

ブナ林の立地環境調査（根圏）

ブナ林の菌類相

藤澤示弘 *1、越地正 *1・西村幹雄 *2

1. 目的

神奈川県丹沢山地では、ブナ、モミの立ち枯れが丹沢山、蛭ヶ岳、檜洞丸など標高 1,000m 以上の山頂部や尾根部に多く発生していることが報告されている（越地ら,1996）。また、立ち枯れと共に、ニホンジカ（以降シカと表記）の採食による林床植生の退行も認められている（丹沢大山自然環境総合調査団,1997）。

一方、植物の根系と結合して共生体を形成する菌類を菌根菌と呼び、共生体を菌根と呼んでいる。主に森林を構成する樹木と共生する外生菌根菌（以降菌根菌と表記）は植物から光合成産物を与えられ、植物は菌根菌が土壌から吸収した窒素、リン酸、カリウム、水分を与えられる（今関、1987）ことにより、両者は相利共生関係にある（図1）。

このような重要な役割を持つ菌根菌は、森林の変化により影響を受ける。樹木地上部の衰退と外生菌根菌の変化とは相互に密接な関係があり、酸性雨のような環境ストレスでは菌根の変化が地上部の衰退に先行する（福田,1999）。したがって、丹沢山地における森林衰退や林床植生退行による影響は、菌根にも及んでいると推察される。菌根の生態系内における知見は少ない（橋本、2003）ため、その基礎的知見を得ることは、森林衰退原因の解明並びに保全再生にとり重要と考えられる。しかし、丹沢山地のブナ林に対して従来多くの調査が行われてきたが、外生菌根菌に着目した調査は行われていない。

そこで、本研究においてはブナ林における外生菌根菌相、外生菌根定量調査、遺伝資源収集保存、共生関係バイオアッセイ手法について調査を実施した。各調査のねらいと項目の関係は図2のとおりである。

また、根腐れによると思われるブナの倒木被害が確認され

ため、根腐れ菌に関する調査も併せて行った。

2. 材料と方法

(1) 外生菌根菌相調査

ブナと共生する外生菌根菌とその発生状況を把握するため、丹沢山・檜洞丸・三国山周辺地域における外生菌根性子実体発生調査を実施した。調査の一部は丹沢山・森林保全基礎調査事業調査委託業務にて行った。さらに、外生菌根菌の発生に関する基礎的知見を得るため、丹沢山堂平ブナ林並びに檜洞丸ブナ林内ギャップにおける地中温度を測定した。

(2) 外生菌根調査

ブナ林における外生菌根についての基礎的知見を得るためには、質と量の面からの調査が必要である。しかし、外生菌根の定量手法は未だ確立されておらず、ブナに関しては調査例もほとんど存在しない。そこで、丹沢山堂平ブナ林内に設置された植生保護柵内外の外生菌根調査を行うとともに、ブナ菌根の効率的な定量手法である粉碎法（明間ほか、1999）の検討を行った。

(3) 遺伝資源収集保存

衰退ブナ林の外生菌根菌も同じく衰退していると思われる。そこで、外生菌根菌の遺伝資源保存を目的として、採取記録した子実体のうち状態の良いものについては現地もしくは持ち帰り後に純粋分離を実施した。

(4) 共生関係バイオアッセイ（生物検定）

1) 開放系における外生菌根菌感染ブナ苗の作出

外生菌根菌をブナ林再生に利用するためには、植物生長促進機能を確認する生物検定（バイオアッセイ）が必要



図1. 外生菌根菌と樹木との物質交換の流れ（模式図）

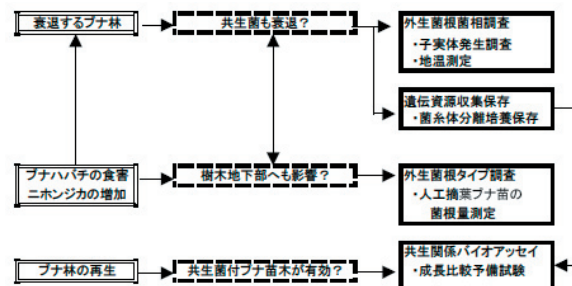


図2. 調査のねらいと調査項目の関係

*1 神奈川県自然環境保全センター研究部

*2 藤沢市湘南台1-21-24-105

である。マツ、モミのような小型種子については表面殺菌法により比較的容易に無菌苗が作出可能だが、ブナなどの大型堅果種子では完全殺菌が困難である。

そこで、ブナと外生菌根との関係解明手法を開発するため、開放系において感染源の混入を防止しつつ、感染苗と非感染苗を同一環境で作出し、作出した感染苗の菌根形成を維持できる育苗手法を検討することを目的として実施した。

