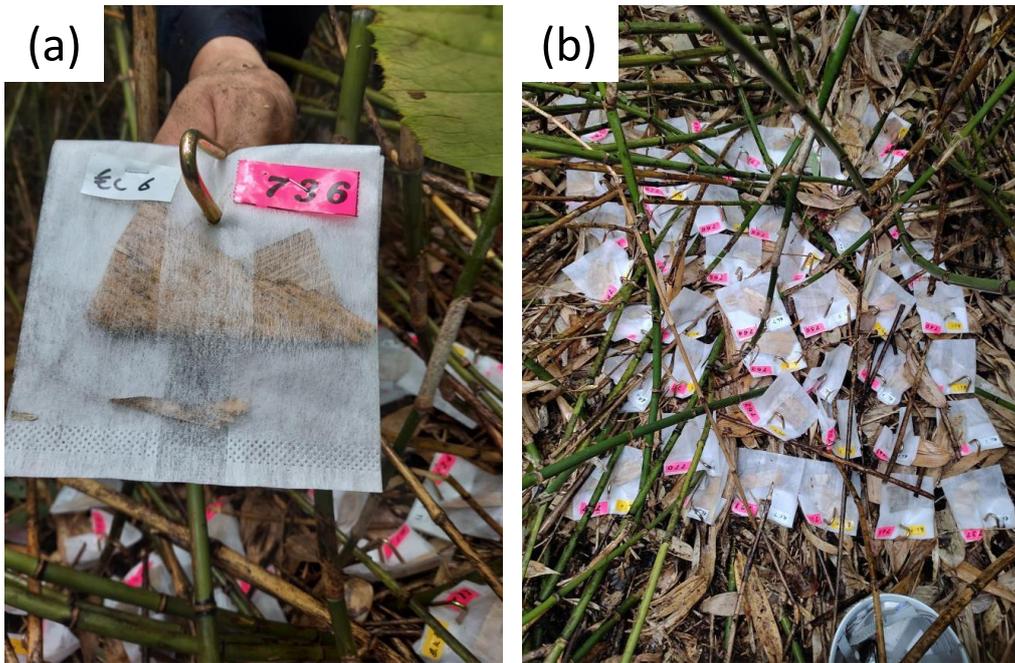


図2. (a)チシマザサの枯葉を入れたリターバッグおよび(b)北海道の森林に設置したリターバッグ.

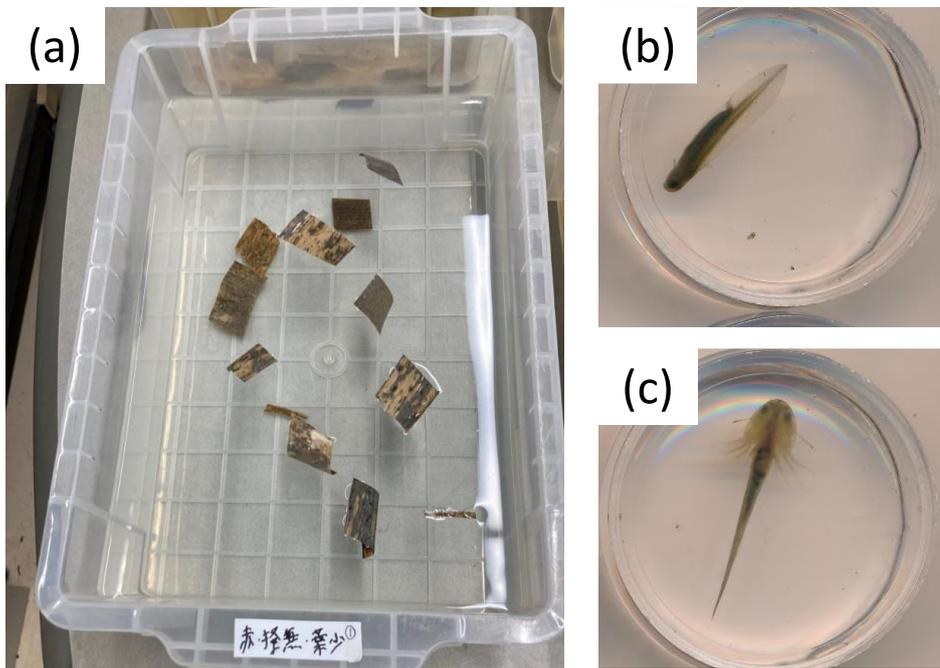


図3. (a)チシマザサの枯葉の培養水のセッティング. (b)実験開始時 (1日目) および(c) 実験終了日 (7日目) のエゾサンショウウオ幼生.

