

## カラマツ人工林内の実生定着における外生菌根菌の影響

Effect of ectomycorrhizal fungi on seedling establishment in *Larix kaempferi* plantation石川陽<sup>\*1</sup> ・ 上原巖<sup>\*2</sup> ・ 田中恵<sup>\*2</sup>Akira ISHIKAWA<sup>\*1</sup>, Iwao UEHARA<sup>\*2</sup>, Megumi TANAKA<sup>\*2</sup>

\* 1 東京農業大学大学院 農学研究科 林学専攻

Department of Forest Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

\* 2 東京農業大学 地域環境科学部 森林総合科学科

Department of Forest Science, Faculty of Regional Environment Science, Tokyo University of Agriculture

**要旨**：造林樹種であるカラマツは外生菌根菌と共生関係をもつが、その人工林において外生菌根菌について研究した例は少ない。外生菌根菌の感染は実生の成長や養分吸収を向上させ、実生定着において重要な役割をもつことが報告されていることから、カラマツ人工林内の外生菌根菌群集を把握することは、実生の定着様式を明らかにする上で重要であると考えられる。本研究は、東京農業大学奥多摩演習林内のカラマツ人工林において、播種によって更新したカラマツ実生の外生菌根菌群集の調査を行った。その結果、採取実生 60 個体すべてで外生菌根の形成が確認された。また、実生の乾重量と菌根数の間に正の相関がみられ、菌根数が多い個体では実生の成長が良好な傾向にあったことから、カラマツ実生の初期の生育に外生菌根菌の感染が正の影響をもたらしていることが示唆された。DNA 解析による種推定を行ったところ、8 属 31 種の外生菌根菌が検出され、特にラシヤタケ属やロウタケ属が高頻度で出現した。また、カラマツ属に特異性の高いヌメリイグチ属の菌根菌種の感染も確認された。以上の結果から、人工林においても特異性の高い菌種がカラマツ実生に感染することが認められ、カラマツ実生の生育に外生菌根菌の感染が関与していることが示唆された。

**キーワード**：外生菌根菌，実生，ラシヤタケ属，ロウタケ属

**Abstract** : Japanese larch (*Larix kaempferi*) is one of the major plantation tree species in Japan. Japanese larch is dependent on ectomycorrhizal (ECM) fungi which facilitate both nutrient and water uptake, and enhance stress tolerance. However, a little have been known about ECM fungi in planted Japanese larch forest. We investigated the ECM fungal community and growth of seedlings in planted larch forest. ECM fungi colonized all sampled seedlings. In addition, there was a positive relationship between number of ECM root tips and seedling dry weight. 31 molecular operational taxonomic units (MOTUs) of ECM fungi were identified by sequencing ITS regions using from extracted mycorrhizal root tip DNA. The dominant genera were *Tomentella* and *Sebacina* at larch seedlings. In addition, the species of *Suillus* highly specific to *Larix* spp. detected in seedling. These results suggested that the larch seedling growth and ECM fungal symbiosis is related.

**Key-word** : ectomycorrhizas, Japanese larch, *Tomentella*, *Sebacina*, seedling

## I はじめに

カラマツ(*Larix kaempferi*)は、浅根性で根付が良く成長も早いから、ヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)やスギ(*Cryptomeria japonica*)と並び、日本の人工林における主要な造林樹種の一つである。寒さへの耐性が高く、乾燥地にも生育可能な生理特性から、北海道や長野県、岩手県などで積極的に造林されてきた。カラマツ材は国産材生産量がスギについて二番目に多く(13)、近年の木材

加工技術の発達により、合板や集成材へのカラマツ材の利用も進んでいることから、今後も主要造林樹種として利用されると考えられる。戦後植林されたカラマツは収穫適期を迎え、伐採後の再造林の手法としてカラマツの天然更新を利用した方法が北海道を中心に試みられている(6, 7)。