ブナ種子を滅菌土壌にて発芽させた実生苗をポリスチレン製 300ml カップへ植え付け、培土兼感染源として処理区としての滅菌土区には菌根菌非感染苗作出のために滅菌処理した苗畑土を用い、対照区としての無滅菌土区には感染苗作出のために無処理苗畑土を供試した。カップ表層部は感染源飛散防止のために滅菌焼成珪藻土で被覆し、試験区毎にカップをアルミトレイへ載せ、灌水時の他区への溢水流入を防止した。7ヶ月間経過後、生存苗木について菌根を形成した苗木本数を実体顕微鏡・光学顕微鏡

で確認した。植え付け9ヶ月経過後、成長休止状態確認後に苗高・根元径・冬芽形成数を計測した。

(2) 摘葉処理したブナ苗木の菌根化率調査

ブナハバチによる食圧がブナ根系に与える影響を検討するために、ワグナーポットに植栽した7年生ブナ苗木新葉を摘葉処理し、当年秋に根系の菌根化率を測定した。

5) ブナ根腐れ菌調査

清川村宮ヶ瀬地内堂平ブナ林において2003年に風倒したブナ倒木の根系に菌糸が蔓延していたことから、当該ブナは以前から菌の影響を受けており、最終的には根系の腐朽により風倒した可能性が指摘された(写真1,2)。そこで、根腐れ菌の現地調査並びにブナに対する病原性検定を実施するとともに風倒木の年輪を採取して成長解析を試み、ブナ枯損との関係を検討した。

3. 結果と考察

(1) 外生菌根菌相調査

1) 子実体発生調査

調査の結果、丹沢山地における主要な11属が抽出できた。その中にはこれまで主要属としての報告例がない *Inocybe* 属が含まれていた。また、調査地域により発生頻度・発生重量・発生本数の多い属は異なっていた。丹沢山周辺では少数の属が全体に占める割合が檜洞丸周辺に比較して高く、特定の属に集中して発生する傾向が見られた。さらに、確認された科属数は檜洞丸周辺の半数であった。一般的なブナ林に見られる外生菌根菌はテングタケ、



