

第4章 富士山火山荒原のミヤマヤナギ成木に共生する外生菌根菌が木本植物実生の菌根形成と生育に及ぼす影響

はじめに

植物種間または植物個体間の競争 (competition) が植物群集の構造を決定する大きな要因であることは数多くの研究により立証されてきた (e.g. Fowler 1986, Goldberg & Barton 1992)。しかし、植物間の正の影響 (positive interactions between plants) もまた、植物の分布、生産性、多様性、更新などを決定する大きな要因であることが近年注目され始めている (Callaway 1995, Cardinale *et al.* 2002)。特に、乾燥地や火山荒原などの環境条件の厳しい場所では、ある植物の存在が同所的に存在する別の植物の成長や侵入を促進する (Pugnaire *et al.* 1996, Bellingham *et al.* 2001)。こうした植物間の facilitation 現象は、先に定着した植物による土壌環境の改善、厳しい気象条件からの庇護効果、害虫への忌避作用などによって起こると考えられている (Callaway 1995, Bertness & Leonard 1997)。

外生菌根菌は共生する植物に養分を供給することによって、植物の成長を著しく促進させることが多くの接種実験によって示されてきた。一次遷移の初期では土壌中の養分が著しく乏しいため、外生菌根菌との共生は、そこに生育する植物の成長や生存に大きく貢献するものと思われる。しかし、一次遷移の初期にある火山荒原では外部からの菌根菌の胞子供給は限られており、侵入する植物の菌根形成は容易ではない (Allen *et al.* 1992)。こうした場所においては、先に定着した植物に共生する菌根菌が、後から侵入する植物への感染源となることにより、後続植物の菌根形成や成長を促進することも考えられる。しかし、植物間の facilitation 作用と菌根菌の関与についてはほとんど調べられておらず、実証された例はない。

富士山の南東斜面には宝永山の噴火による火山荒原が広がっている。ここに最初に定着する植物種の一つであるイタドリは、地下茎によってその被覆面積を徐々に広げ、直径 10m を越えるような大きな植生パッチを形成する (高木・丸田 1996)。この火山荒原は不安定なスコリアで覆われているが、イタドリパッチ内とそれに隣接する場所では基質が安定化される。このため、そうした場所には多くの植物が侵入することができる (Adachi *et al.* 1996)。ミヤマヤナギもそのような植物の一つであり、水分条件や光環境のよいパッチの縁部に侵入する。匍匐形のミヤマヤナギ自身も、イタドリのように年々被覆面積を広げ、植生パッチの拡大に寄与する。また、マイクロサテライトマーカを用いたミヤマヤナギのジェネット解析により、広い面積を持つミヤマヤナギ被覆は、遺伝的に異なる多くのジェネットによって構成されることが示されている (Lian *et al.* 2003)。それぞれのジェネットは一本の実生に由来することから、既に定着したミヤマヤナギの周りで別のミヤマヤナギが定着したことが明らかである。この場所でのミヤマヤナギ実生の単独での定着は非常に難しいことから、先に定着したミヤマヤナギが後から侵入す

るミヤマヤナギの定着を促進する可能性が考えられる。

この場所での植生遷移過程において、ミヤマヤナギの後にはカラマツとダケカンバが出現する。両樹種は高木樹種であり、その侵入は森林形成へと向かう植生遷移の重要な段階である。この2樹種は、スコリア嵐や雪崩といった攪乱、厳しい土壌条件などに対する耐性がミヤマヤナギより低い。そのため、よく発達した植生パッチでスコリア嵐や雪崩の被害が軽減される場所にしか見られない。それに加え、両樹種とも必ずミヤマヤナギを伴って出現することから、カラマツとダケカンバ実生の定着は、先に定着しているミヤマヤナギの存在によって促進される可能性が考えられる。

第2章と第3章で示したように、富士山火山荒原の一次遷移初期過程において、既に定着しているミヤマヤナギは例外なく外生菌根菌と共生している。5.5ha の方形区内で、子実体調査により23種（うち1種は宿主がダケカンバの可能性が高い）の外生菌根菌が出現し（第2章）、地下部菌根菌のDNA解析により、さらに9種が追加された（第3章）。こうした外生菌根菌が、この火山荒原に生育するミヤマヤナギにどのような影響を及ぼしているのかは不明であるが、一部の菌種はミヤマヤナギやカラマツ、ダケカンバ実生に感染し、その定着を促進している可能性がある。

この章では、外生菌根菌に着目し、既に火山荒原上に定着したミヤマヤナギが後から侵入する木本植物実生の成長に及ぼす影響を調べた。ミヤマヤナギとダケカンバ、カラマツの当年生無菌根苗を富士山火山荒原のいくつかの異なる環境に植栽した。実生の菌根形成や成長を調べ、植栽した場所、特に既に定着したミヤマヤナギの存在に着目してデータを解析した。実生に形成された外生菌根菌の同定は、前章と同様に、DNA解析により行った。植栽した3樹種実生に形成された外生菌根の菌種を互いに比較するとともに、隣接するミヤマヤナギ成木との群集構造の類似性についても調べ、外生菌根菌の感染を介した先着植物による後続植物の定着促進作用を明らかにした。

材料と方法

ミヤマヤナギ当年生実生の植栽実験

2001年の7月上旬にミヤマヤナギの種子を採取し、直ちにオートクレーブ（121°C、180分）した苗畑土壌（東京大学演習林田無試験地）に播種した。2, 3日後に発芽した実生は、温度制御（25°C）されたガラス室で1ヶ月間栽培した。2001年の8月上旬に、栽培したミヤマヤナギ無菌根苗を、調査方形区内（第2, 3章と同じ）の4つの異なるタイプの場所に植栽した。①どの植生パッチからも10m以上離れた裸地（以下、裸地）、②ミヤマヤナギの無い植生パッチの縁部（以下、ヤナギ無しパッチ）、③健全な中サイズのミヤマヤナギ（被覆面積が2-10 m²）が含まれる植生パッチの縁部（以下、健全ヤナギ縁）、④不健全な（樹冠葉の大部分に褐変部位の見られる）中サイズのミヤマヤナギが含まれる植生パッチの縁部（以下、不健全ヤナギ縁）の4つのタイプについて、それぞれのタイプ毎に3つのパッチ、あるいは裸地を選んだ。それぞれのパッチまたは裸地に、約20×20cmの植栽場所を設け、12本のミヤマヤナギ実生を植栽した（図4-1）。植栽のショックを和らげるため、ガラス室で栽培した際に用いた土壌少量（実生一本あたり約5cm³）と一緒に植栽した。植栽場所の厳しい直射日光、強い風とそれによって巻き上げられるスコリアなどから植栽実生を守るため、50%の遮光ネットで保護した（図4-1）。

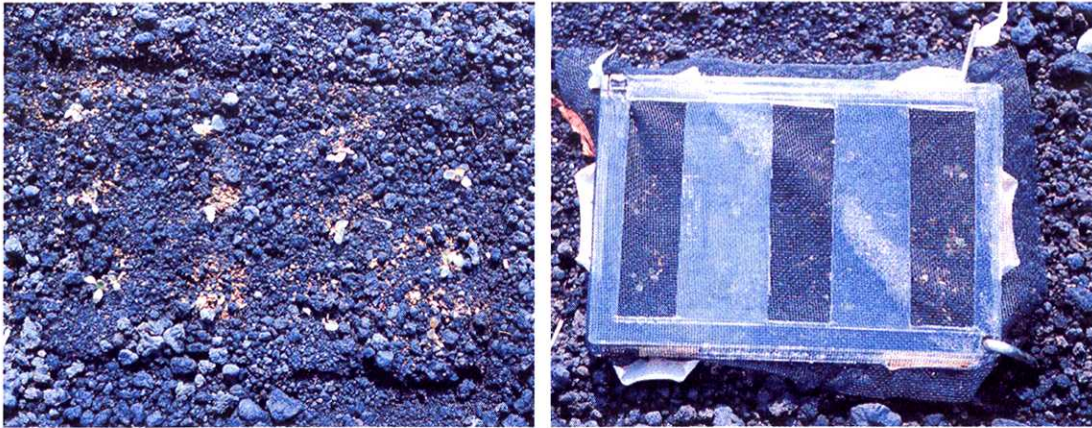


図 4-1. Current-year *S. reinii* seedlings transplanted in a volcanic desert on Mt. Fuji (left), and the shading net that protects the seedlings.

3 種の木本植物当年生実生の混植実験

ダケカンバとカラマツの種子は（株）光緑地産業（岡山県）から購入した。3%次亜塩素酸ナトリウム水溶液で1分間表面殺菌した後、オートクレーブした苗畑土壤に播種した。発芽した実生は人工気象室で6ヶ月間栽培した。ミヤマヤナギの当年生実生については前述したものをを用いた。8月の月上旬に、3種の当年生無菌根苗を、①ミヤマヤナギを含まない植生パッチの縁部（以下、ヤナギ無しパッチ）と②大サイズのミヤマヤナギ（被覆面積が45 m²以上）が含まれる植生パッチの縁部（以下、大ヤナギ縁）の2つの異なるタイプの場所に植栽した。それぞれのタイプ毎に3つの異なるパッチを選び、各パッチ毎に約20 × 20 cmの植栽場所を設けた。それぞれの植栽場所には、3本のカラマツ、3本のダケカンバ、3本のミヤマヤナギ当年生実生を混植した。ミヤマヤナギ単一の植栽実験と同様に、少量の苗畑土壤とともに植栽し、遮光ネットで保護した。

植栽実生の解析

2001年の11月上旬に、単一植栽したミヤマヤナギ実生を、各場所から6本ずつサンプリングした。宿主植物3種の混植実験では、植栽した実生を全てサンプリングした。それぞれの実生の地上部は、真空乾燥機で乾燥させた後、ウルトラマイクロ電子天秤（UMT2, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland）乾燥重量を測定した。各実生の地上部に含まれる窒素とリンの量は、硫酸と過酸化水素で湿式灰化した後、比色定量した（第2章参照）。それぞれの実生の地下部を実体顕微鏡下で観察し、縦根端数と外生菌根根端数を計測した。

実生に感染した外生菌根菌の同定

実生の根系は、水道水で注意深く洗浄した後、実体顕微鏡下で付着するリター片や土壤粒子をパスツールピペットとピンセットで除去した。全ての外生菌根を、形態分類と分子生物学的手法による菌種同定に用いた。具体的な形態分類とDNA抽出、PCR、フラグメント解析の手法は第3章と同じである。ほとんどの外生菌根は分子生物学的手法に

よって同定可能であったが、いくつかのサンプルはPCRによってITS領域が増幅されなかった。これらの外生菌根の菌種とその比率は、同一サンプルの同一形態タイプで分子生物学的手法により同定できた菌種と同じ比率であるとみなした。

統計

全ての統計解析は、SPSS 11.5 for Windows を用いて行った。ミヤマヤナギ単一植栽のデータは、一元配置分散分析とTukeyの多重比較法によって、4つのタイプの植栽場所の間で統計的に有意な差があるかどうかをテストした ($P=0.05$)。3種混植実験のデータは、 t -testにより、2タイプの植栽場所間の差を検定した ($P=0.05$)。

結果

ミヤマヤナギ実生の生育に及ぼすミヤマヤナギ成木の影響

裸地に植栽したミヤマヤナギ実生は、いずれも外生菌根を形成しなかった (表4-1)。ヤナギ無しパッチに植栽したミヤマヤナギ実生では、17本中1本のみを外生菌根の形成が見られた (表4-1)。これに対し、不健全ミヤマヤナギ縁に植栽した実生の60%以上に、健全ミヤマヤナギ縁に植栽した実生の全てに、少なくとも1つ以上の外生菌根が形成された。実生1本あたりに形成された外生菌根の数を見ると、裸地に植栽した実生では 0.0 ± 0.0 、ヤナギ無しパッチでは 0.2 ± 0.2 、不健全ヤナギ縁に植栽した実生では 9.3 ± 2.5 であった。健全ヤナギ縁に植栽した実生の菌根数は 25.5 ± 2.9 と、他の3つのタイプの植栽場所より有意に高い値を示した ($P < 0.05$ 、表4-1)。

植栽したミヤマヤナギ実生の地上部乾重は、裸地で 0.8 ± 0.1 mg、ヤナギ無しパッチで 0.8 ± 0.1 mg と低い値を示した。不健全ヤナギ縁での地上部乾重は 1.1 ± 0.2 mg とやや高いものの、裸地やヤナギなしパッチでの値との差は有意ではなかった。健全ヤナギ縁に植栽したミヤマヤナギ実生の地上部乾重は 2.2 ± 0.3 mg であり、他の3つの植栽場所での値より有意に大きかった ($P < 0.05$ 、表4-1)。また、不健全ヤナギ縁に植栽した実生の内、外生菌根を形成した実生の地上部乾重は 1.4 ± 0.2 mg であり、外生菌根を形成しなかった実生の 0.7 ± 0.2 mg より有意に高い値を示した (t -test, $P < 0.027$)。実生の地上部乾重は形成された外生菌根の数とともに増加し、有意な相関を示した ($P < 0.001$ 、図4-2)。

表 4-1. Effects of established willow (*Salix reinii*) shrubs on ectomycorrhizal (ECM) formation and the performance of transplanted *S. reinii* seedlings in a volcanic desert on Mt. Fuji.

Transplanting sites*	Number of seedlings† (ECM / total)	Number of ECM root tips‡	Shoot dry weight‡ (mg/seedling)	Shoot N amount‡ (µg/seedling)	Shoot P amount‡ (µg/seedling)
bare ground	0 / 14	0.0 ± 0.0^a	0.8 ± 0.1^a	10.8 ± 1.0^a	4.6 ± 0.4^a
no-willow patch	1 / 17	0.2 ± 0.2^a	0.8 ± 0.1^a	11.0 ± 1.2^a	4.5 ± 0.3^a
unhealthy willow	10 / 16	9.3 ± 2.5^b	1.1 ± 0.2^a	20.4 ± 3.7^b	4.7 ± 0.4^a
healthy willow	17 / 17	25.5 ± 2.9^c	2.2 ± 0.3^b	27.7 ± 1.6^b	6.4 ± 0.5^b

* Seedlings were transplanted into four habitat types: bare ground, the periphery of vegetation patches lacking willow shrubs (no-willow patch), the periphery of vegetation patches containing normally growing middle-sized (2-10 m² canopy coverage) willow shrubs (healthy willow), and the periphery of vegetation patches containing apparently unhealthy middle-sized willow shrubs (unhealthy willow).

† The number of ECM seedlings followed by the total number of sampled (surviving) seedlings.

‡ Mean ± S.E.M. Figures followed by different letters within a column differ statistically (Tukey's HSD test, $P < 0.05$).

