

## ヒノキ人工林伐採後の広葉樹植栽地における埋土孢子由来外生菌根菌の探索

Characterization of ectomycorrhizal soil propagule banks in planted broadleaf saplings after patchy clearcutting *Chamaecyparis* plantation田中 恵\*<sup>1</sup>

Megumi TANAKA

\* 1 東京農業大学地域環境科学部

Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya, Tokyo 156-8502

**要旨:** 我が国の主要造林樹種であるスギやヒノキはアーバスキュラー菌根性樹木である。一方、造林樹種として用いられる広葉樹の中でもブナ科やカバノキ科などは普遍的に外生菌根菌と共生関係を結んでいるため、共生する菌類が異なる。ヒノキ人工林を群状伐採後に植栽した広葉樹について、近傍成木からの感染がない状態でどのような菌根菌種が存在するかを調べたところ、遷移初期の菌種が多いこと、また動物散布による地下生菌の感染が散発的にみられることがわかった。このような場所では菌根形成には孢子を主な感染源としている可能性が考えられる。そこで本研究では、新たに菌根菌の感染源となりうる埋土孢子は存在するか、実生を用いた釣り上げ試験を行うことで、菌根形成率及び菌根菌種について調べた。その結果、埋土孢子による菌根形成はある程度可能であること、埋土孢子由来菌根菌群集は、遷移初期種が多く調査地に一様に分布している傾向があることがわかった。さらに、感染菌根菌種と実生の成長量に関連はみられないが、菌根形成のない実生は殆ど全てが枯死したことから、本調査地のような場所では菌根形成の可否が実生の生残に影響を及ぼす可能性がある。

**キーワード:** クマシデ、コナラ属、実生、外生菌根菌、埋土孢子

**Abstract:** Japanese cedar and cypress are arbuscular mycorrhizal tree species and major plantation trees in Japan. Meanwhile, among the broadleaf trees used as tree planting species such as family of *Fagaceae* and *Betulaceae* have symbiotic relationship with ectomycorrhizal (ECM) fungi, so there are different symbiotic fungal types. I investigated the type of ECM fungi in the broad-leaved trees planted after patchy clearcutting at the cypress plantation forest in the absence of ECM fungal infection from mycelium of neighboring plants, indicating that there are many primary successional fungal species and truffle species by animal dispersal were found to be sporadic. In such site, it is possible that the ECM formation may be caused by spores or propagules as the main resource of infection. In this study, soil propagule banks, which can be resources of ECM fungi, are present, and ECM formation rate and ECM fungal species are examined by bioassay test using seedlings of Japanese hornbeam. As a result, it was found that ECM formation by spores was possible to some extent, that soil propagule banks ECM communities tended to be uniformly distributed in the surveyed area due to many early successional species, Although it is not related to the growth of seedling and ECM fungal species, almost all of the seedlings without ECM formation died, so in such site, the ECM formation is determined by the survival of the seedlings.

**Key-word:** *Carpinus japonica*, *Quercus*, seedling, ectomycorrhizal fungi, soil propagule banks

## I はじめに

我が国の主要造林樹種であるスギやヒノキはアーバスキュラー菌根性樹木である。一方、造林樹種として用いられる広葉樹の中でもブナ科やカバノキ科などは普遍的に外生菌根菌と共生関係を結んでいるため、共生する菌類が異なる。菌根とは、樹木を宿主とする共生系の一形態であり、樹木は菌根菌と共生することにより環境適応

性を高めている。野外環境においては樹体に含まれる窒素やリンのほぼ 100%が菌根菌によって吸収されたものである(10)。このように、外生菌根性の樹種にとって外生菌根菌の存在は非常に重要であり、菌根共生ができない個体は生き残ることが難しい。

針葉樹人工林の針広混交林化や広葉樹林化は、森林の多様で健全な発達のための手段であり、森林の公益的機

能を発揮させるものとしても近年期待されている(9)。その手法は針葉樹一斉人工林を帯状・群状に伐採し、跡地に広葉樹を天然更新させるものが一般的である。しかしながら、スギやヒノキといった樹種で構成されている人工林伐採跡地に広葉樹を更新あるいは植栽する際に、菌根菌種の違いを考慮した例はあまりみられない。