カラマツは外生菌根菌と共生関係を持つ。外生菌根菌は宿主樹木の養水分吸収を促進し、様々なストレスへの

耐性を向上させることが知られており(15), カラマツについても外生菌根菌の感染により, 成長量や養分吸収量が増加することがわかっている(5)。また, 感染源となる外生菌根性の樹木が存在しない場所ではカラマツが定着しないことも報告されており(10), 実生の定着に外生菌根菌の感染が関与していることが考えられる。しかし, カラマツ人工林において, 外生菌根菌について調べた例は乏しい。

本研究では, カラマツ人工林において播種後 2 年目のカラマツ実生を採取し, 感染している外生菌根菌群集を調べた。加えて, 実生の成長量と感染菌種数および種組成との関係を調べ, カラマツ人工林内に存在する外生菌根菌が実生の生育に寄与しているのかを明らかにすることを目的とした。

## II 材料と方法

**1. 調査地および実生の採取** 東京都西多摩郡に位置する東京農業大学奥多摩演習林内(N35°49'01.7", E139°04'44.9")にある, 43 年生のカラマツ人工林で調査を行った。このカラマツ林内に 20m×20m の調査区を 2 箇所設置した。調査区は標高 1035~1062m に位置し, 土壌型は適潤性褐色森林土(Bn)である。調査区内のカラマツ成木の平均 DBH は 22.4cm(13.7-33.9cm)であった。この調査区は 2014 年に間伐および低木層の樹木の除伐を行い, 中央の 10m×10m の範囲にカラマツ種子を播種した。本調査では, この播種されたカラマツ 2 年生実生を対象とした。調査区内に存在したすべてのカラマツ実生を根系全体が含まれるように採取し, 実生は水道水で土を洗い落とした後に, 実体顕微鏡を用いて菌根数をカウントした。加えて, 菌根の形態分類を行い, 形態タイプごとに 1~3 の菌根サンプルを採取した。採取した菌根は乾燥させ, DNA 解析まで-30°Cで冷凍保存した。菌根を採取した実生は, 60°Cで 48 時間以上乾燥させ, 絶乾重量を測定した。

**2. DNA 解析** 菌根サンプルは, 各形態タイプから 1 サンプルの DNA 抽出を行い, ITS 領域(ITS5-LBW)についてシーケンシングを行った。得られた塩基配列は, ATGC ver. 7 (Genetyx Corp, Tokyo, Japan)を使用し, 相同性が 97%以上の配列を同種(MOTU: molecular operational taxonomic unit)として定義し, クラスタリングを行った。その後, 塩基数が 400 以上のクラスターを, DNA Data Bank of Japan (DDBJ)の BLAST 検索を用いて種および属の推定を行った。

**3. 統計解析** 漸近種数の推定は Chao2 の推定式を使用し, EstimateS ver. 8.2(2)で 1000 回の再試行を行い

推定した。菌根タイプ数および種組成による実生乾重量への影響は Kruskal-Wallis 検定を行った。

## III 結果と考察

**1. 出現した外生菌根菌** 2 箇所の調査区から合わせて 60 個体のカラマツ実生を採取し, すべての個体で外生菌根の形成を確認した。得られた 165 菌根サンプルについて DNA 解析を行った結果, 121 の塩基配列が得られ, 8 属 31 種が検出された(表-1)。また, Chao2 による推定種数は 53.3 種であった。なかでも, ロウタケ属(*Sebacina*)とラシャタケ属(*Tomentella*)が, それぞれ 14 種, 7 種観察され, 総出現種の 7 割近くを占めた。また, 属レベルでの出現頻度でも, ロウタケ属は 23 個体, ラシャタケ属は 27 個体の実生から検出され, この 2 属が本調査地の優占種であった。