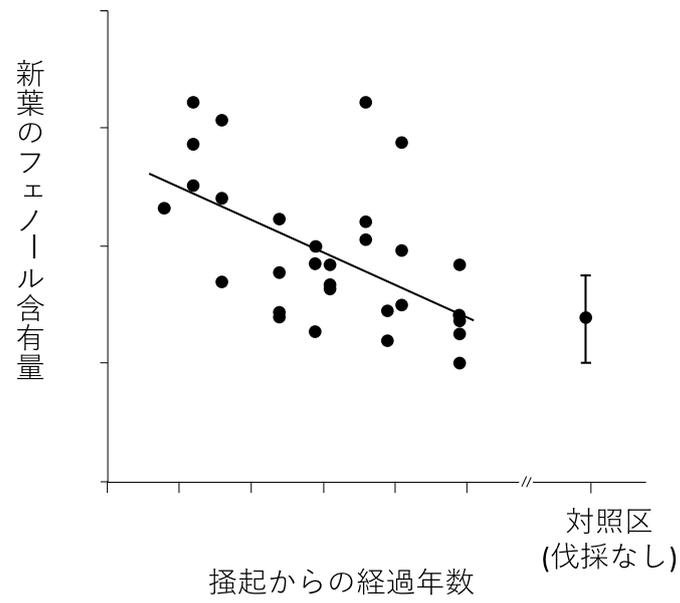
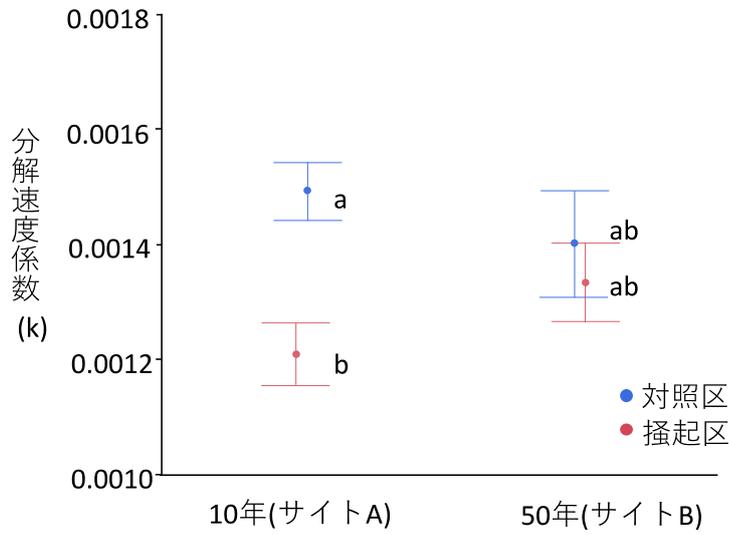


図4. 搔き起こしからの経過時間ともなうチシマザサ新葉のフェノール含有量の変化 (図中の直線は単回帰を示す). 対照区におけるエラーバーは標準誤差を示す.



掻き起こしからの経過年数(サイトの違い)

図5. チシマザサの枯葉の分解速度 (エラーバーは標準誤差). 青と赤のシンボルは, それぞれ対照区および掻起区を示す. 図中の異なる文字は, 処理間の有意な違いを表す (チューキー・クレーマー検定, 有意水準 < 0.05) .

