

トリュフの発生が見られるクリ林におけるクリ細根の現存量と形態

Biomass and morphology of chestnut fine roots in stands with *Tuber indicum* production

田中 (小田) あゆみ^{*1}・野口享太郎^{*1}・古澤仁美^{*1}・木下晃彦^{*1}・小長谷 啓介^{*1}・山中高史^{*1}・柴田尚^{*2}
 Ayumi TANAKA-ODA^{*1}, Kyotaro NOGUCHI^{*1}, Hitomi FURUSAWA^{*1}, Akihiko KINOSHITA^{*1}, Keisuke OBASE^{*1},
 Takashi YAMANAKA^{*1} and Hisashi SHIBATA^{*2}

* 1 森林総合研究所

Forestry and Forest Products Research Institute, 1 Matsunosato, Tsukuba, Ibaraki 305-8687 Japan

* 2 山梨県森林総合研究所

Yamanashi Forest Research Institute, 2290-1 Saishoji, Fijikawa, Minamikoma, Yamanashi 400-0502 Japan

要旨: イボセイヨウショウロは外生菌根性の子実菌類であり、栽培技術開発には宿主樹木との共生関係の成立・維持や、子実体発生に必要な条件の解明が必要である。一般に外生菌根菌は樹木の細根と共生するが、菌が感染（共生）している地下部の細根量や根の形態については明らかにされていない。そこで本研究では、トリュフの発生するクリ林において、宿主樹木細根の現存量、垂直分布および形態を調査し、近接する無発生地と比較した。トリュフ発生地の細根現存量は無発生地の25%、総細根長は50%以下と少なかった。発生地では土壌深度に関係なくほぼ均一に細根が分布していたのに対し、無発生地では地下10cmまでに総細根長の8割の根が分布していた。一方、根の重量当たりの長さ（比根長：SRL）と、総細根長のうち菌根形成に適した直径0.5mm以下の微細根長の割合（微細根比）には発生地と無発生地で差がなく、根の形態の違いは明確でなかった。トリュフ発生地と無発生地の間で細根の形態は変わらないが、現存量とその分布が異なったことから、林分間における土壌環境条件や菌根菌群集の違いなどを反映して、宿主樹木の細根系への資源配分量が変化している可能性が考えられた。

キーワード: 外生菌根・根形態・細根現存量・SRL・*Tuber indicum* s.l.

Abstract: *Tuber indicum* s.l. is an edible ectomycorrhizal mushroom and is highly demanded as food. Ectomycorrhizal fungi are known to be associated with small fine roots (<0.5mm in diameter), but information on fine root characteristics of the host trees that associated with Japanese truffle species is totally unknown. In this study, we examined biomass, vertical distribution patterns and morphology of fine roots of host trees in a chestnut stand with truffle production, and compared it with those in an adjacent stand with no truffle production. Biomass and length of chestnut fine roots were smaller in the stand with truffle production than that with no truffle production, whereas there was no difference in fine root morphology between them. Vertical distribution patterns of chestnut fine roots also differed between the two stands. These differences in fine root standing crop and distribution patterns might be attributed to differences in soil characteristics and allocation patterns of the chestnut trees between the stands with and without truffle production.

Key-word: ectomycorrhiza, root morphology, fine root biomass, specific root length, *Tuber indicum* s.l.

I はじめに

高級食材として知られるトリュフ（セイヨウショウロ属）は、日本国内でも約20種が確認されており（6）、その中でも子実体が大きく香りのよい黒トリュフとして *Tuber indicum* s.l.（広義のイボセイヨウショウロ。以後 *T. indicum* と記す）がある（10）。*Tuber indicum* はヨーロッパで栽培及び食用にされている黒トリュフ（*T. melanosporum*）の近縁種であり（14）、日本国内での

栽培化が期待されている。

トリュフは外生菌根菌であり、樹木の根に感染し共生関係を結んで土壌中に菌糸を広げ、地表近くに子実体を発生させる（4）。そのため、ヨーロッパでは18世紀ごろから *T. melanosporum* を対象として、孢子懸濁液を宿主樹木の周辺に散布したり、トリュフが発生した土壌を新たな宿主樹木の植栽地に導入する等の、栽培手法が試みられてきた（14, 8）。1970年代には、あらかじめ