写真1. 堂平ブナ風倒木 2003/9/17SA 撮影

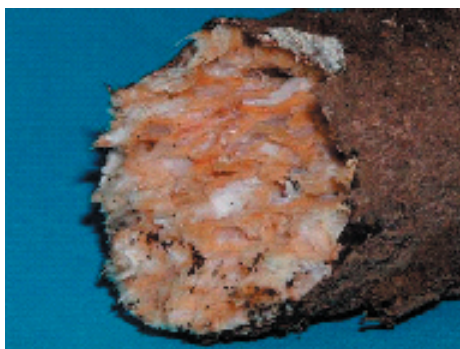


写真2. 風倒木根系に蔓延した菌糸

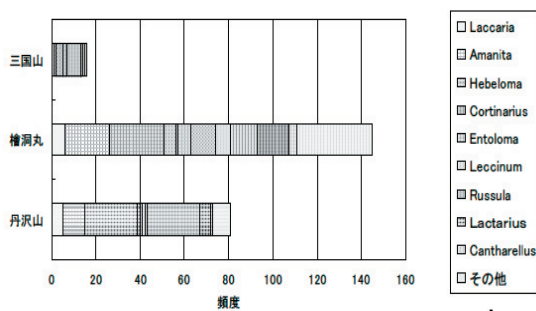


図3. 丹沢山・檜洞丸・三国山周辺における菌根生子実体主要属の出現頻度

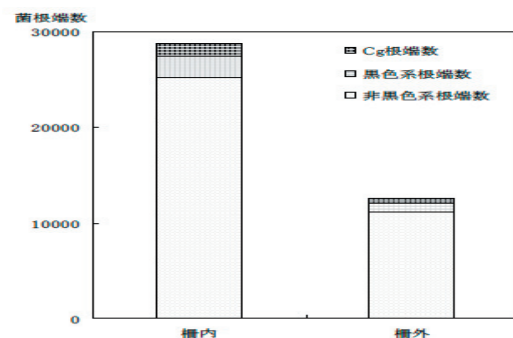


図4. 植生保護柵内外の外生菌根端数

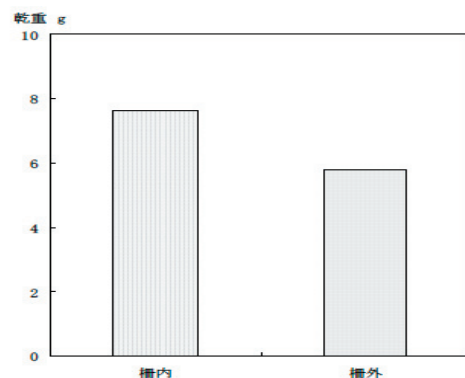


図5. 植生保護柵内外別総細根重量. 直径 1mm 以下 乾重 g

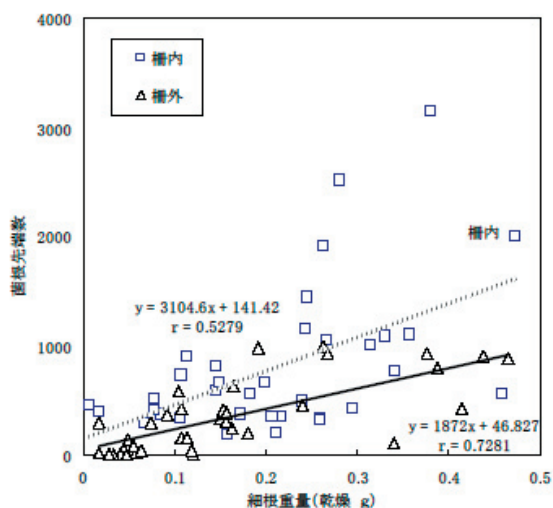


図6. 柵内外試料採取地点毎の細根重量と菌根端数との関係（線形は回帰直線を示す）

フウセンタケ、ベニタケ、チチタケと言われている（小川，1980）。丹沢山周辺で確認された主な属の内、出現比率が多いものは一般的なブナ林に見られる種類とは異なり、攪乱を受けた後に出現する（岡部，1997a）と言われている種類が多く、檜洞丸周辺では一般的な種類が見られたことから（図3）、丹沢山周辺では何らかの原因により、外生菌根菌が影響を受けていると考えられた。

2) 地中温度測定

丹沢山堂平ブナ林と檜洞丸山頂直下ブナ林における年平均地温は3深度とも堂平地区約9℃、檜洞丸地区約8℃であり、冬期間の地温は地下5cm区と10cm区で短期間氷点下を記録したが、地下20cmでは通年0℃以上であった。

また、檜洞丸ブナ林内ギャップにおける表層地中温度を測定した結果、柵により林床植生が保護されている箇所並びに林内では夏期最高地温は25℃を越えず、冬期の地温も緩やかに推移したのに対し、柵外の下層植生がない箇所では夏期最高地温は35℃近くまで昇温し、冬期地温は激しく変化していた。従って、下層植生のない箇所では表層に分布する根系への影響が示唆された。

(2) 外生菌根調査

1) ブナ林植生保護柵内の外生菌根定量調査

シカの採食から林床植生が保護されている植生保護柵内部と、採食を受ける柵外部との間で外生菌根の根端数と細根重量を比較したところ、いずれも柵内の方が多く（図4、5）、菌根端数は柵外の2.3倍、細根重は柵外の1.3倍であり、影響は細根よりも菌根により強く表れると考えられた。細根重と菌根端数の間には正の相関が認められ、柵外は柵内よりも高い相関がみられた（図6）。これは、柵外では菌根数は細根の量に比例するのに対し、柵内では菌根が局所的に多い部分が存在するためと考えられた。林床の状態によって細根量、菌根数とその分布様式が異なっていたことは、植生保護柵が樹木根系の保護にも効果がある可能性が示唆された。

