

異なる菌根性子実体が優占した海岸土壌で育てたクロマツ実生の 初期成長と菌根形成状況

中島寛文（愛知県森林セ，名大院生命農），栗田 悟（愛知県森林セ），
松田陽介（三重大院生資），肘井直樹（名大院生命農）

菌根性子実体相の異なる海岸の土壌を用いてクロマツ実生を育成し，菌根菌を除去した滅菌土壌で育てたクロマツ実生の初期成長量（乾燥重量），菌根形成状況との比較により，菌根菌のクロマツ実生の初期の生育に対する影響を調べた。その結果，子実体相は必ずしも菌根相を反映しているものではなかったが，子実体相と菌根相が一致したショウロは，クロマツ実生の根の乾燥重量を有意に低下させ，TR 比を有意に大きくした。つまり，ショウロは，クロマツ実生に対し，菌根を形成し易い可能性があり，クロマツ実生の根に配分された光合成産物の一部を，他の菌根菌より多く要求する可能性があることが示唆された。

キーワード：クロマツ実生，外生菌根菌，初期成長，菌根形成，ショウロ

I はじめに

海岸クロマツ林は，様々な公益的機能を持つ（3）。しかし，マツ材線虫病の進行に伴い，公益的機能の低下が懸念され，海岸クロマツ林の早期回復が求められている。現在，各地で抵抗性クロマツが植栽され，海岸林の再生が図られているが，活着率の低い汀線付近での，より効果的な再生方法の開発が期待されている。

クロマツは外生菌根菌（以下；菌根菌）と共生することで，養分・水分の吸収効率を促進し，病気や環境ストレスへの耐性を高める（2）。すなわち，菌根菌を有効活用できれば，活着が困難な地域においてもクロマツを健全に育成できるかもしれない。

本研究では，菌根菌がクロマツ実生の生育に与える影響を明らかにするため，菌根菌のショウロ，ヒメコガネツルタケ，ツチグリの子実体が優占した場所の土壌を用いてクロマツを育て，初期成長と菌根の形成状況を調べた。また，菌根の DNA を調べ，子実体として優占した菌根菌が菌根を形成したかどうか調べた。

II 方法

1. 土壌採取地

土壌の採取は，2016年7月に愛知県田原市の海岸クロマツ林で行った。ショウロ，ヒメコガネツルタケ，ツチグリの各子実体発生地直下の表層土壌（以下；ショウロ土壌，ヒメコガネ土壌，ツチグリ土壌）を5kgずつ採取し，供試するまで5℃の冷蔵庫で保存した。

2. クロマツの育成および調査項目

アルミ箔で遮光した50mlの遠沈管の底に穴を開けてから，底に少量の綿を詰め，その上に各土壌を充填

した（遠沈管32本/各土壌）。遠沈管の半数は，菌根菌を除去するためオートクレーブを用いて121℃で60分間滅菌した。全ての遠沈管にクロマツ種子を一粒ずつ播種し，25℃，長日条件（16L8D）に設定した恒温器内で育成した。散水は4,5日に一回の頻度で行った。

30日間育てたクロマツを，葉，茎，根に分け，葉を60℃で48h，茎，根を105℃で48h乾燥させた後，それぞれの乾燥重量（mg）（以下；乾重）を測定し，TR比（=（葉+茎）の乾重/根の乾重）を算出した。

各5個体のクロマツについては側根の一部を無作為に切り取り，その根の全根端を実体顕微鏡下で観察した。菌根の場合は色と形態で大別し，それぞれの数を計数するとともに根長（mm）を測定した。大別した各菌根のDNAを抽出し，ITS領域のPCR増幅後に塩基配列を決定してからBLAST解析で種推定を試みた。

3. データ解析

クロマツの地上部の乾重（葉+茎），地下部の乾重（根），TR比を応答変数，土壌の処理（滅菌・非滅菌）を説明変数にした一般化線形モデル（GLM）を作成し，説明変数の効果を尤度比検定で評価した。応答変数の誤差構造はガンマ分布とし，リンク関数はlogとした。

根端数を応答変数，土壌の処理を説明変数にしたGLMを作成し，尤度比検定により説明変数の効果を評価した。応答変数の誤差構造はポアソン分布とし，リンク関数はlogとした。また，根長の違いによる根端数の増減を考慮するために，offset項として根長をGLMに組み込んだ。

III 結果

NAKASHIMA Hirofumi *, KURITA Satoru, MATSUDA Yosuke, HIJII Naoki

Relationships between mycorrhizal formation and the initial growth of Japanese-black-pine seedlings grown with the *in-situ* soils from which different dominant mycorrhizal fruiting-bodies emerged.