トリュフ菌を感染させた感染苗木を植栽する栽培技術が確立され、樹を育て林産物を得るアグロフォレストリーの一環としても注目されている(14, 4)。このようにヨーロッパではトリュフ栽培の歴史が長く、子実体の発生に必要な条件が明らかにされている。宿主は主にハシバミやナラ、カシ類で、土壌はアルカリ性で炭素含量の多い環境を好み、夏の土壌水分を高く保つことで収量が増加すること等が分かっている(14)。一方、*T. indicum* はアジア地域に広く分布しており、主にマツ科やブナ科の落葉広葉樹を宿主とし、発生地は必ずしもアルカリ性土壌ではなく、乾燥した尾根部もしくは湿った谷など多様である(14)。日本国内でも様々な気候や土壌条件下で発生が報告されているが(6)、トリュフ菌と宿主樹木との関係や、子実体の発生環境については調査例が無く明らかにされていない。今後、トリュフ生産技術確立を目指すうえでは、こうしたトリュフ菌の生態に関する基礎的知見の収集・蓄積が必要不可欠である。

樹木の根に共生する菌根菌は、宿主から炭素を得る代わりに、養水分の吸収を助けることが知られている(11)。菌根菌の菌糸は樹木の根より細く、広範囲に広がり、養水分の捕集に役立つ。そのため、多くの樹木は生育に菌根菌との共生関係を必要とし、土壌養分が少ない環境ほど、養分吸収に対する菌根への依存度が高くなることが報告されている(12)。その一方で、菌根菌への炭素配分は純生産の2割から6割にもなるという試算もあり、菌根共生は、樹体内の資源配分に大きな影響をおよぼすと考えられている(5)。菌根形成において菌根菌が共生するのは、主に養分吸収を行っている直径0.5mm以下の微細根である(3)。外生菌根菌であるトリュフ菌の感染や子実体の発生にも、感染部位である微細根の量や形態および宿主樹木からの炭素配分が関係していると考えられるが、日本においてトリュフ菌が感染した宿主樹木を対象として、その細根の発達状況を調査した報告例は無く、明らかでない。

そこで本研究では、現在、トリュフの発生が確認されているクリ(*Castanea crenata* Siebold et Zucc.)林と、その近傍の無発生のクリ林との間で、細根の量や分布、形態的特徴を比較し、発生地における特性を明らかにすることを目的とした。

II 方法

1. 調査地 調査は山梨県北杜市にあるクリ林内で行った。このクリ林で、2007年から黒トリュフ(*Tuber* sp. 6; (6))の発生が確認されている林分を発生地(1)、これまで一度もトリュフの発生が認められていない隣接林

分を無発生地として調査を行った。ちなみに *Tuber* sp. 6 は中国産の *Tuber indicum* や台湾産の *Tuber* 種と近縁であることが分かっている。発生地、無発生地ともに、クリの樹齢はおよそ30年で、地際から20cmの位置における直径はそれぞれ 32.5 ± 2.0 cm、 32.0 ± 1.5 cmであった。このクリ林では草刈りによる除草と落ち葉掻きが毎年行われているため、林床有機物の堆積はなかった。調査前の数年間に施肥は行われていない。

2. 調査項目 調査は2016年5月に行った。トリュフ発生地と無発生地の細根の量や形態、垂直分布を調べるため、直径5cmのコアサンプラーを用いて表層から20cmの深さまでの土を採取した。採取した土壌は表層から深さ10cmまでと、深さ10-20cmの二つに分け、孔径0.5mmのふるい上で水洗し、土壌中に含まれる細根(直径2mm以下の根)をすべて取り出した。

洗浄した根はスキャナー(EPSON GT-X970)で解像度800dpiで画像を撮影した後、乾燥させて乾燥重量を測定した。採取した画像について、根の形態解析ソフトウェアであるWinRHIZO Pro 2012(Regent Instruments, Quebec, Canada)を用いて直径階別(0-0.5, 0.5-1.0, 1.0-1.5, 1.5-2.0mm)の根長を測定した。画像解析の結果から、直径2mm以下の細根について、根の重量当たりの長さを示す比根長(SRL: m g^{-1})を算出した。また、通常菌根が共生する部位は直径0.5mm以下の微細根であるため(3)、直径2mm以下の細根長(総細根長)に対する直径0.5mm以下の細根長の割合を「微細根比」として根形態の解析に用いた。調査地と土壌深度ごとの細根現存量、総細根長、比根長および微細根比の違いは、一元配置の分散分析を行った後、Tukey's testによる多重比較により評価した。統計解析にはR 3.3.2(9)を用いた。