2) 効率的定量手法検討

全数計測法では外生菌根の根端数と根長間で、細根では全計測項目の組み合わせ間で強い相関が認められた。根重と他の計測項目間では相関が認められなかった。

新手法「粉砕法」を適用したところ、細根では全計測項目において全数計測法との間に相関が認められた。外生菌根では長さや重さの2項目にのみ相関が認められ、これらの項目には粉砕法を適用できる可能性が示された。但し、粉砕により一部の菌根が損傷し測定が困難になる現象が見られた。菌根形成率については全数計測法と粉砕法間では後者の値が小さい傾向は見られたものの、有意な差はなかった。しかし根端数と根重間には有意差が認められたため、同じ試料でも計測項目により菌根形成率が異なる結果となる可能性がある。

したがって、ブナ菌根を定量するには粉砕法により試料を縮小して根長と根重を計測することが効率的と思われる。但し、粉砕工程については菌根の損傷を回避して測定精度を上げるために、別の器具や手法の検討が必要である。

(3) 遺伝資源収集保存

18系統の分離に成功し、遺伝資源として菌株を保存した。外生菌根菌の培養は腐生菌よりも困難と言われており（山田，2001）、今回の分離成功率も約1割であった。総数の3割を占めるアセタケは全て失敗した。成功した18系統はテングタケやベニタケ属等であった。アセタケ属の分離例は無い（岡部，1997b）ので、遺伝資源保存には純粋分離培養以外の方法を検討する必要がある。例えば子実体けんだく液を苗木へ接種感染させ、感染苗木として保存する手法などである。

(4) 共生関係バイオアッセイ（生物検定）

1) 開放系における外生菌根菌感染ブナ苗の作出

植え付け7ヶ月後の生存苗数は、滅菌土区は20本中4本、無滅菌土区は20本中15本であり、滅菌土区の方が有意に少なかった（U検定， $U = 310$ ， $p < 0.001$ ）。枯損は植付後1ヶ月以内に発生した。生存苗のうち菌根に感染した本数は、滅菌土区は4本中0本、無滅菌土区は生存苗15本全てが菌根感染していた（写真3, 4）。植え付け9ヶ月後の苗高は滅菌土区の方が有意に高く（U検定， $U = 7$ ， $p < 0.05$ ）、根元径・冬芽形成数には有意差は見られなかった。

感染苗の苗高は非感染苗より低い結果となったが、外生菌根形成の維持には宿主からの光合成産物供給を必要とすることから、原因は当年生実生苗にとって今回の育苗条件では外生菌根を養うための負担が大きく、その為苗の上長成長が抑制されたと考えられる。

本手法の特徴は、安価な材料・簡易な方法で感染・非感染ブナ苗を作出可能なことである。滅菌土区において菌根感染が認められなかったことは、本手法により接種源の移動や混入が制御されたことを示唆している。従って、接種源でもある培土を、滅菌した材料で挟む形で被覆することにより接種源の飛散移動は防止可能であった。さらにトレ

イ等を利用して育苗容器を区分することにより、水を介した感染源の移動も防止可能であった。また、1つの人工気象室内で任意の時期に感染・非感染ブナ苗を作出可能であり、今後のブナと菌根共生研究にとり非常に役立つ手法として期待される。

2) 摘葉処理したブナ苗木の菌根化率調査

計測の結果を表1、図7に示した。摘葉処理により、菌根化率については処理間に有意差が認められた (U-test、 $U = 52.5$, $n_1, n_2 = 8$, $p < 0.05$)。その他の計測項目についても有意差はないが、摘葉処理区の値は対照区よりいづれも小さかった。

地上部の衰退と菌根菌の変化とは相互に密接な関係があるとされている (福田, 1999)。菌根形成率に差が見られた理由は、摘葉処理により苗木の炭水化物生産能力が減少し、菌根を維持する能力が低下したためと思われる。有

