

資料

コナラ苗木へのヒメカタショウロ菌根感染方法の検討

藤堂千景

Chikage TODO

Study on formation of ectomycorrhiza of *Sclerodema areolatum* on *Quercus serrata*

I はじめに

山火事跡地や林道残土場、治山工事現場といった乾燥や貧栄養が懸念される場所に植栽を行う場合、苗木の枯れを防ぐため、あらかじめ土壌改良のための資材を投入することが多くみられる。土壌改良を行うには資材にかかるコストや労務の面で負担になるため、土壌改良を最小限に抑えても生育するような苗木が望まれている。そこで、乾燥耐性が高く、貧栄養でも初期成長が良い苗木を生産するために、樹木に水分や無機栄養分を供給し(1)、成長を促進する(2)菌根菌を利用することが検討されている。治山工事等で植栽される樹木のうち、マツ科やブナ科には、きのこの一種である外生菌根菌が共生しており(3)、苗木導入時の外生菌根菌の利用が期待される。しかし、外生菌根菌を使用した苗木生産等の試験は取り組まれているものの(3)、菌根菌の培養にコストや手間がかかることから、実用化されているのは、樹木医による治療など数例にとどまっている。特に、近年、植栽に多く使われるようになってきたブナ科樹種への適用は、研究段階では多くみられるものの、公共事業で植栽されるようになった歴史が比較的浅いことから実用化されている例は極めて少ない。

したがって、この研究では、県内の治山、造林事業で広く使われ、県の広葉樹林の主要構成要素(4)であり植栽本数も多いコナラ *Quercus serrata* を対象とした。また、感染させる外生菌根菌としては、乾燥地や貧栄養地でもよく見られ、ブナ科樹種と菌根を作るヒメカタショウロ *Sclerodema areolatum* を選び、事業化可能な簡便な樹木への外生菌根の感染方法として、孢子播種と苗木から苗木への感染による感染苗木の増殖方法について検討した。また、成長促進効果が現れる感染の程度についても併せて検討した。

II 試験地と試験方法

1. 供試材料

試験に用いたコナラ堅果は、兵庫県瀬戸内海地域の母樹から秋に採取した。採取した堅果は、湿らせたオガクズとともにビニール袋に入れ、冷蔵庫(5℃)内で保存し、試験に使用した。

下記の2. 方法 1) 孢子感染の接種試験に用いたヒメカタショウロ孢子実体は、兵庫県加東市で6月に採取した。採取した子実体はビニール袋に入れて冷蔵庫内に保管し、試験に使用した。

2. 方法

1) 孢子感染

ヒメカタショウロ孢子実体 150g に蒸留水 300ml を加え、ミキサーで破碎して孢子懸濁液を作製した。

コナラ堅果は、中性洗剤と消毒用エタノールで洗浄して滅菌蒸留水で十分水洗した。300ml ビーカーに蒸留水で十分湿らせた赤玉土を半分ほど入れ、120℃60 分で高圧滅菌し、室温になるまで冷却した後、ビーカー内の赤玉土上に先ほどの滅菌したコナラ堅果を一粒播種した。播種したコナラ堅果上に孢子懸濁液を 10ml ずつ加え、アルミホイルでふたをし、23℃のライト付きインキュベータ(NKsystem 温度勾配恒温器)内で培養を行った。コナラ堅果の供試数は 30 個である。

2) 感染苗木からの感染

感染苗木から実生苗木への感染が可能であることを確認するために、育苗箱(35×45cm)に孢子感染試験時と同様に滅菌した赤玉土を 5cm の深さに敷き詰め、蒸留水で



図1 育苗箱試験(播種間隔10cm 中心は感染苗木)