スギやヒノキが長期間生育している林地に、感染可能な外生菌根菌が十分に存在しているか調べた研究例は未だ多くない。ヒノキ林分に自生するブナ科実生を調べた例では、外生菌根菌は潜在するが、種多様性が低下している可能性がある(5)とされている。また、林内の外生菌根性実生の感染源について調べた例では、感染源は根外菌糸由来が多いため、近傍成木から離れたところでの発芽は菌根形成に不利であるとされている(2)。

実際にヒノキ人工林を群状伐採後に植栽した広葉樹について、近傍成木からの感染がない状態でどのような菌根菌種が存在するかを調べたところ、菌根菌群集は遷移初期種が多いこと、また動物散布による地下生菌の感染が散発的にみられることがわかった(11)。このような場所では地下部の菌糸ネットワークが未発達であり、菌根形成には孢子を主な感染源としている可能性が考えられる。そこで本研究では、この同じ調査地の土壌には新たに感染源となりうる埋土孢子由来の外生菌根菌は存在するか、実生を用いた釣り上げ試験を行うことで、菌根形成率、菌根菌種、さらに感染した菌根菌による実生の成長への影響について調べた。

## II 材料と方法

埋土孢子釣り上げ試験に用いる土壌は静岡県富士宮市の東京農業大学富士農場試験林(N35°39'27", E 138°57'15")で採取した。試験区は45年生ヒノキ人工林を30m×30mに群状伐採した後、広葉樹を1m間隔でモザイク状に植栽し、土壌の採取時点で植栽後7年が経過している。植栽木は定期的に除伐が行われ、試験区外周は鹿柵で囲われている。また、周囲は約50年生のヒノキ人工林に広く囲まれており、植栽当時、近傍に外生菌根性成木はなく根外菌糸による感染はないとみられる。植栽樹種はクマシデ(*Carpinus japonica*)、ミズナラ(*Quercus crispula*)、フサザクラ(*Euptelea polyandra*)、イタヤカエデ(*Acer pictum*)、チドリノキ(*A. carpinifolium*)、コハウチワカエデ(*A. sieboldianum*)、ウツギ(*Deutzia crenata*)、ガマズミ(*Viburnum dilatatum*)の8種で、うちクマシデ、ミズナラが外生菌根性樹種で残りはアーバスキュラー菌根性樹種である。クマシデは試験区内にモザイク状に4ヶ所植栽された全稚樹の27本、ミズナラはモザイク状に11ヶ所植栽された稚樹から全ての植栽位置を含む14本を選び、

植栽位置合計15ヶ所、稚樹合計41本の地際から約10cm×10cm×10cmの土壌計41サンプルを採取し供試土壌とした。供試土壌は室内で10ヶ月間風乾し、菌糸による感染可能性を排除した上で釣り上げ試験に用いた。

釣り上げ試験に用いる実生はクマシデ、コナラ(*Q. serrata*)、ミズナラを用いた。それぞれクマシデ137粒、コナラ61粒、ミズナラ45粒の種子を湿らせたキムタオル上に播き出し、数日後わずかに発根を確認したものを試験に用いた。クマシデ種子のみ播き出し前に4ヶ月間低温湿層処理を行った。

釣り上げ試験の容器として、クマシデには15mL、コナラ、ミズナラは50mLのプラスチック製遠沈管を用いた。遠沈管の底面に水抜き用の穴を開け綿栓を詰め、粗大有機物や細根を取り除いた供試土壌をいれ、播種後、土壌表面にサンプル間のコンタミを防ぐために滅菌土壌(芝の目土)を薄くかぶせ、室内の培養棚(14時間補光)で13ヶ月間育成した。クマシデのみ播種後10日までに枯死した個体は補植を1回行い、育成中は週に1回程度純水で灌水した。また、育成期間中に枯死した個体はその都度菌根形成の有無を確認した。