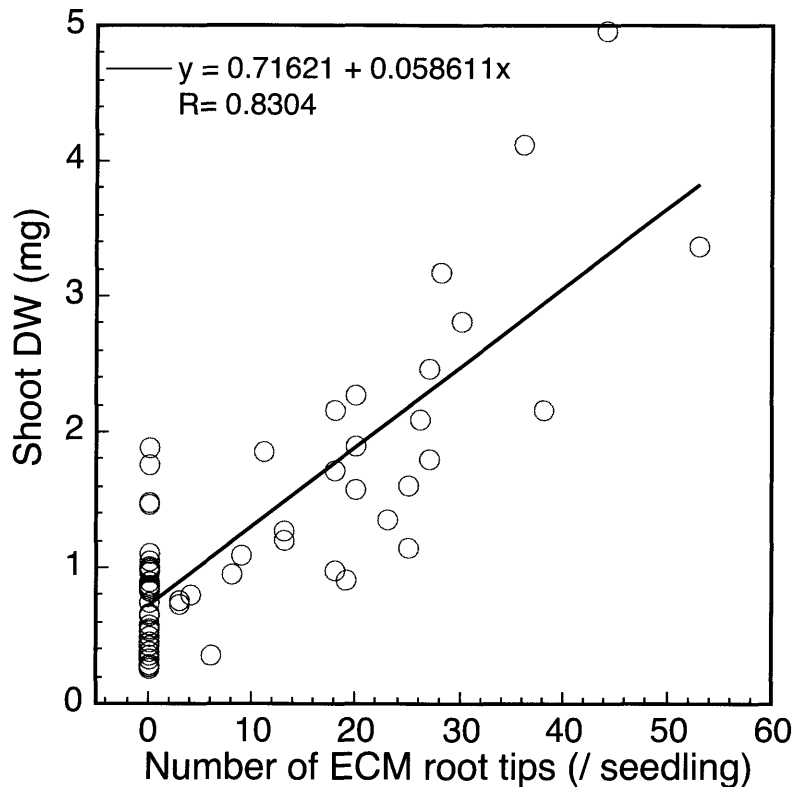


図4-2. The growth of transplanted *Salix reinii* seedlings increased with the number of ectomycorrhizal root tips during early primary succession on Mt Fuji.

健全ヤナギ縁に植栽した実生の地上部に含まれるリンの量は、他の3つの植栽場所よりも有意に多かった ($P < 0.05$ 、表4-1)。実生の地上部に含まれる窒素の量は、健全ヤナギ縁で $27.7 \pm 1.6 \mu\text{g}$ 、不健全ヤナギ縁で $20.4 \pm 3.7 \mu\text{g}$ であり、いずれも裸地 ($10.8 \pm 0.1 \mu\text{g}$) やヤナギ無しパッチ ($11.0 \pm 0.1 \mu\text{g}$) に植栽した実生の値よりも有意に高かった (表4-1)。実生の地上部乾重は、地上部に含まれるリン量との間には明確な相関関係が認められなかったが (図4-3a)、窒素の量とは有意な相関関係が認められた ($R = 0.822$, $P < 0.001$ 、図4-3b)。

単一植栽したミヤマヤナギ当年生実生に共生する外生菌根菌群集

単一植栽したミヤマヤナギ実生の縦根端1,992の内、外生菌根は585であった。この外生菌根の91%以上は、DNA解析によって共生する菌種の同定が可能であり、全部で6種の外生菌根菌が検出された (表4-2)。この6種全てが、中サイズのミヤマヤナギ成木に見られた菌種であった (第3章、表4-2)。クロトマヤタケ、ウラムラサキ、ハマニセシヨウロは高頻度に出現し、28本の菌根形成実生中、それぞれ16本、12本、13本に見られた。この3種の菌によって、単一植栽実験でミヤマヤナギ実生に形成された菌根の95.8%を占めていた。

健全ヤナギ縁に植栽した実生では、ウラムラサキ、クロトマヤタケ、ハマニセシヨウロの菌根が優占しており、それぞれ外生菌根全体の43.9%、37.2%、13.8%を占めていた (表4-2)。この3種の菌は、健全なミヤマヤナギ成木でも優占していた。クロトマヤタケ

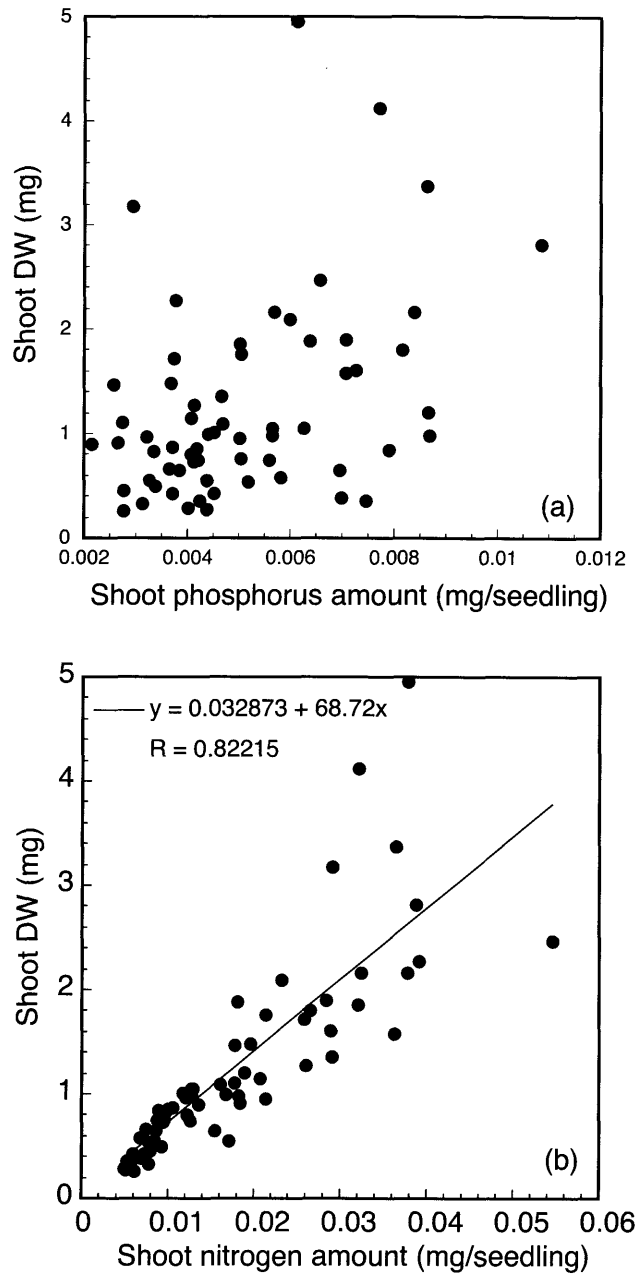


図 4-3. The relationships between shoot dry weight and shoot phosphorus amount (a) or shoot nitrogen amount (b) of *S. reinii* seedlings transplanted in a volcanic desert on Mt. Fuji.

表4-2. Effects of established willow shrubs on the relative abundance of ectomycorrhizal (ECM) fungi on current-year *Salix reinii* seedlings transplanted into a volcanic desert on Mt. Fuji.

Transplanting sites*	Relative abundance of ECM fungi (%) [†]							Total ECM root tips [‡]
	Il	La	Sb	Lm	Th	Ll	Others	
bare ground	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0
no-willow patch	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3
unhealthy willow	53.6	3.1	41.9	0.0	0.0	1.4	0.0	148
healthy willow	37.2	43.9	13.8	3.8	1.4	0.0	0.0	434
Established willow shrubs [§]								
middle-sized, unhealthy	0.0	5.0	0.0	28.2	10.3	33.4	23.1	1,016
middle-sized, healthy	28.7	17.5	15.0	27.2	1.9	7.0	2.9	1,390

* Seedlings were transplanted into the same four habitat types as in Table 1.

[†] Abbreviations for ECM fungi are as follows: Il, *Inocybe lacera*; La, *Laccaria amethystina*; Sb, *Scleroderma bovista*; Lm, *Laccaria murina*; Th, Thelephoraceae spp.; Ll, *Laccaria laccata*. Each figure indicates the percentage of the number of ectomycorrhizae formed by a fungal taxon out of all the ectomycorrhizae in each transplantation site.

[‡] Figures are the total number of ECM root tips of all transplanted seedlings in individual transplantation site types. All of these ECM root tips were examined and used for the calculation of relative abundance.

[§] The values for ECM relative abundance and total number of ECM root tips examined for the established willow shrubs beside which willow seedlings were transplanted are taken from Section 3, and are shown here for comparison with the seedling data.

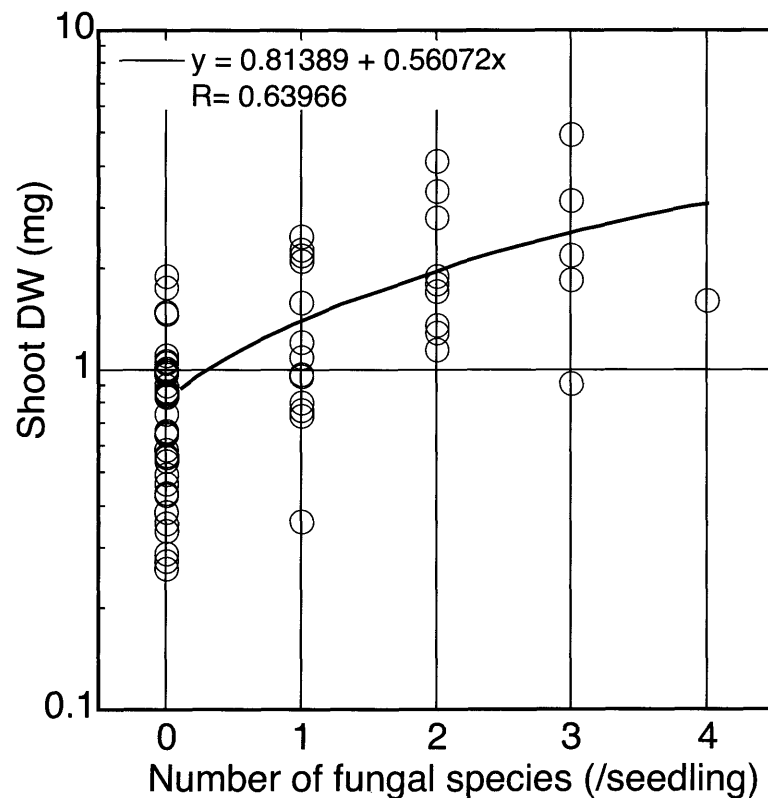


图 4-4. The growth of transplanted *Salix reinii* seedlings increased with the number of associated ectomycorrhizal fungal species during early primary succession on Mt Fuji.

The Y axis is logarithmic.

とハマニセシヨウロは不健全ヤナギ縁に植栽した実生においても優占種であった。しかし、植栽実生に隣接する不健全なミヤマヤナギ成木には、この2種の菌のいずれも見られなかった (表 4-2)。

植栽した実生1本あたりに見られた外生菌根菌の種数は0から4種であり、種数が増えるに従って実生の地上部乾重は有意に増加した ($P < 0.001$ 、図 4-4)。この相関は、外生菌根を形成しなかった実生を除いても有意であった ($P < 0.05$)。

木本植物3種の実生混植実験におけるミヤマヤナギ成木の影響

ヤナギ無しパッチに混植したダケカンバとミヤマヤナギはいずれも外生菌根を形成せず、カラマツも9本中8本は菌根を形成しなかった (表 4-3)。これに対し、大ヤナギ縁では、混植した3種の実生のほとんどすべてに外生菌根の形成が見られた (表 4-3)。実生一本あたりに形成された外生菌根の数を比べると、いずれの植物種でも、ヤナギ無しパッチよりも大ヤナギ縁の方が有意に高い値を示した (t -test, $P < 0.016$ 、表 4-3)。

ミヤマヤナギ実生の地上部乾重は、単一植栽実験と同様に、ヤナギ無しパッチ ($0.8 \pm 0.1 \text{mg}$) よりも大ヤナギ縁に植栽したもの ($1.9 \pm 0.4 \text{mg}$) の方が有意に高い値を示した ($P < 0.010$ 、表 4-3)。ミヤマヤナギ実生の地上部に含まれるリンの量は、混植実験を行った2タイプの植栽場所間で有意な差は見られなかった。一方、ミヤマヤナギ実生の地上部に含まれる窒素の量は、大ヤナギ縁に植栽したもの ($22.4 \pm 4.8 \mu\text{g}$) はヤナギ無しパッチに植栽したもの ($11.7 \pm 1.2 \mu\text{g}$) よりも有意に高い値を示した (t -test, $P < 0.039$ 、表 4-3)。ダケカンバとカラマツの植栽実生については、地上部乾重量、リン量、窒素量のいずれに関しても、2タイプの植栽場所間で有意な差が見られなかった (表 4-3)。

混植実験で各種実生に見られた外生菌根菌

大ヤナギ縁に混植した3種の実生のうち、ミヤマヤナギ実生に見られた84の外生菌根から5種の菌根菌が検出できた (表 4-4)。クロトマヤタケの菌根が最も多く、66.9%を占めていた。キツネタケやハマニセシヨウロ、UN-D1などの菌根も比較的数量が多かった。これらのミヤマヤナギ実生に見られた菌種は、いずれも大サイズのミヤマヤナギ成木に

表 4-3. Effects of established willow shrubs on ectomycorrhizal (ECM) formation and the performance of transplanted seedlings of three successional plant species co-transplanted into a volcanic desert on Mt. Fuji.

Transplanting sites	Plant spp.*	Number of seedlings† (ECM / total)	Number of ECM root tips‡ (/seedling)	Shoot dry weight‡ (mg/seedling)	Shoot nitrogen amount‡ ($\mu\text{g}/\text{seedling}$)	Shoot phosphorus amount‡ ($\mu\text{g}/\text{seedling}$)
no willows	B	0 / 8	0.0 \pm 0.0	1.4 \pm 0.2	15.3 \pm 3.4	3.4 \pm 0.5
	L	1 / 9	2.0 \pm 2.0	29.5 \pm 3.2	231 \pm 17	14.4 \pm 3.6
	S	0 / 7	0.0 \pm 0.0	0.8 \pm 0.1	11.7 \pm 1.2	4.2 \pm 0.4
with willows	B	8 / 9	12.1 \pm 3.8 ^a	1.3 \pm 0.2	13.0 \pm 1.0	2.4 \pm 0.7
	L	9 / 9	21.9 \pm 4.7 ^a	27.9 \pm 1.4	225 \pm 9	20.2 \pm 4.9
	S	6 / 6	14.0 \pm 5.4 ^a	1.9 \pm 0.4 ^a	22.4 \pm 4.8 ^a	5.7 \pm 1.0

* Abbreviations for the transplanted seedling species are as follows: B, *Betula ermanii*; L, *Larix kaempferi*; S, *Salix reinii*.

† The number of ECM seedlings is followed by the total number of sampled (surviving) seedlings.

‡ Mean \pm S.E.M. Each figure followed by ^a in the “with willow” rows differs significantly from the figure for the same plant species in the “no willow” rows within a column (t -test $P < 0.05$).

表 4-4. Similarities in ectomycorrhizal (ECM) communities between established willow shrubs and transplanted seedlings of three successional plant species during early succession in a volcanic desert on Mt. Fuji.