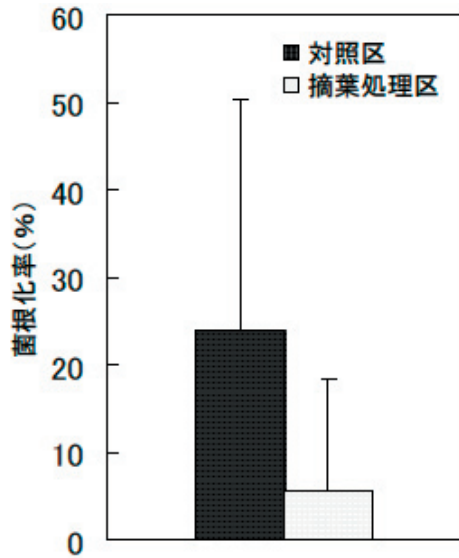


図7. 摘葉処理後の菌根化率

意差は見られなかったが、その他の計測項目についても摘葉処理区の値が対照区を大きく下回ったことは、処理の影響が根系部に及んでいる可能性がある。なお、今回の調査では生存根系のみを計測対象としたが、枯死した細根の量は摘葉処理区の方に多く見られたので、今後は細根生存率についても調査項目とする必要があると思われた。さらに、菌根化率以外については、計測値のばらつきが大きく有意な差ではなかったが、その原因はポット内の根系分布が様ではなかったためと推測された。

したがって、今後は試料サンプリングの手法や計測項目等について、更なる検討を行う必要がある。

(5) ブナ根腐れ菌調査

2004年に新たに発生した風倒木は2003年風倒木に重なる形で南側方向に倒れており、枝部からは新葉の展葉が見られた。しかし、その根系には2003年風倒木と同様に菌糸が蔓延しており、持ち帰った木片試料を純粋分離した結果、5系統の菌株を得た。2004年風倒木地上高0.4m位置の年輪を解析した結果、樹齢は

表1. 摘葉処理後調査結果

計測項目	対照区	摘葉処理区	U-test
全細根端数	887 ± 1118.6	271 ± 394.2	ns
外生菌根端数	424 ± 734.2	7 ± 8.5	ns
外生菌根化率	0.24 ± 0.263	0.06 ± 0.127	**
全細根湿重(mg)	114 ± 164.1	54 ± 109.0	ns

(全て平均値 ± SD)



写真3. 実生苗育苗状況 写真4 形成された外生菌

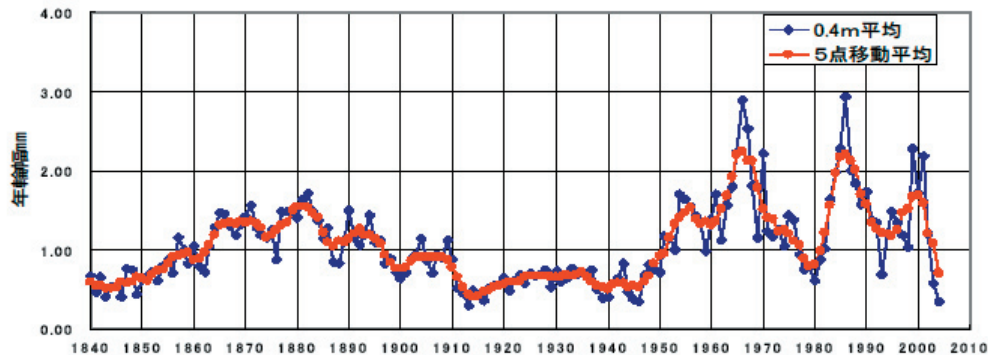


図8 2004年風倒木の年輪幅変動 地上0.4m部分

約 160 年、最初の約 100 年間は年輪幅が 0.5 ~ 1.5mm と狭く、その後は 1.0 ~ 2.5mm の間で変化していた。風倒する 2 年前までの年輪幅は 1 ~ 2mm 程度であったが、1 年前と風倒年は 0.4 ~ 0.6mm であった(越地、未発表資料)。従って、最初の 100 年間は周囲の樹木に被圧されたことによる年輪幅の低下と考えられたが、その後光環境が改善され成長したものと思われた。また風倒する直前に年輪幅の低下が見られたことから、根株腐朽が急激に進んだことが伺われた(図8)。