育成終了後の実生は根系全てを実体顕微鏡で観察し、菌根の形態分類を行った。分類ごとに3根端を採取し、CTAB法でDNAを抽出し、ITS領域(ITS1+5.8S+ITS2)のシーケンスにより菌根菌種を決定した。また、実生はそれぞれ地上部乾重、地下部乾重、葉SPAD値、葉数、地上部高を測定した。供試実生本数はクマシデが41本、コナラが15本、ミズナラが5本である(表-1)。コナラ、ミズナラに関しては種子の発芽率が低く、発芽種子数が供試土壌数の41に達しなかったため、クマシデと同じ土壌を用いて宿主樹種による感染菌種の違いを部分的に検出するのみに留めた。

## III 結果と考察

1. 埋土孢子による菌根形成と菌根菌種 クマシデ、コナラ、ミズナラの各樹種の実生菌根形成率を表-1に示す。菌根形成率は3樹種の平均では59%となった。樹種別ではクマシデが63.4%と最も高い形成率を示した一方、コナラ、ミズナラはそれぞれ53.3%、40%とやや低くなる傾向を示した。また、育成期間を通して枯死した実生はクマシデ15本、コナラ7本、ミズナラ2本であり、これらのうち菌根を形成していた実生はミズナラ1本のみであった。マツ科種子を用いた埋土孢子釣り上げ試験では、条件によって菌根形成率は10-94.8%と幅がある(6, 7)。しかし、これらの研究例では菌根形成のない個体でも枯死は少ないことから、特に種子サイズの小さいクマシデ

においては、菌根形成と実生の生存が密接に関連している可能性が考えられる。コナラ、ミズナラについては供試個体数が少ないため、以降の項目ではコナラ及びミズナラはまとめてコナラ属実生として扱うものとする。

全ての樹種から検出された埋土孢子由来の推定菌根菌種を図-1に示す。最も検出された菌根菌種はキツネタケ(*Laccaria laccata*)で、8個体で菌根を形成していた。次いでラシヤタケ属(*Tomentella* sp.)、カレバキツネタケ(*L. vinaceoavellanea*)、ニセシウロ属(*Scleroderma* sp.)などが検出された。また、感染個体数は少ないが、クロトヨタケ(*Inocybe lacera*)が検出された。菌根菌の遷移初期種としてキツネタケ属(*Laccaria*)やアセタケ属(*Inocybe*)は知られており(3, 8)、小さな子実体を形成し、早い繁殖サイクルで孢子を飛ばすことから、本試験地は菌根菌種の観点からみると攪乱直後の条件と似通っている可能性がある。一方で、埋土孢子として既往の研究でよく検出される *Cenococcum*(1, 6, 7)については、本研究ではわずかに検出されたのみだった。*Cenococcum* は菌核の形態で土壌中に存在することが知られているが本試験地においては分布が極めて限られていると考えられる。

表-2に樹種別の埋土孢子由来菌根菌種を示す。クマシデとコナラ属実生では、属レベルにおいても共通するものが *Cenococcum* と *Tomentella* の2属のみで、供試実生数に違いがあるものの宿主樹種によって異なる菌根菌が釣り上がることがわかった。また、1本の実生に複数の菌根菌が検出されたものはクマシデで4本、コナラ属では1本であり、殆どの実生では1本に1種の菌根菌が感染していた。混交林における研究例では、セイヨウシデ(*C. betulus*)の成木は同所に存在する他樹種と同じ菌根菌種を共有することが多い(4)とされているが、実生の初期段階においては共生する菌種が異なる可能性がある。