Plant species	Relative abundance of ECM fungi (%) [*]							Total ECM root tips [†]
	Il	Ud	Li	Th	Sb	Hm	Others	
<i>Betula ermanii</i>	43.8	42.5	8.2	2.7	2.7	0.0	0.0	109
<i>Larix kaempferi</i>	51.3	12.7	0.0	0.0	21.8	13.2	1.0	197
<i>Salix reinii</i>	66.9	9.5	10.5	1.2	11.9	0.0	0.0	84
Large willow shrubs [‡]	3.0	16.9	3.1	0.4	7.3	0.2	69.1	1,491

^{*} Abbreviations for ECM fungi are as follows: Il, *Inocybe lacera*; Ud, UN-D1 (defined in Section 3); Li, *Laccaria laccata*; Th, Thelephoraceae spp.; Sb, *Scleroderma bovista*; Hm, *Hebeloma mesophaeum*. Each figure is the percentage of the number of ectomycorrhizae formed by a fungal taxon out of all the ectomycorrhizae within a plant species.

[†] Figures are the total number of ECM root tips of all transplanted seedlings of individual plant species. All of these ECM root tips were examined and used to calculate relative abundance.

[‡] The values for ECM relative abundance and total number of ECM root tips examined for the large *S. reinii* shrubs (periphery positions) that seedlings were transplanted next to are taken from Section 3.

見られた菌根菌であった。

ダケカンバ実生に見られた外生菌根菌群集は、クロトマヤタケとUN-D1によって優占されており、菌根数でそれぞれ43.8%と42.5%を占めていた(表4-4)。この2つの菌種は、外生菌根の形成が見られた8本の実生の内、いずれも3本の実生に出現した。ダケカンバ実生に見られた109の外生菌根から全部で5種の菌根菌が検出され、そのいずれも大サイズのミヤマヤナギ成木に見られた菌根菌であった。

カラマツの実生には全部で197の外生菌根が見られ、5種の外生菌根菌が検出できた。クロトマヤタケの相対菌根数が最も多く、51.3%を占めていた。外生菌根の形成が見られた10本のカラマツ実生の内、3本にクロトマヤタケの菌根が見られた。ハマニセショウロとUN-D1の菌根は、相対数量で見るとクロトマヤタケよりも少なかったが、出現頻度ではクロトマヤタケよりも高く、いずれも10本中5本の実生に見られた。カラマツ実生に見られた5種の菌種のうち、4種は大サイズのミヤマヤナギ成木に見られた外生菌根菌であった。この4種がカラマツ実生の菌根全体に占める割合は99.0%であった。

考察

ミヤマヤナギ当年生実生の外生菌根形成

裸地とヤナギ無しパッチに植栽したミヤマヤナギ当年生実生は、ほとんど外生菌根を形成しなかったことから、既に成立したミヤマヤナギ成木による助けがない限り、富士山火山荒原上における当年生実生の外生菌根形成はかなり困難であることが明らかにされた。Allen *et al.* (1992)も、セントヘレンズ火山の噴火跡地において、外生菌根形成が乏しいことを記載している。しかし、別のタイプの一次遷移地である氷河跡地では、外生菌根の形成はそれほど困難なものではないことがいくつか示されている。アラスカのExit氷河の例では、植栽された実生は植栽場所に関係なく容易に外生菌根を形成する(Helm *et al.* 1999)。また、ワシントン州のLyman氷河においても、実生への迅速な外生菌根形成が報告されている(Jumpponen *et al.* 2002)。一次遷移地を形成させるに至った攪乱は、氷河の後退に比べ、噴火の方が遙かに規模が大きく、強さも激烈である。その結果、氷

河跡地ではそれを囲む尾根筋の森林から十分な外生菌根菌の胞子が供給されるのに対して、近くに残存林の存在しない広大な火山荒原では胞子散布は極めて限られている (Allen *et al.* 1992)。さらに、火山荒原では地表面が乾燥することが多く、胞子や宿主の生存に対して悪影響を及ぼす。氷河跡地と火山荒原における外生菌根形成の難易度の違いは、こうした条件の違いによるところが大きいものと考えられる。

健全ヤナギ縁と大ヤナギ縁に植栽したミヤマヤナギ実生に見られた外生菌根菌は、それぞれの植栽場所にあるミヤマヤナギ成木に見られた菌種と同一であったことから、成木の菌根から伸びる根外菌系体が感染源になった可能性が考えられる。一方、不健全ヤナギ縁に植栽した実生で優占した外生菌根菌は、植栽場所にあるミヤマヤナギ成木に全く見られなかった菌種であることから、根外菌系体が主要な感染源ではないことが明らかである。すでに第2章で示したように、この場所での外生菌根性子実体の発生量は極めて多い。不健全ヤナギ縁の実生の結果は、胞子も実生への感染源として機能していることを示すものと考えられる。

外生菌根菌の胞子はミヤマヤナギ成木のあるパッチにも無いパッチにも同様に散布されると推測できる。しかし、ミヤマヤナギ成木のないパッチに植栽した実生の外生菌根形成は全く促進されなかった。こうした菌根形成の違いは、胞子の発芽率が異なることによってもたらされた可能性がある。外生菌根菌の胞子発芽は親和性のある宿主の根の存在下で促進されることが示されている (Fries *et al.* 1987, Ali & Jackson 1988)。ミヤマヤナギ成木の根の量は植栽した実生の根量よりも遙かに多い。こうしたことから、ミヤマヤナギ成木近傍の実生根圏における胞子発芽率は孤立した実生根圏よりも高くなり、成木による実生の菌根形成促進に繋がったのであろう。

健全ヤナギ縁と不健全ヤナギ縁では、植栽したミヤマヤナギ実生の外生菌根菌群集構造が明らかに異なっていた。これは、外生菌根形成の2つの異なる感染様式、すなわち胞子と菌系体による菌根形成の比率が、健全ヤナギ縁と不健全ヤナギ縁とで違うことに起因するものと考えられる。

外生菌根形成に伴うミヤマヤナギ実生の成長促進

菌根を形成しなかったミヤマヤナギ実生はほとんど成長しなかったのに対し、菌根を形成した実生は有意に大きく成長した。さらに、不健全ヤナギの縁という同一条件下に植栽したミヤマヤナギ実生だけを見ても、菌根を形成しなかった実生に比べ、菌根を形成した実生は有意に大きかった。つまり、一次遷移の初期にあるこの場所では、外生菌根菌との共生がミヤマヤナギ実生の成長に必要不可欠であると考えられる。

健全ヤナギ縁に植栽したミヤマヤナギ当年生実生は、不健全ヤナギ縁に植栽したものに比べ、地上部乾重や養分含量の値が有意に大きかった。この違いは、外生菌根を形成した時期が2つの場所で異なることに起因する可能性がある。健全なミヤマヤナギ成木は活発に光合成を行っており、共生する菌根菌にも十分な炭水化物を供給できるため、根外菌系体がよく発達しているが、不健全なミヤマヤナギ成木は光合成活性も低く、菌根菌への炭水化物の供給も限られるため、根外菌系体の発達は悪い。つまり、健全なミヤマヤナギ成木の菌根から伸びる根外菌系体によって、実生の菌根形成は植栽直後から始まるものと考えられるが、不健全なミヤマヤナギ縁ではそうした菌根形成は非常に限ら

れるものと思われる。事実、不健全ヤナギ縁に植栽した実生に形成された外生菌根菌の組成をみても、その場所での成木に見られた菌種とは明らかに異なっていた。一方、孢子による感染はもっと遅い時期、つまり子実体の形成が集中する夏の終わりから秋にかけて起こると考えられる。不健全ヤナギ縁の実生にとってはこの孢子による感染が中心的であることが菌種組成からも明らかである。つまり、健全ヤナギ縁で根外菌系体によっていち早く菌根を形成した実生は、より長くその恩恵を受けることができたが、不健全ヤナギ縁で孢子によってより遅い時期に菌根を形成した実生は、菌根菌から恩恵を受ける期間が短かったのであろう。

ミヤマヤナギ実生の成長は実生に含まれる窒素の量と高い相関があり、菌根を形成した実生の窒素量は菌根を形成しなかった実生に比べて有意に高い値を示した。さらに、第2章で示したように、ミヤマヤナギ成木の光合成活性は葉内窒素濃度と強い相関が認められた。つまり、他の多くの一次遷移地と同様に、この場所では窒素がミヤマヤナギの成長と生存にとって最も重要な養分であると考えられる。外生菌根菌によって植物の養分吸収面積は著しく増大する (Rousseau *et al.* 1994)。また、外生菌根菌は多くの異なる有機態および無機態窒素を利用できることが知られており (e.g. Abuzinadah & Read 1986a, Keller 1996)、菌が吸収した窒素が植物に供給されることも実験的に示されている (Abuzinadah *et al.* 1986, Abuzinadah & Read 1986b, Finlay *et al.* 1992)。一次遷移の初期段階にある火山荒原において、外生菌根菌が土壤中からかき集めてくる窒素は、ミヤマヤナギの成長を左右する大きな要因であるものと推察される。

植栽実生に共生する外生菌根菌の種数が増加するに従って、実生の成長は有意に促進された。同様に、*Betula populifolia* に1種、2種、4種の外生菌根菌を接種した実験でも、苗の吸収した養分量は菌根菌の多様性とともが増えることが報告されている (Baxter & Dighton 2001)。外生菌根菌の生理機能は菌種によって大きく異なり、宿主への養水分供給特性や病原菌への防御効果にも大きな菌種間差が見られる (Smith & Read 1997)。つまり、ミヤマヤナギ実生は、異なる複数種の外生菌根菌と共生することで多様な恩恵を受け、その相乗作用によって成長が促進された可能性が考えられる。

天然更新したミヤマヤナギ当年生実生の多くは、夏場の地表の乾燥によって、発芽から2,3週の間枯死する。今回の植栽実験では、1ヶ月間温室で栽培した実生を現地に植栽し、遮光ネットで保護することによって、研究に十分な本数の生存実生を確保することができた。しかし、ミヤマヤナギの単一植栽実験でサンプリングしなかった残り半分の実生は、そのほとんどが翌年の春までに枯死していた。健全ヤナギ縁に植栽した実生で、比較的サイズの大きい2個体のみが翌年まで生存していた。同様に、富士山のイタドリについて、当年生実生の個体サイズが最初の越冬の成否を決定する重要な要素であることが示されている (Maruta 1983)。つまり、最終的なミヤマヤナギ成木の成立には他の多くの不確定要素が関与すると思われるが、外生菌根菌の感染によるミヤマヤナギ当年生実生の成長促進は一つの重要な要因であると考えられる。

後遷移樹種実生の菌根形成とその意味するもの

富士山火山荒原に既に定着したミヤマヤナギ成木は、ミヤマヤナギの実生と同様に、後遷移樹種であるダケカンバとカラマツ当年生実生の外生菌根形成を促進した。実生に見

られた菌根菌の相対菌根数組成は3つの植物種で有意に異なったことから (exact Pearson chi-square test, $P < 0.01$)、外生菌根菌各種に対する嗜好性はそれぞれの植物種で異なるものと考えられた。しかし、ダケカンバとカラマツの実生に見られた外生菌根のほとんど全ては、ミヤマヤナギ成木に見られた菌種によって形成されたものであったことから、両樹種の最初の菌根形成は、先に定着したミヤマヤナギに共生する外生菌根菌に大きく依存していることは明らかである。

既に発達した森林の中においては、同所的に存在する異なる樹種が、共通の菌種によって菌根を形成していることがいくつか報告されている。Horton & Bruns (1998) は、*Pseudotsuga menziesii* と *Pinus muricata* が混生する森林において、同定された16種の菌種のうち12種は両方の樹種に出現し、両樹種の菌根の大部分はそのような多宿主性の菌類で占められていることを明らかにした。同様に、イエローストーンの *Pinus contorta* - *Picea engelmannii* 混生林においても、両樹種に共通の外生菌根菌が優占することが示されている (Cullings *et al.* 2000)。植生遷移との関係において、異なる植物種間での菌根菌の共通性について調べられた例はほとんどないが、Horton *et al.* (1999) は、Arbutoid 菌根性である *Arctostaphylos* 植物と外生菌根性である *Pseudotsuga* 実生の菌根が共通の菌種によって優占されていることを示し、攪乱後の *Pseudotsuga* 実生の定着には残存する *Arctostaphylos* 植物に共生する菌根菌が重要な役割を持つと考察している。

同一菌種によって異なる樹種間に菌根が形成されることは、菌系ネットワークによって多くの異樹種が結ばれている可能性を示している。こうした異樹種間の菌系ネットワークは興味深い機能を持つことが報告されている。Simard *et al.* (1997b) は、*Betula papyrifera* と *Pseudotsuga menziesii* が混生する森林において、両樹種に共生する菌根菌群集には共通する菌の占める割合が高く、それら菌根菌の菌系ネットワークを通して双方向に炭素が受け渡されると報告している。つまり、菌根菌の菌系ネットワークを通して植物間で光合成産物をやり取りすることによって、植物間の競合や相補が行われる可能性がある。また、実験室内で *Pinus sylvestris* と *Larix eurolepis* を混植して、アミハナイグチ (カラマツに特異的な菌) を接種した場合には、両樹種間に菌系ネットワークが形成されるが、添加したリンはカラマツの方に優先的に蓄積することが示されている (Finlay 1989)。一方、アミタケ (マツに特異的な菌) を接種した場合にも両樹種に菌根が形成されるが、今度は逆にマツのP蓄積量が有意に大きくなる。つまり、菌系ネットワークに繋がった異なる樹種間でその菌に対する親和性が異なると、より親和性の高い樹木が有利になることが示唆される。しかし、こうした菌根菌ネットワーク上の物質受給を通じた植物間の相互作用については、その生態的意味を疑問視する意見もある (Robinson & Fitter 1999, Wu *et al.* 2001)。

今回の植栽試験では、大ヤナギ縁という同じ場所に植栽したにもかかわらず、ミヤマヤナギ実生の成長は著しく促進されたのに対し、ダケカンバとカラマツ実生の成長は全く促進されなかった。この原因として、この場所の菌根菌に対する親和性は、ミヤマヤナギに比べて、ダケカンバとカラマツの方が低い可能性がある。しかし、より大きな要因として、植栽した時期が挙げられる。今回の実験では、ダケカンバとカラマツの実生をミヤマヤナギ実生と同時に混植するため、すべての植栽を8月に行った。この植栽時期には、ダケカンバとカラマツ当年生実生の成長がほとんど停止していたことから、菌根

形成がダケカンバとカラマツ実生の成長促進に繋がらなかったものと考えられる。温室での予備的な外生菌根菌接種試験においては、菌根の形成によって両樹種実生の成長は著しく促進された。同様に、カラマツ属やカバノキ属の樹種を用いた他の多くの研究でも、外生菌根菌の接種が実生の成長を促進している (e.g. Hashimoto & Hyakumachi 2001)。今回調査した方形区内では、自然に定着したダケカンバやカラマツは少ないものの、いずれもミヤマヤナギを伴って出現しており、例外なく外生菌根を形成していた。このようなことから考えると、ミヤマヤナギ成木の縁で見られたダケカンバとカラマツ実生の菌根形成の促進は、両樹種の実生の定着を助長する要因である可能性が高い。