III 結果と考察

トリュフ発生地では無発生地と比べてSRLや微細根比など根の形態の指標に明確な差は見られなかったが、細根量が少なく、土壌中に細根が均一に分布していた(図-1)。発生地の細根現存量は無発生地の約50%であり、土壌表層ほど小さい傾向があった。これに対して、無発生地では発生地に比べ細根現存量が有意に高く、特に土壌から深さ10cmまでの表層に総細根長の8割が分布していた。発生地と無発生地の細根現存量の差は1.5-2mm径を除くどの直径階の細根長においても同様の傾向でみられ(表-1)、その結果、根の形態の指標であるSRLおよび、微細根比に発生地と無発生地間の差は見られなかった(図-1)。また、発生地、無発生地ともに土壌表

層で SRL が有意に高く、土壌表層に細く長い根を多く形成する傾向が見られた。同様に、微細根比も発生地、無発生地ともに土壌表層で有意に高く、下層で低かった。樹木根は養分条件が良いと盛んに根を張って成長する場合と、反対に養分が少ない条件下で養分獲得のために根を増やす場合が知られている(13, 7)。本調査地ではクリ園としてクリの採取に適切な地上部のサイズが維持されており、地上部の地際直径にも差がないことから、宿主樹木の地上部の大きさに著しい違いはないと考えられる。一方、トリュフ発生地の土壌は炭素・窒素含有率や電気伝導度(EC、水溶性塩類濃度の指標)が無発生地よりも高い傾向にあり(2)、今回調査を行ったトリュフ発生地では、無発生地と比較して有機物蓄積量が高く、養分条件も良好であると考えられる。そのため、トリュフ無発生地のクリは、発生地のクリと比較して、土壌中の少ない養分を獲得するために相対的に多くの資源を根系へ投資している可能性がある。その他、トリュフ発生地の宿主樹木では、トリュフ菌を含む外生菌根菌との共生が養分獲得に有利に働いている可能性も考えられる。したがって、今後の研究では、菌根菌の感染率や種組成および、樹木の養分吸収能力等についても検討が必要になると思われる。

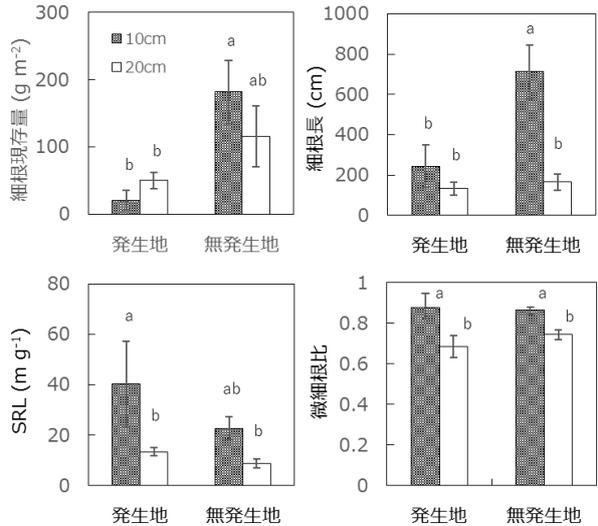
表一 1. トリュフ発生地と無発生地における宿主樹木根の直径階別(0-0.5, 0.5-1.0, 1.0-1.5, 1.5-2.0mm)の細根長(単位はcm)。

Table 1. Fine root length (cm) of different diameter class (0-0.5, 0.5-1.0, 1.0-1.5, 1.5-2.0mm) in study sites with/without truffle production