洗浄したコナラ堅果を 10cm 間隔に播種した(以下、育苗箱試験 図 1)。播種時期は 6 月である。育苗箱 1 箱あたりのコナラ堅果の播種数は 14 粒であり、2 回の繰り返しを行った。育苗箱の中心には 1) の試験で育成した感染苗木(1 年生)を埋め込み、雨がつかからないコンクリート製ベランダに置き栽培した。9 カ月後の 3 月にコナラ苗木を掘り取り、苗高及び地際直径を測定し、目視にて菌根の有無と菌根化の程度を確認した。調査は苗木および菌の成長が休止する落葉期に行った。菌根化の程度は目視で確認できる細根の根端数の内、菌根化している根端の割合から 3 段階に分けた(表 1)。

また、1 本の感染苗木からの感染可能な範囲を把握するために、プラスチック製の衣装ケース(50×100cm)の底に水抜き穴を開け大きな育苗箱としたもの(以下、大育苗箱)に、滅菌した赤玉土を 10cm の深さに敷き詰めた。大育苗箱の隅には、1) で育成した感染苗木(1 年生)を 1 本埋め込み、洗浄したコナラ堅果を 15cm と 20cm 間隔で播種した(以下、大育苗箱試験 図 2)。播種した時期は 6 月である。大育苗箱は育苗箱と同様に栽培し、播種 6 カ月後の 12 月にコナラ苗木を掘り取り、育苗箱による感染試験と同様に調査を行った。大育苗箱 1 箱あたりに播種した数は、15cm 間隔で播種したものは 14 粒、20cm 間隔で播種したものは 11 粒である。試験は各間隔とも繰り返しは 1 回であった。調査は苗木および菌の成長が休止する落葉期に掘り取って行った。掘取った苗木の一部は、地上部と地下部に切り分け、地上部は光合成器官(葉や芽)と非光合成器官(幹、枝)、地下部は細根(根径 2mm 未満)と根(根径 2mm 以上および主根)に分類したのち、60℃の熱風乾燥機にて 48 時間乾燥し、乾重量を測定した。供試個体は感染苗木として菌根化レベル 3 のものと、未感染苗木として菌根化レベル 1 のものを選択し、それぞれ 4 個体ずつ供試した。

表 1 菌根化レベル

菌根化レベル	基準
1	根端に菌根は見られない
2	根端の 1/2 未満が菌根化
3	根端の 1/2 以上が菌根化

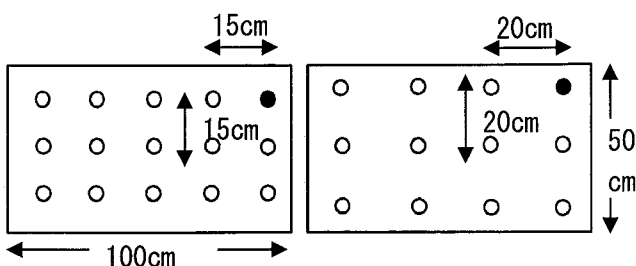


図 2 大育苗箱試験の播種間隔の模式図

●コナラ感染苗木 ○コナラ堅果

育苗箱および大育苗箱の底部は土に直接接触しないようにし、底部から他の菌根菌が侵入する可能性を減じた。試験に使用したコナラ堅果の重量はほぼ統一した。

3) 苗畑での感染

苗木の大量生産を検討するため、苗畑での感染試験を行った。

まず、苗畑に堅果を直接播種する際の感染試験(以後、苗畑播種試験)として、苗畑に幅 30cm の畝を設定し、コナラの堅果を 3 列に播種した。中央列には所々に感染源とするコナラの 2 年生感染苗木を配置した。2) の育苗箱試験の結果を踏まえ、堅果間および堅果と感染苗木間はおおよそ 10cm とした。感染苗木間の距離は、2) の育苗箱試験よりも植栽時期が早いいため菌糸や根系のさらなる伸長が期待できると考え 60cm とした(図 3)。播種数は 125 粒である。