一次遷移の初期過程における植物間の facilitation と外生菌根菌

一次遷移の初期過程では土壤中の養分（特に窒素）が非常に限られている (e.g. Tateno & Hirose 1987)。そのため、空中窒素を固定する根粒形成植物が先駆植物として侵入することが多く、土壤中の窒素養分の増加に大きく貢献する。その結果、定着した窒素固定植物は、隣接した場所に後から侵入する植物の定着を助け、植生回復の核 (nuclei) になることが知られている (Waker & Chapin 1986, Moris & Wood 1989, Vitousek & Walker 1989, Blundon *et al.* 1993, Chapin *et al.* 1994)。植物間の facilitation の形態には様々なものがあるが、このように先に定着した植物による核形成は一つの究極型であると言える (Yarranton & Morrison 1974)。

一次遷移において、窒素固定植物以外の facilitation 機構を調べた例は非常に限られる。Jumpponen *et al.* (1998) は、Lyman 氷河跡地において、定着したヤナギ属植物の存在が在来種の侵入に及ぼす影響を調べた。その結果、ヤナギ下で肥沃化した土壤そのものはプラスに働くものの、被陰などがマイナスに作用することから、総合的に見るとヤナギの影響はないか、あるいはマイナスに働くとし、先駆ヤナギによる核形成はないと結論づけている。一方、富士山の火山荒原で得られた本研究の結果では、既に定着したミヤマヤナギが、後から侵入する植物の菌根形成を促進することにより、植生回復の核になることを示すものであった。このような相違は、既に述べたように、氷河跡地での菌根形成は容易で実生定着の制限要因にならないのに対し (Helm *et al.* 1999)、火山荒原では菌根形成が大きな制限要因となっているためであると考えられる (Allen *et al.* 1992)。

富士山の火山荒原では、まず最初に、非窒素固定植物であるイタドリが植生回復の核となり、様々な植物の定着を促進する (Adachi *et al.* 1996)。これはイタドリによって不安定なスコリア砂礫が安定化されるためであると考えられている (高木・丸田 1996)。ミヤマヤナギもイタドリパッチに侵入する植物の一つである。そして、ミヤマヤナギ自身も後から侵入するミヤマヤナギ定着の核となることがジェネット解析により示されている (Lian *et al.* 2003)。富士山の火山荒原では植物間の facilitation 作用が植物群集の構造と遷移を決定づける重要な機構なのかもしれない。

植物間の facilitation が外生菌根菌によって介在されることを示した例は非常に少ない。Dickie *et al.* (2002) は、*Quercus montana* や *Acer rubrum* が点在する疎林において、*Quercus rubra* 実生は *Q. montana* 成木の側で成長が促進されることを示した。そして、*Q. montana* 成木の側では *Q. rubra* 実生に共生する外生菌根菌の多様性が高まることが要因であると考察している。アイスランドの荒廃地の植生回復を目的とする *Betula pubescens* 種子散布

試験においても、矮性ヤナギの存在が *B. pubescens* の成長を促進するが、その要因に外生菌根菌の可能性が言及されている (Magnússon & Magnússon 1992)。一次遷移の初期における植物間の facilitation と外生菌根菌の関係については、知りうる限りでは本研究がはじめてであるが、その結果は、外生菌根菌が facilitation に深く関与していることを明示するものであった。一次遷移の初期における植生の回復と遷移において、外生菌根菌はこれまで考えられていた以上に重要な役割を担っているものと考えられる。

第5章 富士山火山荒原の先駆木本植物ミヤマヤナギに対する外生菌根菌の宿主特異性 —様々な植生遷移段階から分離した多様な菌株を用いて—

はじめに

すべての外生菌根菌には、感染できる植物種と感染できない植物種が存在する。感染できる植物種の範囲、つまり宿主範囲はそれぞれの菌によって大きく異なる。*Cenococcum geophilum*やキツネタケは、針葉樹から広葉樹まで幅広い樹種に菌根を形成することが知られており、宿主範囲が広い菌根菌である。逆に、ハナイグチはカラマツ属の樹木に、*Alpova*属はハンノキ属にといったように、ある特定の属の樹木にしか通常菌根を形成しない、宿主範囲が狭い菌根菌も存在する (e.g. Baar *et al.* 2002)。もちろん、菌根が形成されない菌と植物の組み合わせ (親和性のない組み合わせ) では、菌根菌の植物への成長促進効果は発揮されない (e.g. 奈良・宝月 1996)。

富士山火山荒原の一次遷移初期過程において、既に定着しているミヤマヤナギは例外なく外生菌根菌と共生している。5.5haの方形区内で、子実体調査により23種 (1種は宿主がダケカンバの可能性が高い)の外生菌根菌が出現し (第2章)、地下部菌根菌のDNA解析により、さらに9種の菌根菌が新たに検出された (第3章)。また、植栽した実生にもミヤマヤナギ成木に見られた外生菌根菌が感染していた (第4章)。このような菌種がミヤマヤナギと親和性のあることは明らかである。

しかし、この場所のミヤマヤナギに潜在的に感染する可能性のある外生菌根菌は、他にもたくさん存在している可能性がある。富士山の他の斜面や、調査地よりもっと標高の低い場所では、様々な森林が発達しており、潜在的な菌根菌の胞子供給源となっている。周辺の森林に見られる菌種が、ミヤマヤナギに対して親和性があるかないかは分からない。しかし、そうした菌種のミヤマヤナギに対する親和性を知ることは、一次遷移初期過程で現在見られる菌根菌群集の成立要因を明らかにする上で重要である。そして、ミヤマヤナギに対する親和性を見るためには接種試験が有効であると考えられるが、そのためには単離した多種多様な外生菌根菌が必要不可欠である。

また、健全なミヤマヤナギ成木と不健全な成木とでは共生する外生菌根菌群集が大きく異なっていた (第3章)。しかし、共生する外生菌根菌の成長促進作用が異なることが原因でミヤマヤナギの成長が異なるという結果になったのか、あるいはミヤマヤナギの成長が異なることが原因で異なる外生菌根菌が共生する結果となったのかを特定することはできない。植栽した実生に形成された菌根菌の種数によっても成長に差が見られたが、異なる菌根菌群集が実生の成長差の原因なのか結果なのかを断言することはできない。こうした点を明らかにするには、接種試験を行うことが有効であるが、そのためには個々の外生菌根菌を単離する必要がある。

本章では、一次遷移の初期過程で見られた外生菌根菌群集の成立要因を探るために必要な、また個々の外生菌根菌の持つミヤマヤナギへの成長促進作用を明らかにするため

に必要となる、多種多様な外生菌根菌の培養菌株の収集を行うことを目的とする。そこで、富士山の一次遷移地ならびに周辺の多様な森林を中心に菌根性子実体の収集と単離を行った。さらに、得られた菌株とミヤマヤナギとの親和性を知ることが目的とし、ミヤマヤナギへの接種試験を行った。

材料と方法

子実体等の採集

子実体収集は、富士山の様々な植生遷移段階で見られる外生菌根菌を中心に行った。その他にも、北は福島県から南は小笠原や奄美大島まで、植生的には照葉樹林から落葉広葉樹林、針葉樹林まで、幅広い樹種の森林から収集を行った。子実体は、地上生のものはもちろんであるが、地中に子実体を形成するいわゆる地下生菌も対象にした。採集した子実体のほとんどは、採集データとともに形態的特徴を記録した。分類学的再評価やDNA分析のため、ほとんどの子実体を、真空乾燥機で乾燥させた後、標本として保管した。胞子や菌糸構造などを光学顕微鏡や電子顕微鏡で観察し、正確な同定につとめた。同定に際しては、Guzman (1970)、Breitenbach & Kränzlin (1984, 1986, 1991, 1995, 2000)、本郷 & 今関 (1987, 1989)、Stangl (1989)、Brandrud *et al.* (1990-1998)、Mueller (1992)、Pegler *et al.* (1993)、Lannoy & Estades (1995)、Pegler *et al.* (1995)、Sarnari (1998)、Montecchi & Sarasini (2000)、Ladurner & Simonini (2003) を参考にした。

また、ミヤマヤナギとアカマツからは、菌根や菌核もサンプリングし、分離に供した。

外生菌根菌の分離

地上生の子実体で大型のものは傘を手で割った後、内部組織を火炎滅菌したピンセットで引きちぎって培地上に置いた。地上生で小型の子実体は未熟なヒダ組織、できれば傘が開く前のヒダから、火炎滅菌したピンセットで1mm四方程度をちぎって培地上に置いた。地下生菌は、内部にふれないように分割した後、グレバ組織を火炎滅菌したピンセットやメスで切り出し、分離に用いた。菌核や菌根からの分離は、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液で30秒から2分程度表面殺菌したものを、滅菌蒸留水で十分洗浄した後、適宜切断して、培地上に置いた。

分離用の培地は、MMN培地 (Marx 1969) に塩酸テトラサイクリンを30 mg/L添加した寒天プレート (1.5%) を主に用いた。十分な量のサンプルがある場合、一つのプレートに6反復程度の子実体分離操作を行い、分離組織片ができるだけ等間隔になるように培地上に置いた。1つの菌種について2~5プレートを分離に使用した。分離に使用したプレートは、25°Cの恒温機中に保管し、操作後2週間程度まではほぼ毎日観察し、明らかに雑菌のコンタミと思われるものが一部の反復から見られた場合は、残りの分離組織片を新しいプレートに移した。菌糸が十分伸長した段階で菌糸の検鏡を行い、菌糸構造やクランプコネクションの有無、セプタの形状などを観察し、目的の菌と思われるものは菌株として登録した。必要に応じて、親和性のある宿主へ接種試験を行って菌根形成を確認したり、rDNAのITS領域の塩基配列などを調べて子実体との照合およびDDBJ/EMBL/GenBankに登録された配列との相同性確認を行った (第3章参照)。得られたそれぞれの菌株は、25°Cまたは20°Cの複数の恒温機に分けて保管し、およそ3ヶ月ごとに継代培養を

行った。継代用の培地には、抗生物質を含まない MMN 寒天プレートを用いた。

接種実験用の植物

ミヤマヤナギの種子は、2001年と2002年の6月下旬から7月上旬にかけて、富士山須走口五合目付近で採取した。採取した種子は風乾後、5 mm と 1 mm の篩を使って不純物を取り除き、密封した容器に入れ冷蔵保存した。種子は、水道水でよく洗浄した後、オートクレーブ（121°C、180 min.）した土壌（田無苗畑土：芝の芽土=1:1）を入れたプランターに播種した。発芽した実生は人工気象室（25°C、16h/8h = day/night）で約1ヶ月間栽培した。

ミヤマヤナギへの外生菌根菌接種

接種方法は基本的に奈良・宝月（1996）に従って行った。接種源となる菌系は25mlのMMN寒天培地を入れたポリスチレン角形シャーレ（140×100×15.5mm）中で2ヶ月間培養した。その角形シャーレの長辺が縦になるように置き、上端を切り落としてオーブントップの根箱を作成し、1ヶ月間育苗した実生5本を菌叢の上に置いた後、オートクレーブした土壌を充填した。1つの菌株あたり4反復の接種を行った。人工気象室（300 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 25°C, 15 h/9 h = day/night）で約6ヶ月間栽培した後、肉眼でも明瞭に識別できる発達した菌根が形成されたものを「菌根を形成した」ものとみなした。

結果

収集した外生菌根菌の培養菌株

平成15年10月現在、合計で105種（未同定種を含む）、130菌株を収集できた（表5-1）。この中には、同定されているもののみで9目24科35属の菌を含んでいる（Kirk *et al.* 2001の分類体系に基づく）。菌核から分離したものと一部の未成熟な地下生菌はその分類学的位置が不明であるが、子実体の形態や培養菌叢が上述した35属とは異なる。また、地下生菌・半地下生菌は同定されているものだけで7目12科17属に及ぶ。*Rhizopogon* や *Hymenogaster* については未同定菌の数が多く、こうした未同定種も含めると地下生・半地下生菌の種数は55種になる。

富士山の一次遷移初期過程に見られた菌種（第2，3章）からは、すべての first-stage fungi と second-stage fungi を含む15種20菌株を、子実体および菌根（*Tomentella* sp.1）、菌核（*Cenococcum geophilum*）から分離した。

収集した菌株の培地上での成長速度は大きく異なる（表5-1）。MMN培地上での4ヶ月間の直径成長は *Richoniella* sp.1 が5mm、キヌハダトマヤタケが10mmと非常に遅かった。*Hymenogaster* 属や *Stephanospora* 属の各菌も成長は悪かった。これに対し、*Cenococcum* 属、コツブタケ属（*Pisolithus*）、ショウロ属（*Rhizopogon*）、ニセショウロ属（*Scleroderma*）、ヌメリイグチ属（*Suillus*）などの各菌種の成長は早かった。

ミヤマヤナギとの親和性

接種に用いた78菌株中、ミヤマヤナギと菌根を形成したものは36菌株（26種）であった（表5-1）。富士山のミヤマヤナギから分離した菌株の内、接種に用いた20菌株では、

表 5-1 Data of isolated ectomycorrhizal fungal strains and their compatibility with *Salix reinii*.