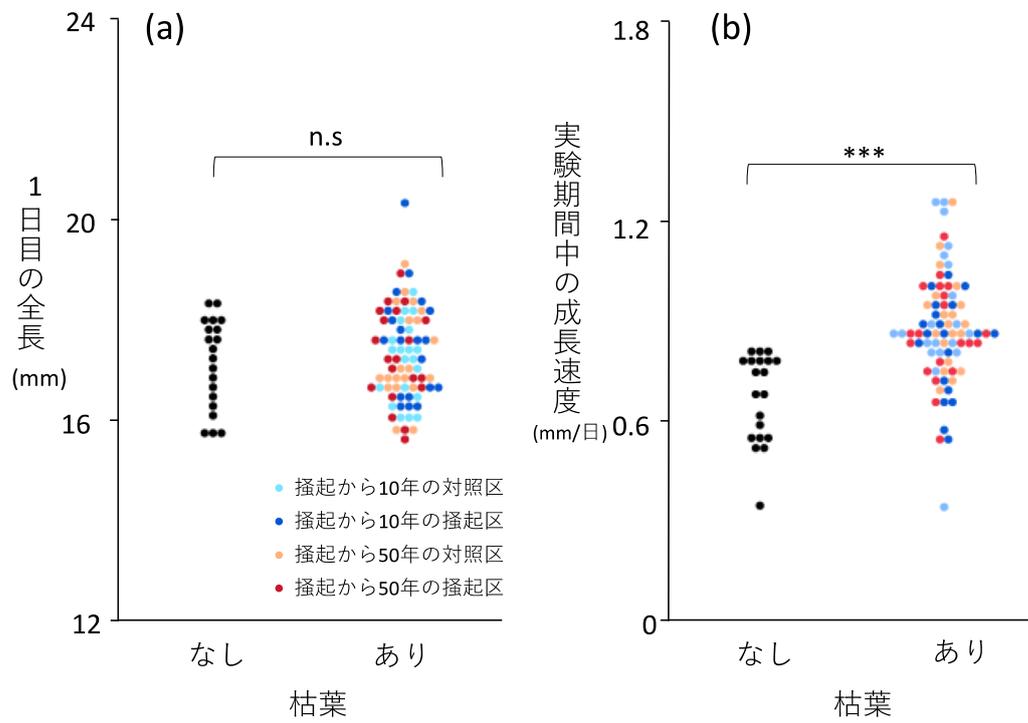


図6. (a)実験開始時のエゾサンショウウオ幼生の全長. (b)チシマザサの枯葉の有無によるエゾサンショウウオ幼生の成長速度の違い (\*\*\*) $p < 0.0001$ ).

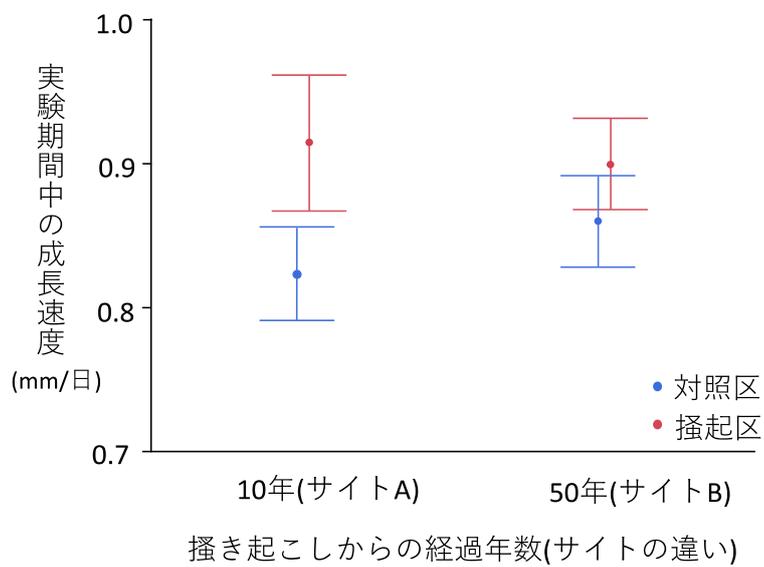


図7. エゾサンショウウオ幼生の成長に及ぼす培養した枯葉の由来の効果（エラーバーは標準誤差）．青と赤のシンボルは、それぞれ対照区および 掻起区を示す．