また、床替えした 1 年生苗木への感染を検討するため、1 年生苗木への感染試験(以下、苗畑苗木試験)を行った。苗畑に幅 40cm の畝を設定し、菌根菌に感染させていないコナラの 1 年生苗木(以下、1 年生苗木とする)を 3 列に植栽した。中央列には感染源とするコナラの 2 年生感染苗木を等間隔で配置し、1 年生苗木間および 1 年生苗木と感染苗木間は、2) の大育苗箱試験の結果を踏まえ、おおよそ 15cm とし、感染苗木間の距離は苗畑播種試験によって得られた感染苗木 1 本あたりの感染距離を考慮に入れて 75cm とした(図 3)。1 年生苗木のサイズは、平均苗高 42.9cm、平均地際径 3.98mm、供試個体数は 118 個体であった。

いずれの試験も播種、植栽時期は 3 月である。また、試験に使用した苗畑の畝は、他の菌根菌の影響を極力排除するため、数年間はブナ科樹種の栽培の履歴がない場所を選定した。

苗畑から掘取った苗木は、目視にて菌根化レベルを調査した(表 1)。加えて苗木感染試験のものは、苗高と地際径を測定した。調査は苗木および菌の成長が休止する落葉期に行った。

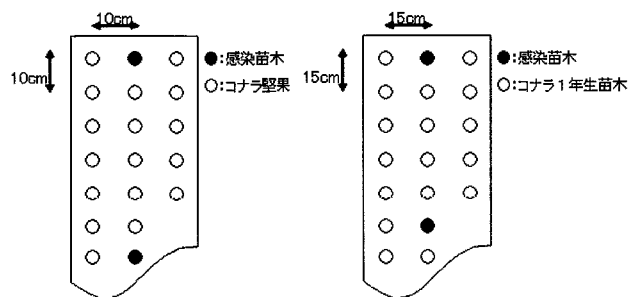


図 3 苗畑試験の植栽配置の模式図

(左: 苗畑播種試験 右: 苗畑苗木試験)

Ⅲ 結果と考察

1. 感染方法の検討

1) 孢子感染

孢子懸濁液を散布したコナラ堅果 30 個体は、すべて発根し、3 カ月後にはすべてのコナラ実生個体にヒメカタショウロ菌根が形成された (図 4)。このことから、ヒメカタショウロは孢子播種により容易に菌根を形成することがわかった。

2) 感染苗木を使った感染方法の検討

育苗箱試験では、播種後 9 カ月で育苗箱内の苗木がすべてヒメカタショウロに感染し、うち 93% の苗木が、細根の根端の 50% 以上が菌根化している菌根化レベル 3 であった (図 5)。また、育苗箱内ではヒメカタショウロの子実体も確認できた (図 6)。大育苗箱試験では、播種間隔 15cm のものは大育苗箱内全ての個体がヒメカタショウロに感染したが、播種間隔 20cm では、64% (7 個体) が感染し、36% (4 個体) は感染しなかった (図 5)。育苗箱試験と比較して感染率が低い原因としては、大育苗箱試験の方が感染苗木からの距離が大きい種子が存在したこと、播種間隔が広いこと、および試験期間が育苗箱試験に比べて短く、菌糸や根系の伸びが異なる可能性が示唆された。

大育苗箱試験での播種後 6 カ月後の感染源からの距離と菌根化レベルをみると、15cm のものは、感染源からの距離が 45cm 未満で菌根化レベルが 3 であったのに対し、45cm 以上のものは、菌根化レベルが 2 になる傾向があった。また、播種間隔が 20cm のものは、感染源からの距離が 45cm 未満で菌根化レベルが 2、3 のものが多く、感染源から 55cm 以上離れた個体は感染していなかった (図 7)。感染源からの距離に近いほど、菌根形成が多いという結果は、フタバガキのポット苗を感染させた事例でも確認されており (5)、今回のコナラの傾向と同様であった。また、播種間隔が広くなると、菌根感染可能な範囲が狭くなることが示唆された。