Species	Japanese names	Strain names	Locations	Hosts	Dates of isolation	Mycelial growth on MMN agar plates (mm, 4 months)	ECM formation with <i>Salix reinii</i>	Sporocarp specimens	Remarks
<i>Amanita pantherina</i>	テンゲタケ	テンゲタケ	静岡県御殿場市	コナラ	9/17/00	80	○	あり	
<i>Amanita rubescens</i>	ガンタケ	ガンタケ	愛知県稲武町	モミ	不明	50	○	なし	
<i>Amanita virginoides</i>	シロオニタケ	シロオニタケ	千葉県天津小湊町	不明 (広葉樹)	8/20/99	60	○	なし	
<i>Boletus covipes</i>	アミハナイグチ	アミハナイグチ	富士山御殿場口	カラマツ	8/30/00	60	×	なし	
<i>Boletus rubellus</i>	コウジタケ	コウジタケ	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	8/1/01	30	×	あり	
<i>Boletus rubellus</i>	コウジタケ	コウジタケ (赤)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	8/9/01	30	×	あり	
<i>Boletus pulverulentus</i>	イロガワリ	イロガワリ	静岡県御殿場市	コナラ	8/15/01	35	×	あり	
<i>Boletus pulverulentus</i>	イロガワリ	イロガワリ (ヤナギ)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	8/21/02	30	-	あり	
<i>Boletus reticulatus</i>	ヤマドリタケモドキ	ヤマドリタケモドキ	静岡県御殿場市	コナラ	9/17/00	65	○	あり	
<i>Boletus subomentosus</i>	アワタケ	アワタケ	静岡県御殿場市	カラマツ	8/15/01	>90	○	あり	
<i>Cortinarius decipiens</i>	カワムラフウセンタケ	カワムラフウセンタケ	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/19/02	25	-	あり	
<i>Cortinarius purpurascens</i>	カワムラフウセンタケ	カワムラフウセンタケ	静岡県御殿場市	コナラ	9/28/01	45	○	あり	
<i>Cortinarius sp.3</i>	フウセンタケ属 sp.3	フウセンタケ属 sp.3	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/7/01	20	×	あり	
<i>Cortinarius sp.4</i>	フウセンタケ F156	フウセンタケ F156	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	10/31/01	50	○	あり	
<i>Enoloma sp.1</i>	Enoloma sp.	Enoloma sp.	富士山御殿場口	ヤマハンノキ	8/27/02	70	-	あり	
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>	コツブオオワカフサタケ	コツブオオワカフサタケ	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/5/01	25	○	あり	
<i>Hebeloma leucosax</i>	Hebeloma leucosax (139)	Hebeloma leucosax (139)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/15/01	30	○	あり	
<i>Hebeloma leucosax</i>	ワカフサタケ	ワカフサタケ	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/27/00	35	○	あり	
<i>Hebeloma mesophaeum</i>	ワカフサタケ	ワカフサタケ	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	10/28/00	25	○	あり	
<i>Hebeloma mesophaeum</i>	ワカフサタケ	ワカフサタケ	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/15/01	25	○	あり	
<i>Hebeloma pusillum</i>	ワカフサタケ (101)	ワカフサタケ (101)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/20/01	25	○	あり	
<i>Inocybe lacera</i>	クロトマヤタケ	クロトマヤタケ (83)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	8/9/01	30	○	あり	
<i>Inocybe lacera</i>	クロトマヤタケ	クロトマヤタケ (F143)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	8/15/01	25	○	あり	
<i>Inocybe rimosa</i>	キヌハダトマヤタケ	キヌハダトマヤタケ	東京都西東京市	アカマツ	10/9/02	10	-	あり	
<i>Laccaria amethystina</i>	ウラムラサキ	ウラムラサキ (F13)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	7/12/00	50	○	あり	
<i>Laccaria laccata</i>	キツネタケ	キツネタケ	静岡県御殿場市	ミヤマヤナギ	8/20/00	55	○	あり	
<i>Laccaria laccata</i>	キツネタケ	キツネタケ 2	静岡県御殿場市	カラマツ	9/5/01	40	○	あり	
<i>Laccaria murina</i>	ギンコタケ	ギンコタケ (90-1)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/20/01	20	○	あり	
<i>Laccaria murina</i>	ギンコタケ	ギンコタケ (F142)	静岡県御殿場市	アカマツ・クロマツ	8/15/01	30	○	あり	
<i>Laccaria murina</i>	ギンコタケ	ギンコタケ (外)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/5/01	35	○	あり	
<i>Lactarius abietinus</i>	アカハツ	アカハツ	静岡県御殿場市	カラマツ	9/17/00	35	×	あり	
<i>Lactarius flavidulus</i>	キハツタケ	キハツタケ	静岡県御殿場口	不明 (広葉樹)	10/9/00	35	×	あり	
<i>Lactarius hatsudake</i>	ハツタケ	ハツタケ 1	東京都西東京市	アカマツ	1996.??	35	×	なし	
<i>Lactarius hatsudake</i>	ハツタケ	ハツタケ 2	静岡県御殿場市	カラマツ	9/17/00	25	×	あり	
<i>Lactarius laeticolor</i>	アカモミタケ	アカモミタケ	埼玉県大漕村	モミ	不明	70	×	なし	
<i>Lecanum scabrum</i>	ヤマイグチ	ヤマイグチ	富士山御殿場口	ダケカンバ	9/27/00	40	×	あり	
<i>Nauoria sp.1</i>	スナヤマチャワロンタケ	Nauoria F162	茨城県東海村	ヤマハンノキ	9/24/02	50	-	あり	
<i>Peziza ammophila</i>	アカハハイロタケ	アカハハイロタケ	静岡県稲武町	カラマツ	12/15/02	55	○	あり	*1
<i>Russula compeia</i>	ニオイコベニタケ	ニオイコベニタケ	愛知県稲武町	モミ	不明	45	-	なし	
<i>Russula muriae</i>	ニオイコベニタケ	ニオイコベニタケ	東京都西東京市	カラマツ	不明	45	×	なし	

Species	Japanese names	Strain names	Locations	Hosts	Dates of isolation	Mycelial growth on MMN agar plates (mm/4 months)	ECM formation with <i>Salix reinitii</i>	Sporocarp specimens	Remarks
<i>Russula pectinatoides</i>	ニセウグサハツ	ニセウグサハツ	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	8/20/00	40	○	あり	
<i>Russula sanguinaria</i>	チシオハツ	チシオハツ	静岡県御殿場市	クロマツ	10/18/00	75	×	あり	
<i>Russula vororia</i>	キチャハツ	キチャハツ	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	8/20/00	55	○	あり	*1
<i>Russula violipes</i>	ケシヨウハツ	ケシヨウハツ1	愛知県稲武町	モミ	不明	50	○	なし	
<i>Russula violipes</i>	ケシヨウハツ	ケシヨウハツ2	東京都西東京市	スタジイ	7/3/00	50	○	なし	*2
<i>Suillus bovinus</i>	アミタケ	アミタケ1	広島県加計町	アカマツ	不明	60	×	なし	*2
<i>Suillus bovinus</i>	アミタケ	アミタケ2	広島県加計町	アカマツ	不明	90	×	なし	*2
<i>Suillus bovinus</i>	アミタケ	アミタケ3	静岡県御殿場市	クロマツ	9/17/00	65	×	あり	
<i>Suillus granulatus</i>	チチアワタケ	チチアワタケ1	山梨県山中湖村	アカマツ	9/20/98	55	×	なし	
<i>Suillus granulatus</i>	チチアワタケ	チチアワタケ2	静岡県御殿場市	クロマツ	8/15/01	75	×	あり	
<i>Suillus grevillei</i>	ハナイグチ	ハナイグチ	富士山吉田口	クロマツ	9/20/99	>90	○	なし	
<i>Suillus grevillei</i>	ハナイグチ	ハナイグチ2	静岡県御殿場市	アカマツ	10/9/00	50	×	あり	
<i>Suillus luteus</i>	シロヌメリイグチ	シロヌメリイグチ	静岡県御殿場市	アカマツ	9/17/00	70	×	あり	
<i>Suillus luteus</i>	ヌメリイグチ	ヌメリイグチ1	東京都西東京市	アカマツ	1996.?.?	65	×	なし	
<i>Suillus luteus</i>	ヌメリイグチ	ヌメリイグチ2	静岡県御殿場市	クロマツ	8/20/00	85	×	あり	
<i>Suillus speciosus</i>	キノボリイグチ	キノボリイグチ	富士山御殿場口	アカマツ	10/9/00	40	○	あり	
<i>Tricholoma matsudake</i>	アカゲシメジ	アカゲシメジ	静岡県御殿場市	クロマツ	10/18/00	35	×	あり	
<i>Tricholoma matsudake</i>	マツタケ	マツタケ	宮城県内	アカマツ	不明	35	×	なし	
<i>Tricholoma imbricatum</i>	ハエトリシメジ	ハエトリシメジ	千葉県天津小湊町	不明 (広葉樹)	8/20/99	60	×	なし	
<i>Tricholoma matsudake</i>	カラマツシメジ	カラマツシメジ	富士山御殿場口	カラマツ	10/3/02	30	-	あり	
<i>Tricholoma psammopus</i>	アイシメジ	アイシメジ	富士山御殿場口	不明 (広葉樹)	10/9/00	40	×	なし	
<i>Tricholoma sejunctum</i>	ヌメリイグチ	ヌメリイグチ	富士山御殿場口	不明 (広葉樹)	10/9/00	45	○	あり	
<i>Tylopilus castaneiceps</i>	ニガイグチモトキ	ニガイグチモトキ	静岡県御殿場市	コナラ	9/17/00	45	×	あり	
<i>Tylopilus neofolius</i>	オウケヤマイグチ	オウケヤマイグチ	東京都西東京市	スタジイ	9/19/01	45	×	あり	
<i>Tylopilus rigens</i>									
地下生・半地下生									
<i>Alpova</i> sp.1		Alpova	富士山御殿場口	ミヤマハンノキ	8/27/02	60	-	あり	
<i>Alpova</i> sp.2		Alpova K93	福島県川内村	ヤマハンノキ	7/27/03	-	-	あり	
<i>Ascreus hygrometricus</i>	ツチグリ	ツチグリ1	千葉県天津小湊町	不明 (広葉樹)	8/20/99	30	○	なし	
<i>Ascreus hygrometricus</i>	ツチグリ	ツチグリ2	神奈川県逗子市	クロマツ	7/27/02	65	-	あり	
<i>Elaphomyces granulatus</i>	ツチダンゴ	ツチダンゴ K87	宮城県内	不明 (広葉樹)	7/10/03	-	×	あり	
<i>Elaphomyces granulatus</i>	ツチダンゴ	ツチダンゴ N22	富士山須走口	シラハ	7/9/03	-	-	あり	
<i>Elaphomyces</i> sp.1		Elaphomyces K75	鹿児島県宇検村	シイ類	1/5/03	60	-	あり	
<i>Gautiera</i> sp.1		Gautiera K45	神奈川県伊勢原市	スタジイ	10/22/02	50	-	あり	
<i>Gastrum</i> sp.1		Gastrum K36	東京都港区	ユークリ	10/1/02	20	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.1		Hymenogaster K35	東京都港区	マテハンシイ・スタジイ	10/1/02	35	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.2		Hymenogaster K23	神奈川県座間市	シラカシ	7/27/02	25	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.3		Hymenogaster K33	神奈川県栗山町	マテハンシイ	9/29/02	25	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.4		Hymenogaster K42	神奈川県秦野市	クスギ・コナラ	10/5/02	25	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.5		Hymenogaster K48	神奈川県葉山町	アラカシ・スタジイ	11/2/02	20	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.6		Hymenogaster K49	神奈川県葉山町	アラカシ・スタジイ	11/2/02	20	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.7		Hymenogaster K60	東京都江東区	マテハンシイ	11/24/02	25	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.8		Hymenogaster K62	東京都江東区	マテハンシイ	11/24/02	15	-	あり	

Species	Japanese names	Strain names	Locations	Hosts	Dates of isolation	Mycelial growth on MMN agar plates (mm/4 months)	ECM formation with <i>Sclz retzii</i>	Sporocarp specimens	Remarks
<i>Hymenogaster</i> sp.9		Hymenogaster K71	神奈川県大和市	シラカシ	12/7/02	25	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.10		Hymenogaster N16	静岡県御殿場市	ミスラナ	10/23/02	20	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.11		Hymenogaster N21	富士山須走口	ダケカンバ	7/9/03	-	-	あり	
<i>Hymenogaster</i> sp.12		Hymenogaster K01	神奈川県相模原市	マテバシイ	10/23/01	25	×	あり	
<i>Hysterangium</i> sp.1		Hysterangium K95	福島県川内村	ミスナラ	7/27/03	20	-	あり	
<i>Hysterangium</i> sp.2		Hysterangium K96	福島県川内村	ミスナラ	7/27/03	-	-	あり	
<i>Kobayashia nipponica</i>	シラタマタケ	シラタマタケ	東京都葛飾区	アカマツ (コナラ)	10/10/00	50	×	あり	
<i>Melanogaster intermedius</i>	アカダマタケ	アカダマタケ	長野県内	ミスナラ	10/15/01	>90	×	あり	
<i>Ocaviania columellifera</i>	ジャガイモタケ	ジャガイモタケ1	神奈川県津川村	モミ	10/31/01	45	×	あり	
<i>Ocaviania columellifera</i>	ジャガイモタケ	ジャガイモタケ2	神奈川県津川村	モミ	10/31/01	25	×	あり	
<i>Ocaviania</i> sp.1		Ocaviania K52	山梨県河口湖町	アカマツ・カラマツ	11/4/02	25	-	あり	
<i>Ocaviania</i> sp.2		Ocaviania N14	東京都八王子市	アラカシ	10/12/02	10	-	あり	
<i>Pisolithus albus</i>		Pisolithus albus	タイ王国	ユーカリ	不明	75	-	なし	
<i>Pisolithus</i> sp.		コツブタケ K26	奄美大島宇佐村	リュウキユウマツ	9/22/02	45	-	あり	
<i>Pisolithus</i> sp.4	コツブタケ	コツブタケ1	福島県内	アカマツ	不明	>90	○	なし	*3
<i>Pisolithus</i> sp.4	コツブタケ	コツブタケ2	滋賀県大津市	アカマツ	不明	60	○	なし	
<i>Prouberella borealis</i>	ニカワシヨウロ	ニカワシヨウロ1	神奈川県川崎市	メタセコイア	11/5/01	85	×	あり	
<i>Prouberella</i> sp.1		ニカワシヨウロ2	鹿児島県宇佐村	シイ類	6/15/02	85	-	あり	
<i>Rhizopogon rubescens</i>	シヨウロ	シヨウロ1	不明	クロマツ	不明	65	×	なし	*3
<i>Rhizopogon rubescens</i>	シヨウロ	シヨウロ2	茨城県波崎町	クロマツ	11/27/01	65	×	あり	
<i>Rhizopogon superiorensis</i>	アカシヨウロ	アカシヨウロ	鹿児島県名瀬市	リュウキユウマツ	9/23/02	65	-	あり	
<i>Rhizopogon truncatus</i>		Rhizopogon K100	福島県川内村	アカマツ	7/28/03	65	-	あり	
<i>Rhizopogon</i> sp.1		Rhizopogon K101	福島県川内村	アカマツ・モミ	7/28/03	-	-	あり	
<i>Rhizopogon</i> sp.2		Rhizopogon K102	福島県いわき市	クロマツ	7/26/03	-	-	あり	
<i>Rhizopogon</i> sp.3		Rhizopogon K24	鹿児島県宇佐村	リュウキユウマツ	9/22/02	50	-	あり	
<i>Rhizopogon</i> sp.4		Rhizopogon K27	鹿児島県名瀬市	リュウキユウマツ	9/23/02	55	-	あり	
<i>Rhizopogon</i> sp.5		Rhizopogon K98	福島県川内村	アカマツ	7/27/03	-	-	あり	
<i>Rhizopogon</i> sp.6		Rhizopogon K99	福島県川内村	アカマツ	7/28/03	-	-	あり	
<i>Richoniella</i> sp.1		Richoniella K50	神奈川県葉山市	アラカシ・スタジイ	11/2/02	5	-	あり	
<i>Scleroderma areolatum</i>	ヒメタカシヨウロ	ヒメタカシヨウロ	東京都葛飾区	ミスナラ	10/9/02	60	-	あり	
<i>Scleroderma bovista</i>	ハマニセシヨウロ	ハマニセシヨウロ (136/2)	富士山御殿場口	ミヤマヤナギ	9/6/00	50	○	あり	
<i>Scleroderma bovista</i>	ハマニセシヨウロ	ハマニセシヨウロ (9)	静岡県御殿場市	クロマツ	9/6/00	50	○	あり	
<i>Scleroderma citrinum</i>	ニセシヨウロ	ニセシヨウロ	茨城県波崎町	クロマツ	11/27/01	90	○	あり	
<i>Scleroderma flavidum</i>	ウスキノセシヨウロ	ウスキノセシヨウロ K28	滋賀県朽木村	メタセコイア	9/21/02	75	-	あり	
<i>Scleroderma verrucosum</i>	シヨウロタマシ	シヨウロタマシ2	神奈川県相模原市	マテバシイ	10/23/01	40	×	あり	
<i>Scleroderma verrucosum</i>	シヨウロタマシ	シヨウロタマシ3	神奈川県相模原市	マテバシイ	10/23/01	35	×	あり	
<i>Scleroderma</i> sp.1		<i>Scleroderma</i> sp.	神奈川県伊豆町	フタバガキ	不明	15	-	なし	*2
<i>Stephanospora</i> sp.1		<i>Stephanospora</i> N17	静岡県御殿場市	アカマツ	10/23/02	45	-	あり	
<i>Stephanospora</i> sp.2		<i>Stephanospora</i>	神奈川県伊勢原市	スタジイ	11/19/01	15	×	あり	
<i>Tuber</i> cf. <i>borchii</i>		<i>Tuber borchii</i> (シラカシ)	神奈川県相模原市	シラカシ	7/27/02	20	-	あり	
<i>Tuber borchii</i>		<i>Tuber borchii</i> K85	神奈川県相模原市	イヌシデ	7/5/03	-	-	あり	
<i>Tuber indicum</i>	イボセイヨウシヨウロ	イボセイヨウシヨウロ	神奈川県秦野市	コナラ・アカガシ	10/26/02	20	-	あり	