* hirofumi_nakashima@pref.aichi.lg.jp

1. クロマツの初期成長

クロマツの地上部の乾重は、どの土壌においても、処理間で有意差は認められなかった。一方、クロマツの地下部の乾重は、ツチグリ土壌では、滅菌した土壌に比べて非滅菌の土壌で小さい傾向があり ($P = 0.057$)、ショウロ土壌では有意に小さかった ($P < 0.001$) (図-1)。TR 比は、ショウロ土壌でのみ、滅菌した土壌より非滅菌の土壌で有意に高かった ($P < 0.05$) (図-2)。

2. 菌根菌の感染状況

クロマツは、非滅菌の土壌でのみ菌根を形成し、その割合は、全体で 70.4%であった。根端数は、土壌に関わらず、非滅菌の土壌で有意に多かった ($P < 0.001$) (図-3)。DNA 解析により、ショウロ土壌では、クロマツに最も多く菌根を形成していたのがショウロであ

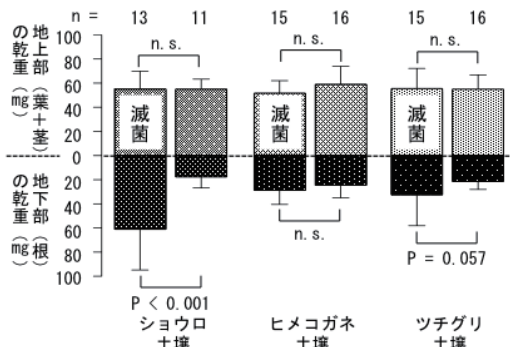


図-1. クロマツ実生の地上部と地下部の乾重
値は供試数の平均値を、エラーバーは標準偏差を示す。また、尤度比検定の結果も同時に示した。

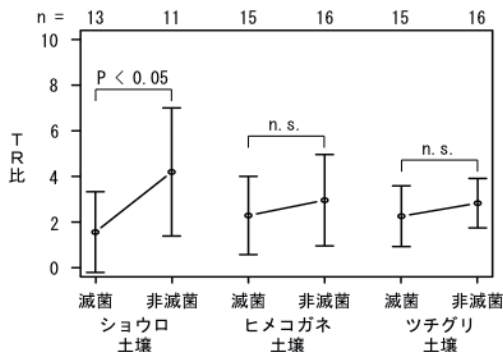


図-2. クロマツ実生の TR 比
値は供試数の平均値を、エラーバーは標準偏差を示す。また、尤度比検定の結果も同時に示した。

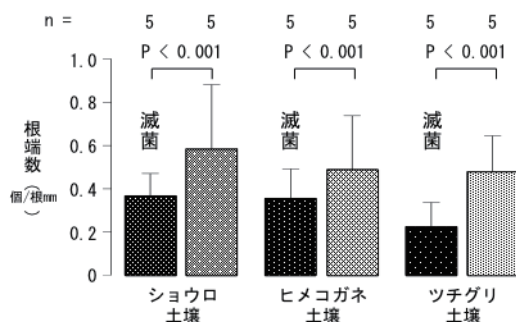


図-3. クロマツ実生の根端数
値は供試数の平均値を、エラーバーは標準偏差を示す。また、尤度比検定の結果も同時に示した。

った (75.4%)。一方、ヒメコガネ土壌では、未同定の菌根菌 1 が 48.9%、ツチグリ土壌では、*Wilcoxina mikolae* が 97.4%と最も多く菌根を形成していた (図-4)。

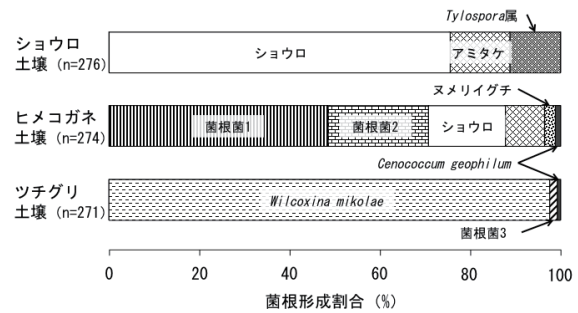


図-4. 菌根菌種ごとの感染割合
値は総菌根数 (供試数) に対する各菌根菌種の菌根数の割合を示す。

IV 考察

海岸の土壌を用いることで、クロマツ実生には菌根が形成された。しかし、採取した土壌で発生していた子実体相は必ずしも菌根相を反映しなかったことから、菌根菌の感染のし易さは種間で異なるのかもしれない。あるいは、ショウロ属菌は地中に埋土胞子として数年以上存続するため (1)、それらを感染源としてショウロも優占して菌根を形成したとも考えられる。ただし、どの菌根菌の感染も根端数を増加させたので、菌根形成は、クロマツ生残率を高めるのに貢献するだろう (4)。

本調査では、地下部の乾重のみ菌根の形成により小さくなる傾向が認められた。このことから、根に配分された光合成産物が菌根菌へと分配されることが示唆された。また、ショウロ土壌でのみ根の乾重が有意に小さく、TR 比が有意に高かったことから、ショウロは他の菌根菌より多くの光合成産物を要求する種である可能性が示唆された。

今後は、これらの海岸土壌を用いて菌根感染苗を作成し、海岸地域に植栽した際の生育過程を調査することで、有効な菌根菌を探索していく必要があるだろう。

引用文献

- (1) Bruns TD, Peay KG, Boynton PJ, Grubisha LC, Hynson NA, Nguyen NH, Rosenstock NP (2009) Inoculum potential of *Rhizopogon* spores increases with time over the first 4 yr of a 99-yr spore burial experiment. *New Phytol* 181: 463–470
- (2) van der Heijden MGA, Martin FM, Selosse MA, Sanders IR (2015) Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytol* 205: 1406–1423
- (3) 村井 宏 (1997) 日本の海岸林-多面的な環境機能とその活用-. 513pp, ソフトサイエンス社, 東京
- (4) Nakashima H, Eguchi N, Uesugi T, Yamashita N, Matsuda Y (2016) Effect of ectomycorrhizal composition on survival and growth of *Pinus thunbergii* seedlings varying in resistance to the pine wilt nematode. *Trees* 30: 475–481