	0-0.5	0.5-1.0	1.0-1.5	1.5-2.0
発生地	155.6	23.8	4.6	2.2
無発生地	371.4	46.3	12.3	4.9

IV まとめ

隣接するトリュフの発生林分と無発生林分では、土壌母材や気象条件が同じであり、クリの地上部のサイズも同程度であった。しかし、トリュフ発生地では無発生地に比べ細根量が少なく、土壌中の垂直分布が比較的均一だったのに対し、無発生地では細根量が多く、土壌表層に集中するなど、調査地間で細根の量と分布に大きな違いがあった。この結果は、トリュフ発生地と無発生地の土壌条件の差や、外生菌根であるトリュフ菌の感染による宿主樹木の養分吸収や根の発達に関わる生理的な変化を反映している可能性がある。これらの細根および土



図一 1. トリュフ発生地と無発生地における土壌深度別の根の量と形態の違い(平均値±標準誤差)。異なるアルファベットは、多重比較の結果、各平均値間に有意な差があることを示す(p<0.05)

Fig.1 Fine root biomass, total fine root length, SRL and small root ratio in study sites with/without truffle production (Mean ± SE). Different letters indicate significant differences among sites and soil depth according to Tukey's HSD test after one-way ANOVA (p<0.05).

壌条件の特性が、トリュフの菌根や子実体形成に適しているか否かについては現時点では判断できないが、今後、国産トリュフの栽培技術の確立に必要な情報を得るためには、菌根菌の感染率や種組成について明らかにするとともに、他の地域のトリュフ発生地と無発生地においても同様の調査を進めて、基礎的な知見を蓄積していくことが重要と考えられる。

謝辞：本研究は、農林水産省委託プロジェクト研究「森林資源を最適利用するための技術開発、高級菌根性きのこ栽培技術の開発」により行われた。

引用文献

- (1)阿部 淳一・神谷 泰介・大久保 彦・柴田 尚(2010) 山梨県小淵沢で発生した外生菌根菌セイヨウシヨウロ(*Tuber indicum*)について. 日本菌学会第 54 回大会講演要旨集: 109
- (2) 古澤仁美・山中高史・野口享太郎・木下晃彦・小長谷啓介(2016) 日本国内における黒トリュフ発生地の

土壤条件. 日本菌学会第 60 回大会講演要旨集 : 65

(3) GUO, D., XIA, M., WEI, X., CHANG, W., LIU, Y. and WANG, Z. (2008) Anatomical traits associated with absorption and mycorrhizal colonization are linked to root branch order in twenty-three Chinese temperate tree species. *New Phytol.* **180** : 673-683

(4) HALL, I. R., BROWN, G. T. and ZAMBONELLI, A. (2007) *Taming the truffle*. Timber Press. 304p

(5) HOBBIE, E.A. and HOBBIE, J.E. (2008) Natural abundance of ^{15}N in nitrogen-limited forests and tundra can estimate nitrogen cycling through mycorrhizal fungi: a review. *Ecosystems* **11** : 815-830

(6) KINOSHITA, A., SASAKI, H. and NARA, K. (2011) Phylogeny and diversity of Japanese truffles (*Tuber* spp.) inferred from sequences of four nuclear loci. *Mycologia* **103** : 779-794

(7) LARCHER, W. (2003) *Physiological Plant Ecology*. 4th Edn. Springer-Verlag, New York : 513 pp

(8) MURAT, C., Bonneau L., H. De La Varga, Olivier J.M., F. Sandrine, F. Le Tacon (2016) Trapping truffle production in holes: a promising technique for improving production and unravelling truffle life cycle. *Ital. J. Mycol.* **45** : 47-53

(9) R Development Core Team (2016) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna

(10) 佐々木廣海・木下晃彦・奈良一秀 (2016) 地下生菌識別図鑑. 誠文堂新光社, 東京 : 143pp

(11) SMITH, S.E. and READ, D.J. (2008) *Mycorrhizal symbiosis*, Third edition, Academic Press, London : 787 p

(12) TANAKA-ODA, A., KENZO T., TORIYAMA J., MATSUURA Y. (2016) Variability in the growth rates and foliage $\delta^{15}\text{N}$ values of black spruce trees across a slope gradient in the Alaskan Interior. *Can J For Res* **46** : 1483-1490

(13) 寺島一郎 (2013) 植物の生態-生理機能を中心に-. 裳華房, 東京 : 268pp

(14) ZAMBONELLI, A., IOTTI, M., & MURAT, C. (Eds.). (2016). *True Truffle (Tuber spp.) in the World: Soil Ecology, Systematics and Biochemistry (Vol. 47)*. Springer.