Species	Japanese names	Strain names	Locations	Hosts	Dates of isolation	Mycelial growth on MMN agar plates (mm /4 months)	ECM formation with <i>Salix reinii</i>	Sporocarp specimens	Remarks
<i>Unknown</i> sp.1		K91	神奈川県香取市	コナラ・クスギ	7/15/03	-	-	あり	
<i>Unknown</i> sp.2		K97	福島県川内村	ミスナラ・アカマツ	7/27/03	-	-	あり	
菌根・菌核									
<i>Cenococcum geophilum</i>		<i>Cenococcum geophilum</i>	鳥取県鳥取市	クロマツ	不明	>90	○	なし	菌核
<i>Cenococcum geophilum</i>		<i>Cenococcum geophilum</i> 2	富山県御膳場口	ミヤマヤナギ	12/7/01	80	○	なし	菌核
<i>Tomentella</i> sp.1		<i>Tomentella</i>	富山県御膳場口	ミヤマヤナギ	10/3/02	45	-	なし	菌核
<i>Unknown</i> sp.3		K63	東京都江東区	マテバシイ	11/24/02	90	-	あり	菌核
<i>Unknown</i> sp.4		T1	東京都西東京市	アカマツ	1998.?.?	65	×	なし	菌核

*1 松田陽介博士より分譲

*2 松下龍久博士より分譲

*3 森林総合研究所より分譲

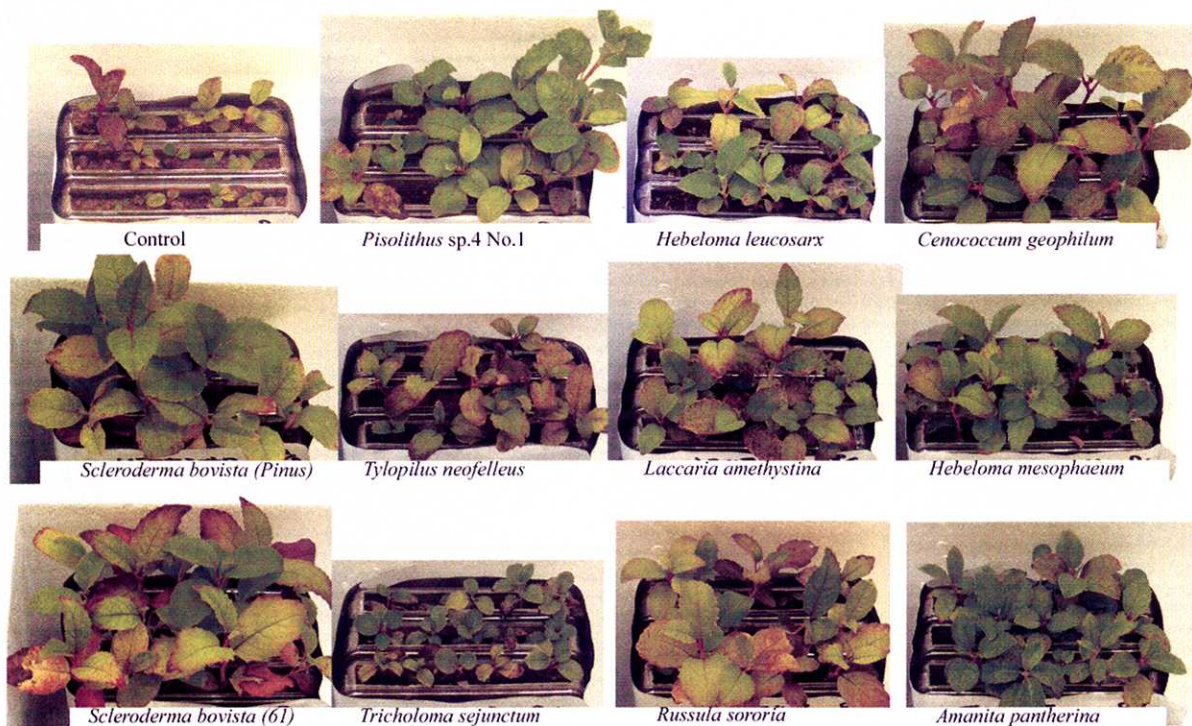


図5-1. The growth of *Salix reinii* seedlings promoted by ectomycorrhizal formation three months after inoculation.

Control、*Tylopilus neofelleus*、*Tricholoma sejunctum*は菌根を形成しなかったが、それ以外は全て菌根を形成し、成長が著しく促進されている。

コウジタケ2系統とフウセンタケ属 sp.3を除く、17菌株が菌根を形成した。その他では、ミヤマヤナギ以外の広葉樹から分離されたシロオニタケ、ガンタケ、テングタケ、ヤマドリタケモドキ、ケショウハツ、マツから分離したコツブタケ2系統、ギンコタケ、ハマニセショウロ、ニセショウロ、*C. geophilum*などが菌根を形成した。カラマツから分離したハナイグチ1系統とキノボリイグチも菌根を形成した。

接種から3ヶ月後には、菌根を形成した菌種区は菌根を形成しなかった菌種区に比べてミヤマヤナギの成長が促進される傾向が観察されたが(図5-1)、6ヶ月後にはミヤマヤナギ実生の成長差は見られなくなった。

子実体の形成

外生菌根菌の接種から数ヶ月経過すると、子実体が形成されるものがいくつか確認された。クロトマヤタケ、キツネタケ、ウラムラサキといった富士山の一次遷移初期過程に first-stage fungi として出現する菌種全てにおいて、子実体の発生が確認できた(図5-2)。ハマニセショウロも子実体を形成したが、富士山のフィールドで見られるサイズよりも著しく小さな子実体であった。これらの子実体には、いずれも成熟した胞子が形成されていた(図5-3)。

考察

外生菌根菌の分離

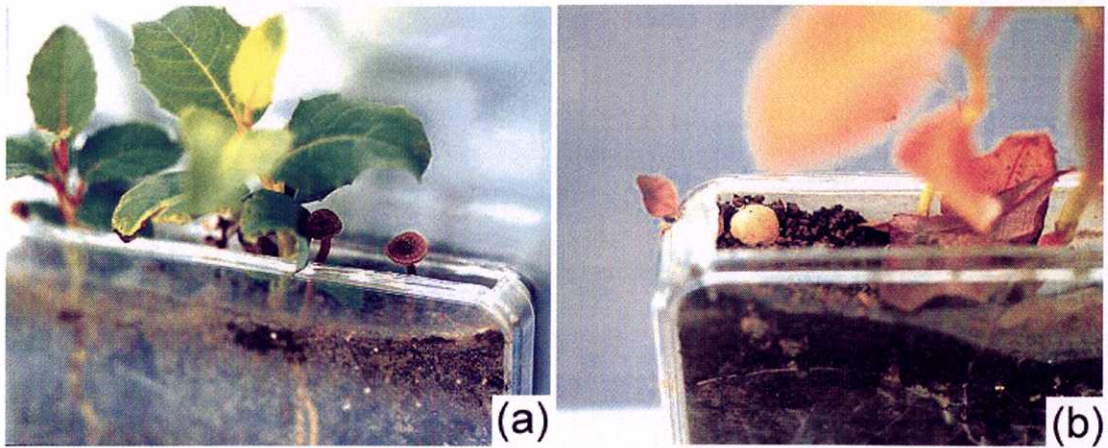


図 5-2. Ectomycorrhizal sporocarps formed *in vitro* in association with *Salix reinii* seedlings.
(a) *Inocybe lacera* (クロトマヤタケ)、(b) *Scleroderma bovista* (ハマニセシヨウロ)

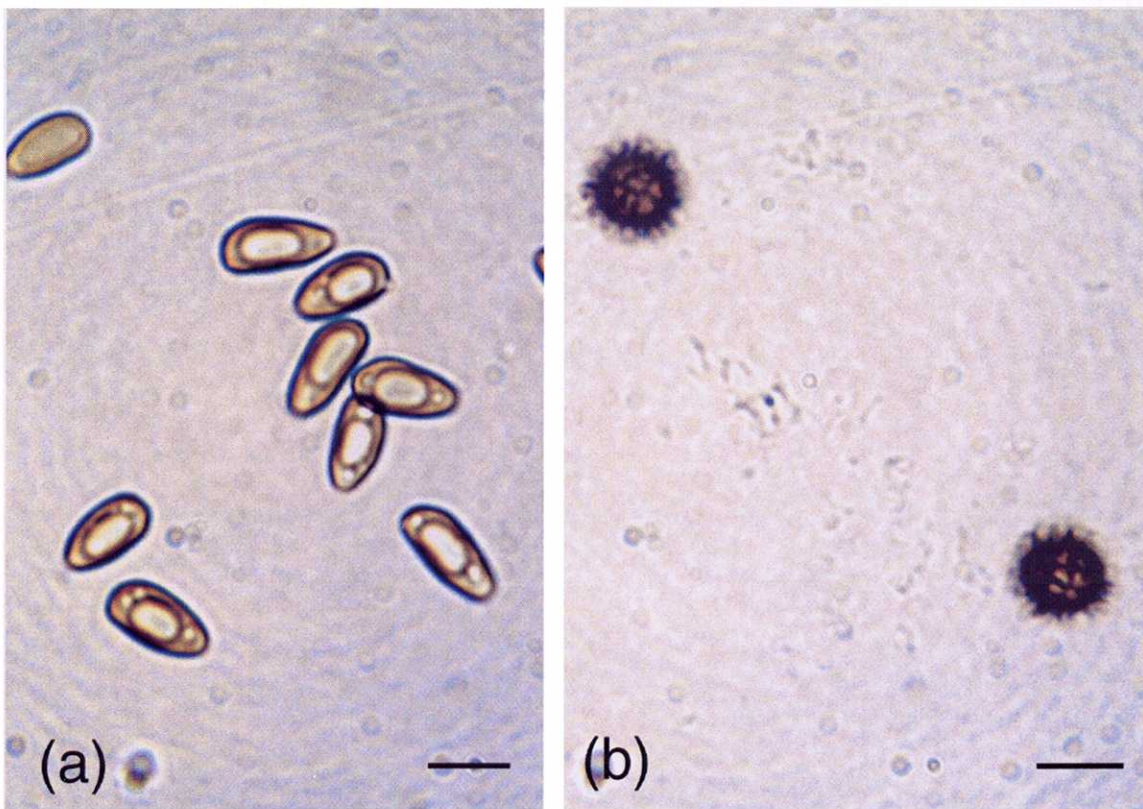


図 5-3. Basidiospores on the sporocarps formed during an *in vitro* inoculation experiment.
(a) *Inocybe lacera* (クロトマヤタケ)、(b) *Scleroderma bovista* (ハマニセシヨウロ)
Scale bars = 10 μ m

多くの外生菌根菌は、いわゆるキノコと呼ばれる子実体を形成する。子実体は、菌糸組織が凝集して形成されたものであり、その組織から菌を分離することが行われる（青島ら 1983, Brundrett *et al.* 1996, 根田 1997）。子実体の胞子を発芽させることによって分離が行われているが、外生菌根菌の胞子発芽率は低いことから、それほど多くは用いられない（Fries 1978, 1987）。大型の子実体であれば、菌種や状態にもよるが、子実体の内部組織に雑菌やバクテリアのコンタミも少なく、分離の成功率は高い。小型の子実体は、空気に触れていない部分が小さいため、雑菌などの付着していない子実体組織を得るのは困難な場合が多く、分離の成功率は低くなりがちである。しかし、分離に用いる培地に抗生物質を添加することにより、成功率を高めることができる（Brundrett *et al.* 1996）。本研究でも、培地上に抗生物質を添加することにより、バクテリアの混入を抑え、小型の子実体からの単離の効率を飛躍的に上げることができた。

分離は地下部の菌根から行うことも可能である。菌根表面は土壤細菌などによって汚染されているが、菌根の内部組織にはそれほど雑菌が見られないことから、通常、表面殺菌の後、菌根を切断して培地上に置くことによって分離が行われる（Brundrett *et al.* 1996, 山田 2001）。菌根は年間を通して存在していることから、時期を選ばず分離作業が行える点が大きな利点である。一方、子実体からよりも雑菌の汚染が多く、得られた菌株が目的のものであるかどうか確かめるためには、顕微鏡による観察の他、接種実験や DNA 解析を行う必要がある。本研究でも、ミヤマヤナギの菌根から *Tomentella* sp. を分離し、DNA 解析によってそれを確認した（第 3 章）。

その他、*C. geophilum* などの一部の外生菌根菌は、発達した菌核を形成することから、そこから分離することもできる（Trappe 1969）。本研究でも、ミヤマヤナギ下から採取した菌核を用いて分離に成功した。

いったん菌糸が伸長して菌株が得られたとしても、その菌株を維持し続けるのは困難なことが多い。外生菌根菌の保存には、培養器をそのまま冷蔵したり、グリセリンに浸潤させて冷蔵したり、純水中に培養寒天片を入れた後冷蔵したり、液体窒素中に凍結保存したりと様々である（Heinonen-Tanski & Holopainen 1991）。こうした保存方法を用いても、外生菌根菌の菌株の維持は困難なことが多い。そこで、比較的短い期間（1ヶ月から数ヶ月）での植継ぎを行って維持するのが一般的である（Brundrett *et al.* 1996）。本研究でも、3ヶ月ごとの植継ぎを行うことにより、単離した菌株のほとんどを長期間にわたって維持することができている。ただし、クロトマヤタケなどの一部の菌種では、植え替えを長期間行うことによって菌叢の変化が見られたことから、菌株の保管方法にはさらなる検討が必要であろう。

多種多様な外生菌根菌の培養菌株

今回分離できた菌種以外にも、数多くの菌種から分離を試みたが、ウスタケ属、アンズタケ属、カノシタ属、オウギタケ属等の地上生子実体、アオゾメクロツブタケ属、*Leucogaster* 属、*Hydnobolites* 属、*Glomus* 属、*Endogone* 属、*Sclerogaster* 属等の地下生菌はいずれも分離することができなかった。また、今回分離することができたベニタケ属やチチタケ属、テングタケ属の中にも、培地中での菌糸成長が全く見られなかったために分離できなかったものが多く存在した。これに対してヌメリイグチ属やコツブタケ属、ニ