2. 菌根化が苗木の成長に及ぼす影響

菌根化レベルが苗木の成長に及ぼす影響を検討した。

育苗箱試験および大育苗箱試験での菌根化レベルと苗木の成長の関係を見ると、菌根化レベル 3 では菌根化レベル 1、2 に比べ、育苗箱試験での地際径、大育苗箱試験での地際径と苗高は有意な差がみられ、これらの成長が良好になることがわかった (図 8)。

感染苗木と未感染苗木で、苗木の各器官の乾重分配率の違いを調査したところ、感染の有無で T-R 比 (地上部と地下部の乾重割合) に違いはなかったが、感染苗木では地下部の細根の比率が高くなる傾向が見られた。また、根



図 4 ヒメカタショウロに感染したコナラ実生苗

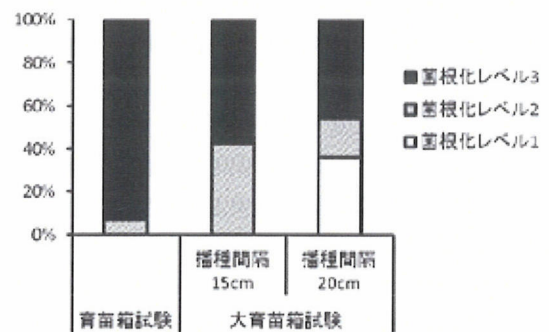


図 5 育苗箱・大育苗箱試験による菌根化レベルの違い



図 6 育苗箱試験で発生したヒメカタショウロ子実体

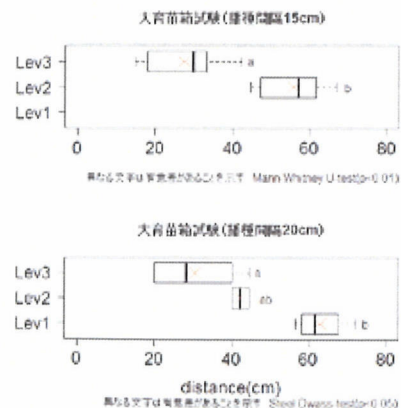


図 7 大育苗箱試験の感染源からの距離と菌根化レベル箱は第 1 四分位点 (左端) と第 3 四分位点 (右端) を、ヒゲは最小値と最大値を、真中のバーは中央値、× は平均値を示す

径 2mm 以上の根量は感染の有無で違いはないが、2mm 未満の細根量は感染苗木の方が未感染のものより有意に多くなった(t-test $p < 0.05$ 表 2、図 9)。このことは、菌根菌に感染することにより細根が増加し、水や土中の養分の吸収が高まる可能性が示唆しており、水や養分の吸収の増加は、感染苗木の成長に寄与していると考えられた。

以上のことから、感染苗木を育成する際におおむね根端の 1/2 以上を菌根化することができれば、成長が良好な苗木を生産可能なことが示唆された。

3. 苗畑での菌根感染苗木の大量生産

苗畑播種試験では、播種数 125 粒に対して、発芽成長したのは 96 個体であり、うち 93% がヒメカタショウロ菌根を形成していた。また、感染個体からの距離と感染率には大きな差異は見られなかった。これらのことから、苗畑での直接播種による菌根菌感染は、堅果間の距離は 10cm 間隔、感染苗木は 60cm 間隔で植栽し 1 年間栽培することで、苗畑に播種した堅果から発生した実生の 90% 以上の感染が可能であることが示唆された。

苗畑苗木試験では、苗畑の 2 年生苗木のうち 98% がヒメカタショウロ菌根を形成していた。菌根化レベルの内訳は、菌根化レベル 3 の個体が 88% であった(図 10)。これらのことから、苗畑での 2 年生苗木の菌根菌感染は、苗木間の距離は 15cm 間隔、感染苗木は 75cm 間隔で植栽し、1 年間栽培することでほとんどの個体に対して根端の半分以上に菌根を形成させることが可能であることが示唆された。