埋土孢子由来の菌根菌種を植栽木の位置ごとに見ると、植栽位置15ヶ所のうち、9ヶ所でキツネタケ属が見られ、植栽位置とは関係なく、試験区内に様に分布していた。同じ試験区における植栽木と共生する菌根菌群集を調べた例では、キツネタケ属が見られたのは15ヶ所のうち植栽位置が試験区入口付近の互いに隣接する4ヶ所であり、樹種の植栽位置ごとに菌種が分かれる傾向を示していた(II)。また、上記の研究例では植栽木と共生する菌根菌群集を構成する菌類がクマシデ、ミズナラあわせて16属検出された(II)のに対し、同じ試験区で調査した本研究で見られた埋土孢子由来菌根菌は11属でやや減少した。一方で、優占してみられたのはいずれの研究でもキツネタケ属、ラシヤタケ属であった。このことから、植栽木と共生する菌根菌群集と、実生に菌根を形成した埋土孢子由

来の菌根菌群集は比較的似通っており、植栽木に感染している繁殖サイクルの短い菌種の孢子が試験区全体に散布されている可能性が考えられた。

**2. 菌根形成と実生成長との関係** 菌根菌別のクマシデ実生乾燥重量について、キツネタケ属とそれ以外の菌種に分けたものを図-2に示す。未同定及び複数種感染実生は省いた。感染菌種による実生の成長の影響は地上部、地下部ともに見られなかった。また、葉の平均 SPAD 値に関しても菌種間で有意な違いは見られず(キツネタケ属  $26.4 \pm 4.8$ , キツネタケ属以外  $24.7 \pm 3.1$ (平均値±標準偏差)), 葉数, 地上部高についても同様であった。実生を用いた埋土孢子釣り上げ試験はマツ科など、限られた樹種で行われることが多い。本研究は広葉樹実生に形成する菌根について調査したが、菌根菌種の違いによる実生の成長促進効果の違いは明らかにならなかった。釣り上げ試験に用いる容器の大きさによる感染域の制限の他、菌種以外の環境要因の違いが影響している可能性が考えられる。

**IV まとめ**

ヒノキ人工林伐採後の広葉樹植栽地においては、埋土孢子による菌根形成はある程度可能であり、菌根を形成しない実生の生存は難しいことがわかった。また、埋土孢子由来菌根菌群集は、遷移初期種が多く調査地に様に分布している傾向があることがわかった、さらに、感染菌根菌種と実生の成長量に関連はみられないが、菌根形成のない実生は殆ど全てが枯死したことから、本調査地のような場所では菌根形成の可否が実生の生残に影響を及ぼす可能性が考えられる。

**謝辞:** 本研究は JSPS 科研費 15K07486 の助成を受け行った。

表-1. 感染宿主樹種別菌根形成率  
Table 1 Ectomycorrhizal colonization of bioassay experiment using three host species

Host species	No. seedlings	Mycorrhizas	Non-mycorrhiza	rate (%)
<i>C. japonica</i>	41	26	15	63.4
<i>Q. serrata</i>	15	8	7	53.3
<i>Q. crispula</i>	5	2	3	40
total	61	36	25	59

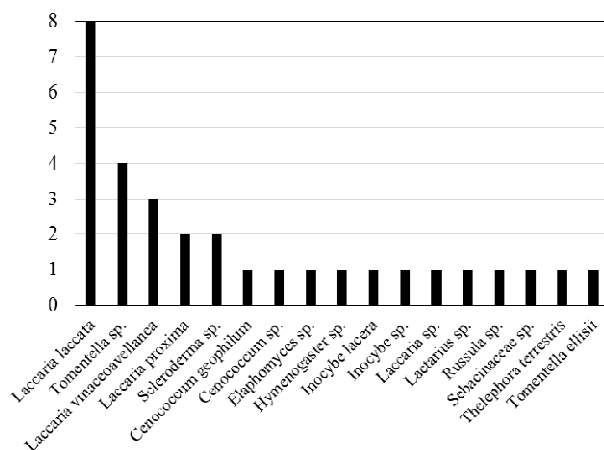


図-1. 埋土孢子由来の推定菌根菌種

Fig. 1 Ectomycorrhizal fungal species detected from soil propagule banks

表-2. 感染宿主樹種別推定菌根菌(属レベル)

Table 2 Ectomycorrhizal fungal genera detected by bioassay experiment using different host species