病原性検定については、植物育成室において発芽させた実生苗を用い、分離菌株のうち 4 系統を蔓延させたブナ枝を接種源とする接種試験を予備的に実施した。その結果、2 系統の菌株については萎凋から枯死する苗が各 1 個体見られた。残り 2 系統の菌株並びに対照区では萎凋症状は観察されなかった。今回の結果からは病原性の有無を判断不可能であり、今後は多数の実生苗を用いて病原性検定を実施していきたい。

引用文献

- 明間中央他(1999) 外菌根バイオマスの新しい測定法. 日菌会講演要旨集 43 : 50
- 藤澤示弘(2002) 丹沢山地のブナ林における外生菌根相. 第 113 回日林大会学術講演集 : 534
- 藤澤示弘(2003) ブナ外生菌根の定量手法の比較. 第 114 回日林大会学術講演集 : 680
- 藤澤示弘(2003) 丹沢山地のブナ林における外生菌根調査—(1) 林床植生の影響—. 神自環保セ研報 30 : 1 ~ 7
- 藤澤示弘・西村幹雄(2004) 摘葉処理がブナ苗木の外生菌根に及ぼす影響. 第 115 回日林大会学術講演集 : 654
- 藤澤示弘・西村幹雄(2005) 丹沢山地ブナ林の外生菌根菌相. 第 116 回日森大会学術講演集
- 藤澤示弘・越地正・山根正伸・齋藤央嗣・田村淳・内山佳美・笹川裕史(2005) 開放系における外生菌根菌感染・非感染ブナ苗の作出とその後の成長. 第 56 回日森関東支部大会発表論文集 : 229
- 藤澤示弘・西村幹雄(2005) 丹沢山地における外生菌根菌相—2002 ~ 2003 における菌根性子実体発生調査結果—. 神自環保セ報 2 : 29 ~ 38
- 福田健二(1999) 衰退度測定法. 76. 森林立地調査法. 森林立地調査法編集委員会編, 284pp, 博友社, 東京
- 橋本 靖(2003) シラカンバに定着する外生菌根菌の生態とその役割に関する研究. 日菌報 44 : 67 ~ 74
- 今関六也(1987) ハラタケ目 Agaricales [菌根]. 11-14. 原色日本新菌類図鑑 (I). 今関六也・本郷次雄編, 325pp, 保育社, 東京.
- 菊池淳一(2000) 樹木の成長と菌根. 57. 森林微生物生態学. 二井一禎・肘井直樹編, 322pp, 朝倉書店, 東京.
- 越地 正・鈴木 清・須賀 一夫(1996) 丹沢山地における森林衰退の調査研究(1)ブナ、モミ等の枯損実態. 神奈川県森林研報 22:7-18
- 西村幹雄・藤澤示弘(2005) 丹沢大山地域の大型菌類について. 神奈川自然誌資料 (26) : 39 ~ 41
- 小川眞(1980) 菌を通して森をみる. 279pp, 創文, 東京.
- 岡部宏秋(1997a) 植物の根と共生する微生物. 97. 新・土の微生物(2). 土壤微生物研究会編, 165pp, 博友社, 東京.
- 岡部宏秋(1997b) 森づくりと菌根菌. 110pp, (財) 林業科学技術振興所. 東京
- 柴田尚(1999) 菌根性きのこの安定生産技術の開発. 都道府県林業関係試験研究推進会議資料, 林野庁, 東京
- 丹沢大山自然環境総合調査団(1997) 調査のまとめと自然環境保全のための提言. 1-11. 丹沢大山総合調査報告書. (財) 神奈川県公園協会・丹沢大山総合調査団企画委員会編, 635pp, 神奈川県環境部, 横浜.
- 山田明義(2001) 菌類の採集・検出と分離: 外生菌根菌(III) 分離培養法ならびに釣菌法. 日菌報 42:177-187