ロウタケ属やラシャタケ属は宿主範囲が広く, 広葉樹, 針葉樹問わず菌根を形成することが確認されている(4)。カラマツ属樹種の外生菌根菌群集を調査した例でも, 森林限界の成木においてこの 2 属が優占することが報告されている(12)。本研究で検出されたヌメリイグチ属(*Suillus*)の 3 種は, カラマツ林で特異的に子実体が発生することが知られている(14)。調査地内でもハナイグチの子実体の発生が確認されており, 孢子や周囲のカラマツ成木の根外菌糸から実生に感染したと考えられる。

表-1. 出現した外生菌根菌種  
Table 1. Detected ECM fungal species

MOTUs	
<i>Inocybe grammata</i>	<i>Sebacina</i> sp.8
<i>Inocybe</i> sp.1	<i>Sebacina</i> sp.9
<i>Inocybe</i> sp.2	<i>Sebacina</i> sp.10
<i>Laccaria</i> sp.	<i>Suillus grevillei</i>
<i>Russula violeipes</i>	<i>Suillus laricinus</i>
<i>Sebacina dimitica</i>	<i>Suillus spectabilis</i>
<i>Sebacina epigaea1</i>	<i>Thelephora</i> sp.
<i>Sebacina epigaea2</i>	<i>Tomentella</i> sp.1
<i>Sebacina epigaea3</i>	<i>Tomentella</i> sp.2
<i>Sebacina</i> sp.1	<i>Tomentella</i> sp.3
<i>Sebacina</i> sp.2	<i>Tomentella</i> sp.4
<i>Sebacina</i> sp.3	<i>Tomentella</i> sp.5
<i>Sebacina</i> sp.4	<i>Tomentella sublilacina1</i>
<i>Sebacina</i> sp.5	<i>Tomentella sublilacina2</i>
<i>Sebacina</i> sp.6	<i>Tuber</i> sp.
<i>Sebacina</i> sp.7	
Observed richness	31
Estimate richness (chao2)	53.3 ± 14.69

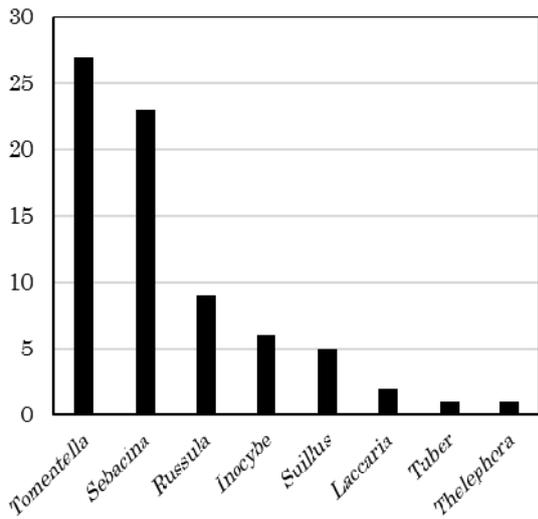


図-1. 属ごとにまとめた外生菌根菌の感染個体数  
Fig. 1 Individual frequency of ECM fungi at the genus level

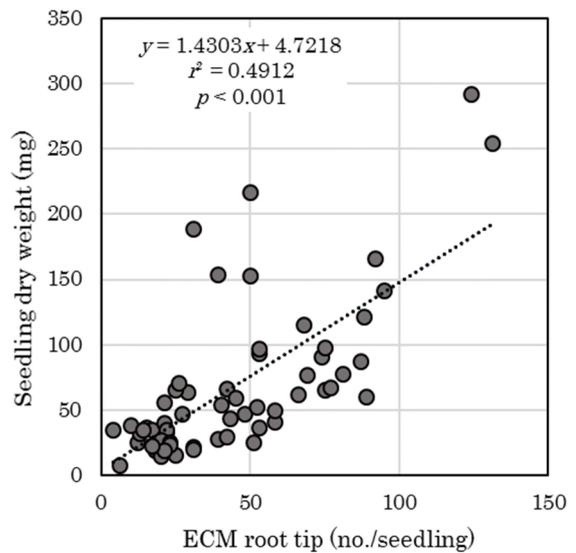


図-2. 実生乾重量と菌根数の関係(n=60)  
Fig. 2 Relation of seedling dry weight and number of ECM root tips