セショウロ属、ショウロ属等は100%分離が可能であった。つまり、分離培養の容易さは属レベルで決定される部分もあるが、同一属内でも種によって異なる。

収集した菌株の中には、学術的に貴重なものが多数含まれている。例えば、*Inocybe*属の菌である。*Inocybe*は熱帯から寒帯まで地球上のあらゆる森林で見られる極めて普遍的な属である。従来、*Inocybe*属の菌は培養が不可能、あるいは非常に難しいと考えられてきた。しかし、今回2種の*Inocybe*属菌を分離培養することに成功した。なかでも、富士山の一次遷移初期過程から分離したクロトマヤタケ (*Inocybe lacera*) の菌株は、培地上での成長もよく、さらに接種実験によって菌根形成と子実体の再形成も確認することができた。クロトマヤタケは、*Inocybe*属の中でも最も一般的に見られる種の一つであり、全世界に分布することが知られている。今回得られたクロトマヤタケの菌株は、この種あるいはこの属の生物学的特徴や生理・生態学的機能を解明する上で、大いに貢献するものと考えられる。

今回、数多くの地下生菌の菌株が得られたのも大きな収穫である。地下生菌は形態的特徴が乏しい上に、日本での記載がほとんどなされていない。このため、収集した *Hymenogaster*属や *Rhizopogon*属菌の多くが未同定種となっており、得られた菌株の解析が菌種の同定に貢献する可能性がある。さらに、同定の未完成さは別にしても、*Alpova*や *Hysterangium*, *Richoniella*, *Stephanospora*属については、この属自体の記録が日本ではない上、新種として記載できるものも多数含まれる。また、*Rhizopogon truncatus* や多くの *Hymenogaster*属菌、*Octavianina*属の2種も日本での記載はなく、貴重な菌株であろう。地下生菌の属は菌根性のものが大部分であるといわれており、地下部菌根菌群集において地下生菌が優占しているという報告もある (Baar *et al.* 1999)。しかし、経済的価値の高い *Tuber*と、培養の容易な *Rhizopogon*を除くと、地下生菌の菌株とそれを利用した研究は世界的に見ても非常に少ない。今回得られた菌株が、今後の地下生菌の生物学的研究に役立てば幸いである。

富士山の火山荒原では、優占先駆樹種が、ミヤマヤナギからダケカンバ、カラマツ、場所によってはミヤマハンノキへと遷移し、次いで徐々に標高別の極相樹種へと遷移していく (Ohsawa 1984)。収集した菌株の多くはこうした富士山の植生遷移に沿って採集したものである。特に、遷移初期に現れるほとんどの外生菌根菌 (第2, 3章参照) を分離したのに加え、カラマツやダケカンバ、ミヤマハンノキ、アカマツ、シラベ、ミズナラなど、多様な樹種から多くの菌株を得ることができた。これらの菌株は、富士山の植生遷移過程における外生菌根菌の役割を調べる上で、本研究はいうまでもないが、将来の研究でも大いに活用されるものと考えている。

外生菌根菌の宿主特異性

ミヤマヤナギ実生への接種実験では、富士山のミヤマヤナギから分離した20菌株の菌株のうち、17菌株が菌根を形成した。一方、他の樹種から分離した58菌株中では、19菌株が菌根を形成した。この割合の違いは、菌根菌の宿主特異性によるものであると考えられる。高山性矮性ヤナギからの外生菌根菌の分離と接種試験については、Graf & Brunner (1996) が2種の外生菌根菌を分離し、その内1種のみが外生菌根を形成したと報告している。しかし、今回のような網羅的な接種試験による宿主特異性の研究は、知

る限りにおいて前例がない。

野外の異なる樹種から根系をサンプリングすることにより、異樹種間で共通の菌根菌が見られることについてはいくつかの報告がある (e.g. Horton & Bruns 1998, Cullings *et al.* 2000)。そして、富士山の一次遷移初期過程でも、カラマツとダケカンバ実生に形成された外生菌根のほとんど全てが、ミヤマヤナギ成木に見られた菌種によるものであった (第4章)。こうしたことから、多くの外生菌根菌は明確な宿主特異性を示さず、広い宿主範囲を持つと考えられている。

多くの外生菌根菌が広い宿主範囲を示す一方、*Suillus*属の菌はマツ科樹木のみを宿主とすることが知られており、その中でもマツ属、カラマツ属、トガサワラ属が最も主要なものである (Dahlberg & Finlay 1999)。そして、ほとんどの *Suillus* 属菌は、特定のひとつの属の樹木にしか共生せず、宿主特異性が高いと考えられている。例えばハナイグチやアミハナイグチなどはカラマツ林にしか見られない菌種である。しかし、このようなカラマツ林にしか見られない菌種も、実験室における接種実験では、マツ属樹木やトガサワラ属、*Arbutus* 属や *Arctostaphylos* 属に菌根を形成することが知られている (Molina & Trappe 1982)。今回の接種実験において、マツやカラマツから分離した *Suillus* 属菌株の大部分はミヤマヤナギに菌根を形成しなかった。しかし、カラマツ林に特有な種であるキノボリイグチ (*Suillus spectabilis*) とハナイグチ (*Suillus grevillei*) が広葉樹であるミヤマヤナギに菌根を形成した。接種実験による宿主特異性の研究は条件の設定次第で結果が異なり、野外における宿主特異性と必ずしも一致するものではないことが指摘されている (Harley & Smith 1983)。しかし、今回の接種実験では、密閉しない容器で野外採取の土壌を使用しているため、かなり自然状態に近い環境である。そして、根箱全体にわたって発達した菌根が形成されていたことから、宿主と共生関係が成り立っているものと考えられた。こうしたことから、キノボリイグチとミヤマヤナギ、あるいはハナイグチとミヤマヤナギの共生が富士山のフィールドで実際に存在することも十分考えられる。

接種によって外生菌根を形成したミヤマヤナギは何も接種しない対照苗とくらべてその成長が当初は促進された。しかし、対照苗を見ても富士山の一次遷移初期過程で見られる当年生実生と比べると著しく大きかった。これは、用いた苗畑土壌が、富士山のスコリアとは比較にならないほど、豊富な養分を含むことに原因の一部があると思われる。さらに、接種源に含まれる養分も影響したと考えられる。富士山の一次遷移初期過程におけるミヤマヤナギの生育に及ぼす外生菌根菌の影響を正確に把握するためには、現地環境に則した実験、つまり現地の土壌を用いて接種源に養分をほとんど含まないような実験が必要であろう (第6章)。

子実体形成の菌種間差異

接種実験によって子実体を形成したごく一部の菌種の中に、富士山の一次遷移初期過程で first-stage fungi として最初に定着する菌種が全て含まれていた。火山荒原では外部からの胞子供給が限られているため、その場所でいち早く子実体を形成することは、胞子散布によって生息域を広げる際に有利であると考えられる。こうした特徴は、植生遷移の初期に出現するパイオニア植物がとる R 戦略と共通である (Grime 1979, 2001)。また逆に、子実体を形成しやすいという性質が、一次遷移の最初の段階に定着する菌として

の必要条件であるとも考えられる。

ハマニセシヨウロはsecond-stage fungiであり、first-stage fungiの後から侵入する菌種である。また、ハマニセシヨウロは、今回の接種実験によってfirst-stage fungi以外で子実体を形成した唯一の菌種であった。しかし、接種実験で見られたハマニセシヨウロ子実体は、富士山のフィールドで見られたような大型の子実体に成長することはなかった。火山荒原でのハマニセシヨウロの子実体重量はfirst-stage fungiの数十倍も大きく、宿主に多くの炭水化物を要求しているものと考えられる。接種実験に用いたような当年生の実生では、通常サイズのハマニセシヨウロ子実体が形成されるのに必要な炭水化物を供給できないのであろう。

first-stage fungi や second-stage fungi で子実体形成が見られたのに対し、late-stage fungi であるワカフサタケ属やベニタケ属では、子実体原基の形成も見られなかった。こうした結果から考えると、各菌種の子実体形成様式は、富士山の一次遷移初期過程における菌根菌の遷移様式を決める大きな要因であると考えられる。

第6章 根外菌糸体による外生菌根菌の感染が富士山火山荒原のミヤマヤナギ実生に及ぼす影響とその菌種特性

はじめに

未だに植生被度が10%にも満たない富士山火山荒原において、更に植生が回復するためには、新たな植物個体の定着が必要不可欠である。特に、ミヤマヤナギはこの火山荒原で最も優占する木本植物であり、全植生のおよそ2割を占める(第2章)。ミヤマヤナギは高山性の矮性ヤナギであり、個体の成長とともに被覆面積を広げる。また、既に定着したミヤマヤナギ成木に隣接した場所では実生の定着が促進され、複数のジェネットが融合することで被覆面積は更に広がる(Lian *et al.* 2003)。発達したミヤマヤナギ被覆の存在は、後遷移樹種であるカラマツやダケカンバの定着を促進する可能性もある(第4章)。こうしたことから、ミヤマヤナギ実生の新たな定着によるミヤマヤナギ被覆の発達は、一次遷移初期過程にあるこの火山荒原の植生回復や、森林形成へと向かう植生遷移において極めて重要である。

この火山荒原において、ミヤマヤナギの実生が単独で裸地に定着することはなく、植生パッチの縁部にのみ定着する。植生パッチの縁部では、不安定なスコリア土壌が安定化され、光環境や水分環境がミヤマヤナギ実生の定着に適切なのである。そして、実際の火山荒原で多くのミヤマヤナギ実生が見られるのは、ミヤマヤナギ成木を含む一部の植生パッチの縁部だけである。そこで、ミヤマヤナギ成木が実生の定着を促進する機構を詳しく調べるため、第4章ではミヤマヤナギ実生の植栽試験を行った。その結果、ミヤマヤナギ成木は実生の菌根形成を促進することで、その定着を促進するという、菌根菌を介在した後続実生の定着促進機構が明らかとなった。

しかし、一次遷移の初期過程にある場所では、先に定着した植物が後から侵入する植物の定着を促進するばかりではなく、阻害的に作用することも報告されている(e.g. Titus & del Moral 1998)。こうした違いは、先に定着した植物には様々な facilitation 作用と様々な阻害作用が存在し、個々の立地条件や環境条件によって、両作用の差し引きが大きく異なるために生じたものであると考えられている(e.g. Callaway 1995)。富士山火山荒原においては、ミヤマヤナギ成木の近傍で見られるミヤマヤナギ実生の定着を考えた場合、菌根共生による養分吸収促進作用と、成木との養分獲得競争による阻害作用の2つの相反する作用が働くと推測される。そして、第4章で行った富士山火山荒原にミヤマヤナギ実生を植栽した実験では、健全なミヤマヤナギ成木の近傍で菌根を形成した実生の成長が有意に促進されていた。このことから、成木との競合を差し引いても、実生への菌根菌感染が、実生の成長にプラスに作用した可能性が示唆されるが、その促進機構の詳細については不明である。

さらに、第4章で行った植栽実験では、成木の近傍での実生への菌根菌の感染様式についても推し量ることができる。不健全なミヤマヤナギ成木の近傍に植栽した実生は、隣

接する成木には見られない菌種によって形成された菌根が優占したことから、周辺から散布された胞子によって菌根菌に感染したものと考えられた。一方、健全なミヤマヤナギ成木の近傍に植栽した実生は、全ての菌根が隣接する成木に見られた菌種によって形成されており、実生への菌根菌の感染源には、胞子に加えて、根外菌系体が大きな役割を果たしていると考えられる。そして、健全なミヤマヤナギ成木の近傍に植栽した実生は、不健全なミヤマヤナギ成木近傍に植栽した実生に比べて、より多い量の養分を吸収し、その成長も有意に良かった。このことから、健全なミヤマヤナギ成木の近傍における実生への菌根菌感染様式、つまり根外菌系体による菌根菌感染の可能性を検証することは、外生菌根共生による実生の定着促進機構を解明する上で重要である。

外生菌根菌の根外菌系体は、土壤中から養分を取り込む器官であり、宿主植物の生育にとって不可欠な部分である (e.g. Smith & Read 1997)。また、根外菌系体は栄養成長によってその生息域を広げ、新たな根へ感染することから、菌根菌の繁殖器官であると同時に、植物にとっての菌根菌感染源でもある (e.g. Dahlberg 1997)。根外菌系体によって複数の植物個体が結ばれることにより、植物個体間を炭水化物が移動することや、菌根菌の吸収した養分が共有されることが報告されていることから (e.g. Finlay & Read 1986a, b)、根外菌系体が植物間の競合や相補を介して、植物の生育に影響を及ぼすことも考えられる (e.g. Allen & Allen 1984)。このように、菌根菌の根外菌系体の果たす役割は植物の生育にとって重要であると認識されているにもかかわらず、根外菌系体による菌根菌感染が野外における実生の定着にどのように機能し、どの程度の影響を及ぼすのかについてはほとんど分かっていない。

実生の生育に及ぼす外生菌根菌の影響を菌種別に評価しようとした場合、単離した菌を用いて接種実験を行うことが一般的に行われる。しかし、生育条件や環境の異なる実験室での結果と、実際のフィールドでの結果は大きく異なることが多い。第5章で行った接種実験は、成木や他の植物との競争がない環境で、利用可能な養分も多い条件だったことから、どのミヤマヤナギ当年生実生も、現地に見られる実生とは比較にならないほど大きく成長した (第5章)。このため、個々の菌種がフィールドで果たす機能を推し量ることは不適当であろう。実際のフィールドでの外生菌根共生の機能を理解するためには、現地での実験によって評価すべきであると考えられる。一般的には、ほとんどのフィールドでは何らかの外生菌根菌が自然感染することが多い上、植栽した実生に複数の菌根菌が感染することがほとんどである。このため、フィールドでの接種試験などによって外生菌根共生の機能や、個々の菌種特性を評価することは難しく、これまで詳細に調べられたことがない。しかし、菌根菌の自然感染がほとんど起こらない場所が富士山火山荒原には存在することから (第4章)、そうした場所を利用することにより、ミヤマヤナギ実生の定着に及ぼす個々の外生菌根菌の機能を明らかにすることができるものと考えた。

そこで本章では、まず、富士山火山荒原で優占する外生菌根菌の大部分を用いてミヤマヤナギへの接種を行い、各菌種ごとに菌根苗を作成した。作成した1年生の菌根苗から伸びる根外菌系体によって、隣接する当年生実生への感染試験を現地で行い、実生への根外菌系体感染の有無を調べた。また、一年生母苗との競合下において、根外菌系体による感染が当年生実生の養分吸収や成長に及ぼす影響を調べ、その菌種特性について解