次に苗畑苗木試験での苗木の成長と菌根化レベルの関係を検証した。植栽前の 1 年生苗木の苗高、地際径はほぼ同じであったため、2 年生苗木の苗高、地際径を成長の指標とした。但し、菌根化レベル 1 のものは個体数が 1 本であったため解析から除外し、レベル 2、3 のもので検討した。2 年生苗木の苗高は菌根化レベル 3 になると、レベル 2 に比べ有意に高くなった(t-test $p < 0.05$ 図 11)。地際径は、苗高と同様の傾向が見られたものの、有意差はみられなかった(図 11)。これらのことから、根端の 1/2 以上の菌根化が成長に寄与する傾向は、育苗箱での播種試験等と同様であり、実生苗木だけでなく 1 年生苗木に感染させても同様の傾向があることが分かった。

4. 現場導入

菌根感染苗木は細根の量が未感染のものに比べ増大することから、水分や無機栄養分の吸収が良好になると考えられるため、現場導入の際の活着や成長が良好になると期待できる。感染苗木を導入することで、通常の苗木との差別化を図ることができる現場としては、前述の山

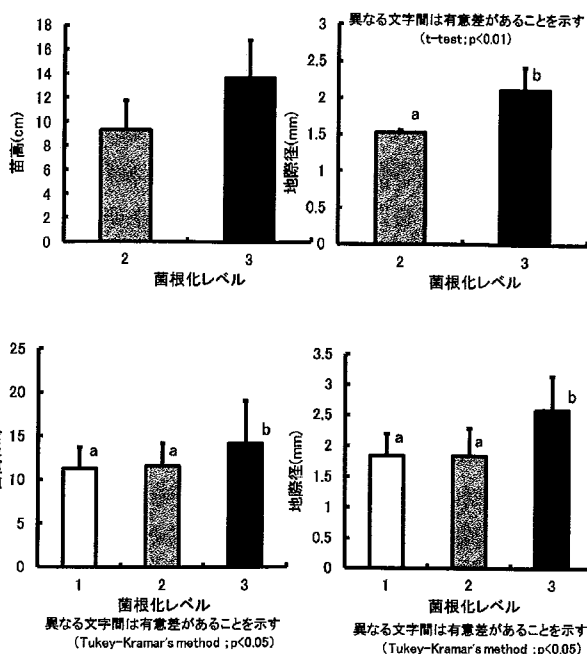


図 8 菌根化レベルと苗高、地際径の関係
(上：育苗箱試験、下：大育苗箱試験)

表 2 感染苗木、未感染苗木の器官重量

	地下部(g)		地上部(g)	
	根	細根*	非光合成器官	光合成器官
未感染苗木	1.63	0.17	0.31	0.09
感染苗木	1.43	0.43	0.30	0.13

* $p < 0.05$ (t-test)