**2. 外生菌根菌による実生の成長への影響** 採取した実生の乾重量の平均は 67.7g(7.9-292.2g)であった。実生乾重量と菌根数との間に強い正の相関が見られ、菌根数の多い個体ほど乾重量が大きい傾向にあった。一次遷移地のカラマツ実生や広葉樹実生においても、菌根数の増加に伴い、成長量や養分吸収量が向上することが報告されており(5, 8), 本研究の結果から、人工林でも同様の傾向が見られることが示された(図-2)。

顕微鏡による形態分類の結果、1 実生あたり 1~4 の形態タイプが観察され、1 タイプが 33 個体、2 タイプが 20 個体、3 タイプが 6 個体、4 タイプが 1 個体であった。本研究では菌根タイプ数による実生乾重量の差は確認されなかったが(図-3)、やや乾重量が大きくなる傾向がみられた。既往の研究例でも、カバノキ属樹木を使用した接種試験においては、感染種数の増加に伴う乾重量の差は観察されなかったが、リンの吸収量が有意に増加することが確認されている(1)。このことから、感染菌種数の増加は実生の養分吸収において有利に働く可能性が考えられるが、本研究では明らかにならなかった。

外生菌根菌の種組成の違いによる乾重量への影響は、3 個体以上の実生で検出されたものについて、属レベルで比較した。外生菌根菌の感染による成長効果は菌種によって異なることが報告されているが(9)、有意な差は認められなかった(図-4)。野外では外生菌根菌の菌種の差に関わらず、他の環境要因が実生の成長を制限する要因となっていることが考えられる。

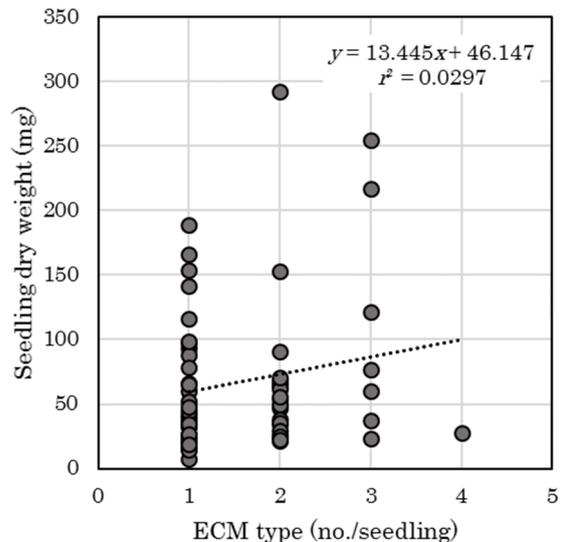


図-3. 実生乾重量と菌根タイプ数の関係(n=60)  
Fig. 3 Relation of seedling dry weight and ECM types

#### IV まとめ

カラマツ人工林内において、カラマツ実生の外生菌根菌群集を調査した結果、ラシヤタケ属、ロウタケ属が優占し、カラマツ属に特異性の高いヌメリイグチ属の菌根菌も検出された。採取したすべての実生で外生菌根の形成が観察され、菌根数と乾重量の間に有意な正の相関が

認められた。しかしながら、共生している外生菌根菌の種組成、種数による実生の成長量の変化は認められなかった。これらの結果から、人工林においても特異性の高い菌根菌種が実生に感染することが確認され、外生菌根菌の感染が実生の生育に関与していることが示唆された。