Host species	ECM fungal species	
<i>C. japonica</i>	<i>Laccaria</i>	11
	<i>Laccaria / Tomentella</i>	2
	<i>Inocybe</i>	2
	<i>Cenococcum / Laccaria / Tomentella</i>	1
	<i>Hymenogaster</i>	1
	<i>Scleroderma / Tomentella</i>	1
	<i>Scleroderma</i>	1
	<i>Tomentella</i>	1
	<i>Thelephora</i>	1
	unidentified	5
<i>Quercus</i> spp.	<i>Lactarius / Tomentella</i>	1
	<i>Cenococcum</i>	1
	<i>Elaphomyces</i>	1
	<i>Russula</i>	1
	<i>Sebacinaceae</i>	1
	unidentified	5

複数菌種に感染した実生については属名を併記した

## 引用文献

(1) HUANG, J., NARA, K., ZONG, K., LIAN, C.L. (2015) Soil propagule banks of ectomycorrhizal fungi along forest development stages after mining. *Microb. Ecol.* **69**(4): 768-777  
 (2) ISHIDA, T.A., NARA, K., HOGETSU, T. (2007) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. *New Phytol.* **174**: 430-440

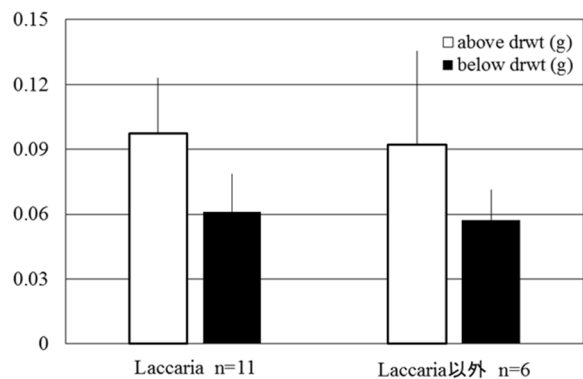


図-2. 菌根菌別のクマシデ実生乾燥重量  
平均値±標準誤差 □地上部乾重 ■地下部乾重

Fig. 2 Seedling dry weight of *C. japonica*

(3) ISHIDA, T.A., NARA, K. TANAKA, M., KINOSHITA, A., HOGETSU, T. (2008) Germination and infectivity of ectomycorrhizal fungal spores in relation to their ecological traits during primary succession. *New Phytol.* **180**: 491-500  
 (4) LANG, C., SEVEN, J., POLLE, A. (2011) Host preferences and differential contributions of deciduous tree species shape mycorrhizal species richness in a mixed Central European forest. *Mycorrhiza* **21**: 297-308  
 (5) MATSUDA, Y., TAKANO, Y., SHIMADA, M., YAMANAKA, T., ITO, S. (2013) Distribution of ectomycorrhizal fungi in a *Chamaecyparis obtusa* stand at different distances from a mature *Quercus serrata* tree. *Mycoscience* **54**(4): 260-264  
 (6) MURATA, M., NAGATA, Y., NARA, K. (2017) Soil spore banks of ectomycorrhizal fungi in endangered Japanese Douglas-fir forests. *Ecol. Res.* **32**: 469-479  
 (7) 村田政穂・奈良一秀 (2017) 絶滅危惧種トガサワラの優占林分における土壌深度別の外生菌根菌群集. *日林誌* **99**: 195-201  
 (8) NARA, K. (2015) The role of ectomycorrhizal networks in seedling establishment and primary succession. *Mycorrhizal Networks* (HORTON, T.R., ed.) pp.177-201. Springer, Dordrecht, the Netherlands  
 (9) 清和研二 (2013) スギ人工林における種多様性回復の階梯—境界効果と間伐効果の組み合わせから効果的な施業方法を考える—. *日本生態学会誌* **63**: 251-260  
 (10) SMITH, S. E., READ, D.J. (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, 3<sup>rd</sup> edn. Academic Press, London, UK  
 (11) 田中恵 (2017) 人工林群状伐採地に植栽された広葉樹の地下部微生物群集. *関東森林研究* **68**(1): 5-8