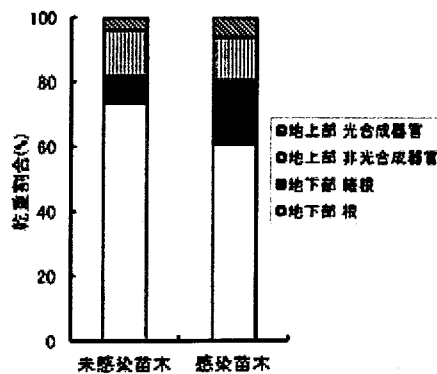


図 9 菌根感染による器官乾重割合の違い

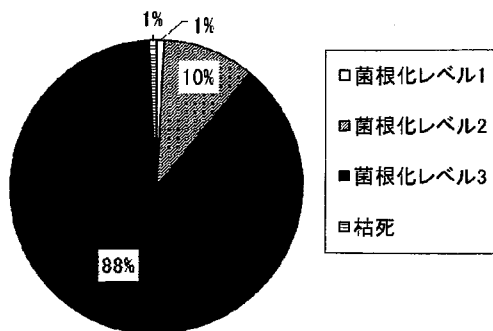


図 10 苗畑苗木試験での菌根化レベルの内訳

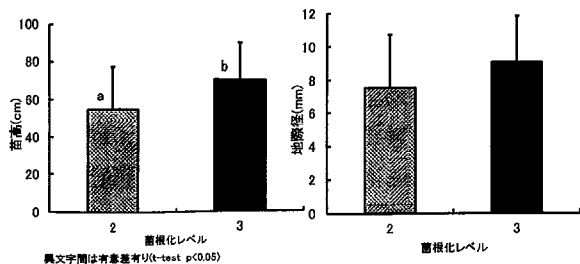


図 11 苗畑苗木試験での菌根化レベルと苗高、地際径の関係

火事跡地や治山工事地に加えて、針葉樹林人工林を伐採して広葉樹を植栽する現場が考えられる。スギやヒノキの針葉樹は外生菌根菌と共生しないため、針葉樹林の林床には外生菌根菌が少ないことがわかっている(6)。針葉樹林を伐採してコナラやアベマキのようなブナ科広葉樹を導入する場合、共生できる外生菌根菌が少ないため植栽後の菌根合成が十分行われず、苗木の活着不良や初期成長不良となる可能性が考えられる。したがって植栽時から菌根菌の感染苗木を導入することで、苗木の活着、成長を促進させることが期待できる。しかし、石灰質土壌等の土質によって、優占する菌根菌が異なる可能性(7)や、現場に導入した後に、接種した菌根菌が消失する事例(8)など、現場導入をするにあたって検討すべき問題が存在している。したがって、今後は感染苗木を現場に導入して追跡調査を行う必要があるだろう。

摘要

(1) ヒメカタショウロの胞子懸濁液を加えてコナラ堅果をインキュベータ内で培養したところ、播種後3カ月にすべての個体でヒメカタショウロの菌根を形成した。

(2) 感染苗木からの感染も容易であり、2年生の感染苗木1本で、育苗箱(35×45cm)全体の感染が可能になった。

(3) 菌根化レベル3の苗木は菌根化レベル1、2に比べ、苗高成長、地際径成長が良好となることが分かった

(4) 苗畑による感染試験でも、感染苗木を得ることができ、育苗箱試験と同様、菌根化レベル3で成長が良好になる傾向があった。

謝辞

本試験の一部は、兵庫県治山課の行政依頼試験にて実施しました。この場を借りて深く御礼申し上げます。

引用文献

- (1) M.F. アレン(1995)菌根の生態学. 共立出版, 東京. pp208.
- (2) Valdes M. (1986) Survival and growth of pines with specific ectomycorrhizae after 3 years on a highly eroded site. Canadian Journal of Botany, 64(4): 885-888
- (3) 岡部宏秋(1997)森づくりと菌根菌. わかりやすい林業研究解説シリーズ No. 105. 110 pp. 林業科学技術振興所, 東京.
- (4) 兵庫県農林水産部農林水産局林務課(2007)安全・安心な広葉樹種苗による造林事業の展開-郷土の広葉樹種苗安定供給体制整備検討委員会報告書-. 22pp. 兵庫県, 兵庫
- (5) 曾田良(1997)外生菌根菌を利用したフタバガキ科樹木の育苗方法の開発. 熱帯林再生技術研究成果報告書: 171-195
- (6) 松田陽介(2012)ヒノキ林における外生菌根菌の分布. 広葉樹林化ハンドブック 2012: 18-19.
- (7) 香山雅純・山中高史・青木菜保子(2011)石灰質土壌に植栽されたカシ2種の外生菌根菌の接種効果. 九州森林研究. 64: 46-49.
- (8) 二井一禎・肘井直樹(2000)森林微生物生態学. 322 pp. 朝倉書店, 東京