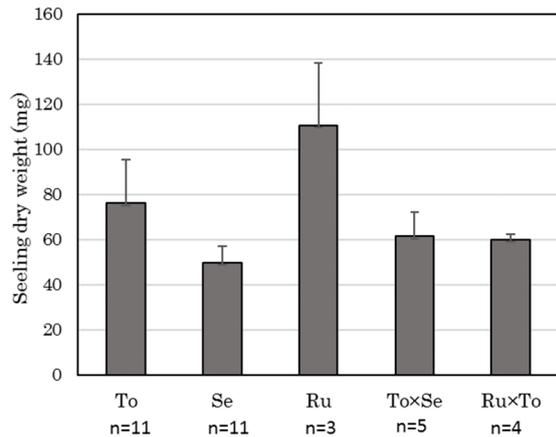


図-4. 実生乾重量と属レベルの感染菌種組成の関係 (バーは標準誤差)

To : ラシヤタケ属, Se : ロウタケ属, Ru : ベニタケ属  
 Fig. 4 Seedling dry weight by ECM fungal species composition, error bars are SE, abbreviations : To, *Tomentella*; Se, *Sebacina*; Ru, *Russula*

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

#### 引用文献

(1) BAXTER, J. W., Dighton, J. (2001) Ectomycorrhizal diversity alters growth and nutrient acquisition of grey birch (*Betula populifolia*) seedlings in host-symbiont culture conditions. *New Phytologist* **152**: 139-149  
 (2) COLWELL, R. K., CHAO, A., GOTELLI, N. J., LIN, S. Y., MAO, C. X., CHAZDON, R. L., LONGINO, J. T. (2012) Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. *J Plant Ecol.* **5**: 3-21  
 (3) ERIK, A. L., THOMAS, B. (2005) Spore dispersal of a resupinate ectomycorrhizal fungus, *Tomentella sublilacina*, via soil food webs. *Mycologia* **94**(4): 762-769  
 (4) ISHIDA, T. A., NARA, K., HOGETSU, T. (2007) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities:

insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forest. *New Phytologist* **174**: 430-440  
 (5) KAYAMA, M., QU, L., KOIKE, T. (2015) Elements and ectomycorrhizal symbiosis affecting the growth of Japanese larch seedlings regenerated on slopes of an active volcano in northern Japan. *Tree* **29**: 1567-1579  
 (6) 中川昌彦 (2014) 過去に報告された道内のカラマツ天然更新地の現状. 北海道林業試験場研究報告. **51**: 13-30  
 (7) 中川昌彦・蓮井聡・津田高明・石濱宣夫・滝谷美香・八坂通泰 (2016) カラマツ天然更新施業が可能な伐開幅の推定. 北海道林業試験場研究報告. **53**: 1-6  
 (8) NARA, K., HOGETSU, T. (2004) Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. *Ecology* **85**(6): 1700-1707  
 (9) NARA, K. (2006a) Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytologist* **169**: 169-178  
 (10) NARA, K. (2006b) Pioneer dwarf willow may facilitate tree succession by providing late colonizers with compatible ectomycorrhizal fungi in primary successional volcanic desert. *New Phytologist* **171**: 187-198  
 (11) OBERWINKLER, F., RIESS, K., BAUER, R., GARNICA, S. (2014) Morphology and molecules : the Sebacinales, a case study. *Mycol. Progress* **13**: 445-470  
 (12) QISHENG, H., JIAN, H., DONGFENG, L., XIAOBING, W., JIANJUN, L. (2017) Diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi associated with *Larix chinensis* across the alpine tree line ecotone of Taibai Mountain. *Mycorrhiza* **27**: 487-497  
 (13) 林野庁 (2016) 林業・林業統計要覧  
 (14) 柴田尚 (2006) 富士亜高山帯針葉樹林における外生菌根菌の群集生態的研究. 山梨県森林総合研究所研究報告 **25**: 13-98  
 (15) SMITH, S. E., READ, D. J. (2008) Mycorrhizal Symbiosis, 3rd edn. Academic Press, London, UK