折を行った。

材料と方法

感染源となる菌根苗の作出

第5章と同様な方法によって、ミヤマヤナギ実生への外生菌根菌接種を行った。菌種には、*Cenococcum geophilum*、*Hebeloma leucosarx*、*Hebeloma mesophaeum* (ワカフサタケ)、*Hebeloma pusillum*、*Inocybe lacera* (クロトマヤタケ)、*Laccaria amethystina* (ウラムラサキ)、*Laccaria laccata* (キツネタケ)、*Laccaria murina* (ギンコタケ)、*Russula pectinatoides* (ニセクサハツ)、*Russula sororia* (キチャハツ)、*Scleroderma bovista* (ハマニセショウロ) の計11菌種を用いた。対照苗として、菌叢を培養していないMMN寒天培地を同様に処理した。接種した実生は10ヶ月間、人工気象室 (300 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 25°C, 15 h/9 h = day/night) で栽培した。

ミヤマヤナギ実生への根外菌糸体による菌根菌接種

ポリスチレン角形シャーレ (140 × 100 × 15.5mm) を長辺が縦になるように置き、上端を切り落としてオープントップの根箱を作成した。富士山火山荒原のミヤマヤナギ下から採取したスコリア土壌を、オートクレーブ (121°C、180 min.) した後、各根箱に充填した。上記で作出した各菌種の1年生菌根苗 (菌根母苗) または1年生の無菌根苗 (対照母苗) を、各根箱の中央に一本ずつ植栽した。2002年の7月上旬に、ミヤマヤナギ種子を、1年生母苗の左右に、各根箱20個程度播種した。1年生の苗を植栽せず、種子のみを播種した処理区 (無母苗区) も設けた。対照区、無母苗区、および各菌種、それぞれ3反復を行った。温度制御ガラス室 (25°C) で栽培し、3週間後に各根箱の当年生実生を5本に間引いた。

富士山火山荒原への植栽

第4章の結果から、ミヤマヤナギ成木の存在しない植生パッチにミヤマヤナギ当年生実生を植栽した場合、ほとんど菌根が形成されないことが分かっている。この章では、接種した菌以外の影響を除外するため、こうしたミヤマヤナギ成木の存在しない植生パッチを3つ選び、8月上旬、それぞれのパッチの縁部に植栽した。それぞれの植栽場所には、上記で作成した各菌種および対照区、無母苗区の計13の根箱を約20cm間隔で配置した (図6-1)。植栽に際しては、地下部の根外菌糸体にダメージを与えないように根箱の一つの側面 (角形シャーレの蓋部分) を取り除いた後、根箱ごと実生及び母苗の植栽を行った。地表面と根箱中の土壌面が同じ高さになるように調整した。合計39の根箱で、195本のミヤマヤナギ当年生実生を植栽した。

実生の解析

2002年の10月下旬に、植栽した当年生実生の生残を調べた。植栽から3ヶ月後の2002年11月上旬に、全ての植栽実生をサンプリングした。当年生実生は地下部を痛めないように注意深く掘り取り、実体顕微鏡下でスコリア粒子や腐植を根系から取り除いた。それぞれ地上部と地下部に分け、地上部は冬芽数を、地下部は総根端数と菌根端数を数え

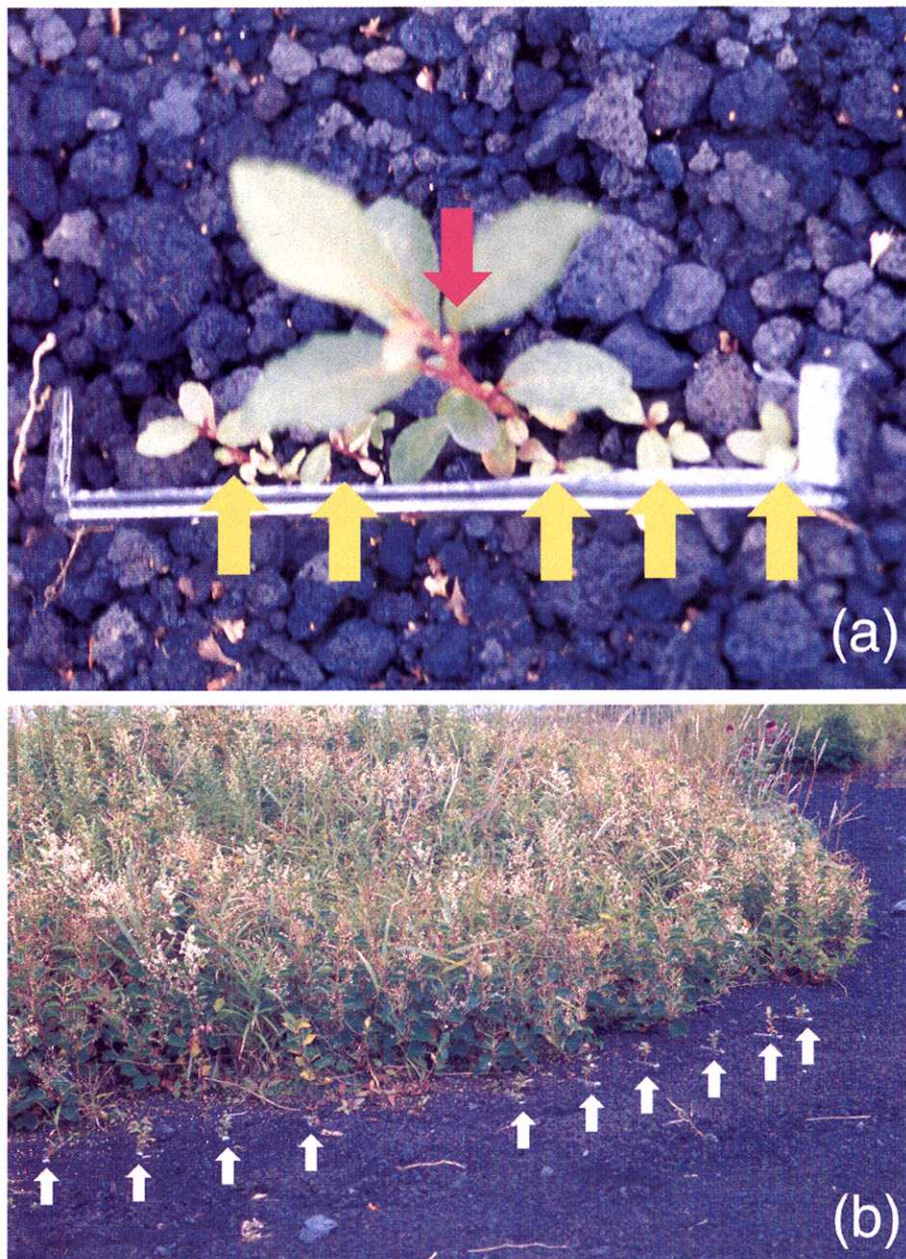


図6-1. Transplanted *S. reinii* seedlings beside a vegetation patch in an early successional volcanic desert on Mount Fuji.

(a) A rhizobox containing a mycorrhizal mother seedling (a red arrow) and five current-year seedlings (yellow arrows).

(b) Transplanted rhizoboxes (white arrows).

た。また、一部の当年生実生に見られた実体顕微鏡下で判別可能な外生菌根菌以外の未同定菌感染根端の数も計測した。菌根については、実体顕微鏡下で形態分類を行い、接種菌以外の感染率を評価した。各当年生実生の地上部と地下部は、凍結乾燥機 (FDU-540, EYELA, Tokyo, Japan) を用いて真空乾燥した後、ウルトラマイクロ電子天秤 (UMT2, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) で乾燥重量を計測した。各実生の地上部と地下部に含ま

れる窒素とリンの量は、硫酸と過酸化水素で湿式灰化した後、比色定量した（第2章参照）。地上部に被害や菌害、その他のダメージの見られた実生は解析から除外した。また、ミヤマヤナギの種子に含まれる窒素とリンの量を調べるため、種子5個4反復（計20個）について、実生と同様な定量を行った。

統計解析

全ての統計解析は、SPSS 11.5 for Windows を用いて行った。実生一本あたりの冬芽数、外生菌根数、縦根端数、未同定菌の感染根端数、地上部乾重、地下部乾重、地上部窒素含量、地下部窒素含量、地上部リン含量、地下部リン含量については、平均値±標準誤差で表し、11種の菌根菌を接種した各接種区の値と対照区との値との差は、一元配置分散分析とDunnettの多重比較により検定した。各実生の地上部と地下部の値を合計した、実生一本あたりの乾重、窒素含量、リン含量については、箱ひげ図によってデータ分布様式を解析した。

結果

ミヤマヤナギ実生の生存率と冬芽数

植栽したミヤマヤナギ当年生実生は、対照区を除いて、植栽から3ヶ月後も大部分が生存していた（表6-1）。サンプリングした11月には、全ての実生で冬芽の形成が見られた。実生一本あたりの平均冬芽数は対照区で 2.2 ± 0.5 と最も少なく、*C. geophilum* (4.4 ± 0.3)、*H. leucosarx* (4.5 ± 0.3)、ワカフサタケ (3.8 ± 0.4)、*H. pusillum* (3.8 ± 0.3)、クロトマヤタケ (4.0 ± 0.4)、ギンコタケ (3.6 ± 0.4)、キチャハツ (4.2 ± 0.3)、ハマニセシヨウロ (3.7 ± 0.3) を接種した実生の平均冬芽数は、いずれも対照区の値より大きかった（Dunnett's test, $P < 0.05$, 表6-1）。

ミヤマヤナギ実生の菌根形成

用いた全ての菌種において、1年生の菌根母苗から伸びた根外菌系体により、全ての当年生実生が外生菌根を形成した。当年生実生に見られた菌根の全ては、接種したそれぞれの菌種によって形成されたものであり、接種した菌種以外の菌根菌混入は確認できなかった。当年生実生に形成された平均菌根数は菌種によって大きく異なるが、*H. leucosarx*、*H. pusillum*、クロトマヤタケ、ウラムラサキ、キツネタケ、ギンコタケは縦根端の過半数が菌根化していた（表6-1）。

解析を行った130本の当年生実生の内90本に、淡褐色の内生菌（未同定）の感染が見られた。その感染率は低いものが多かったが、*C. geophilum*、キチャハツ、ハマニセシヨウロでは、未同定菌に感染した根端数が菌根数を上回っていた。対照区でも、全ての当年生実生に、未同定菌の感染が見られた。

ミヤマヤナギ実生の乾重成長

植栽したミヤマヤナギ当年生実生の地上部乾重は、対照区で最も低く 0.56 ± 0.09 mgであった。ウラムラサキを接種した実生の地上部乾重は、 0.66 ± 0.05 mgであり、対照区とほとんど変わらない値であったが、その他の菌根菌を接種した区の値はいずれも1mgを

表 6-1. Field performance of transplanted current-year *Salix reinii* seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi in an early successional volcanic desert on Mount Fuji.

Fungal species	Survival (live/total)	Winter buds (/seedling)	ECM tips (/seedling)	Total tips (/seedling)	Unknown infection ¹ (/seedling)	Shoot DW (mg)	Root DW (mg)	Shoot N (μg)	Root N (μg)	Shoot P (μg)	Root P (μg)
Control	8/15	2.2 ± 0.5	0 ± 0	37 ± 5	17 ± 5	0.56 ± 0.09	1.27 ± 0.16	6.3 ± 1.4	12.9 ± 2.5	1.2 ± 0.1	1.7 ± 0.3
<i>Cenococcum geophilum</i>	15/15	4.4 ± 0.3*	30 ± 10	122 ± 14*	61 ± 11*	1.99 ± 0.17*	4.90 ± 0.36*	30.2 ± 2.4*	52.7 ± 4.4*	3.4 ± 0.4	8.0 ± 0.6*
<i>Hebeloma leucosarx</i>	13/15	4.5 ± 0.3*	71 ± 10*	96 ± 8*	16 ± 6	2.49 ± 0.21*	5.02 ± 0.57*	38.4 ± 5.3*	65.0 ± 9.2*	5.5 ± 0.8*	10.3 ± 1.4*
<i>Hebeloma mesophaeum</i>	15/15	3.8 ± 0.4*	40 ± 13*	86 ± 15*	13 ± 7	1.30 ± 0.19	2.68 ± 0.54	14.4 ± 2.1	22.1 ± 4.6	1.9 ± 0.2	3.5 ± 0.7
<i>Hebeloma pusillum</i>	14/15	3.8 ± 0.3*	57 ± 8*	85 ± 8*	16 ± 3	1.63 ± 0.09*	3.25 ± 0.32*	23.1 ± 1.6*	40.8 ± 3.5*	3.1 ± 0.2	6.1 ± 0.5
<i>Inocybe lacera</i>	14/15	4.0 ± 0.4*	72 ± 13*	123 ± 15*	4 ± 2	1.88 ± 0.26*	4.16 ± 0.76*	26.3 ± 6.0*	41.4 ± 9.4*	4.3 ± 1.0*	8.4 ± 2.0*
<i>Laccaria amethystina</i>	14/15	2.4 ± 0.2	32 ± 3*	41 ± 3	0 ± 0	0.66 ± 0.05	1.25 ± 0.13	8.8 ± 1.3	9.3 ± 1.3	1.5 ± 0.2	2.7 ± 0.7
<i>Laccaria laccata</i>	13/15	3.4 ± 0.6	66 ± 12*	90 ± 17*	5 ± 2	1.47 ± 0.19*	2.89 ± 0.67	19.0 ± 4.3	21.6 ± 4.9	2.8 ± 0.8	5.0 ± 2.3
<i>Laccaria murina</i>	11/15	3.6 ± 0.4*	60 ± 6*	85 ± 11*	12 ± 4	1.39 ± 0.16*	2.61 ± 0.34	19.3 ± 3.2	26.6 ± 5.3	2.8 ± 0.3	4.6 ± 0.6
<i>Russula pectinatoides</i>	14/15	3.1 ± 0.3	22 ± 5	54 ± 7	5 ± 2	1.10 ± 0.19	2.38 ± 0.36	14.8 ± 3.9	28.6 ± 7.1	1.9 ± 0.3	4.4 ± 0.8
<i>Russula sororia</i>	13/15	4.2 ± 0.3*	4 ± 2	78 ± 11*	46 ± 9*	2.42 ± 0.30*	4.15 ± 0.70*	33.7 ± 4.4*	62.0 ± 10.1*	3.9 ± 0.6*	8.0 ± 1.4*
<i>Scleroderma bovista</i>	13/15	3.7 ± 0.3*	9 ± 3	83 ± 9*	49 ± 6*	1.80 ± 0.15*	3.21 ± 0.25*	27.3 ± 3.0*	41.2 ± 4.7*	3.5 ± 0.6*	7.3 ± 1.1
none ²	13/15	5.2 ± 0.5	0 ± 0	115 ± 26	82 ± 18	3.98 ± 0.74	7.56 ± 1.83	68.8 ± 15.4	107.8 ± 25.9	7.3 ± 1.1	15.3 ± 3.6

Each figure indicates Mean ± S.E.M.

¹ An unidentified non-mycorrhizal fungus was observed in a portion of non-mycorrhizal root tips.

² Data of current-year seedlings which were not accompanied with one-year-old seedlings were shown.

* Figures are significantly greater than the figure of control seedlings within the same column (Dunnnett's test, $P < 0.05$). The data of the row "none" were excluded from the statistical tests.

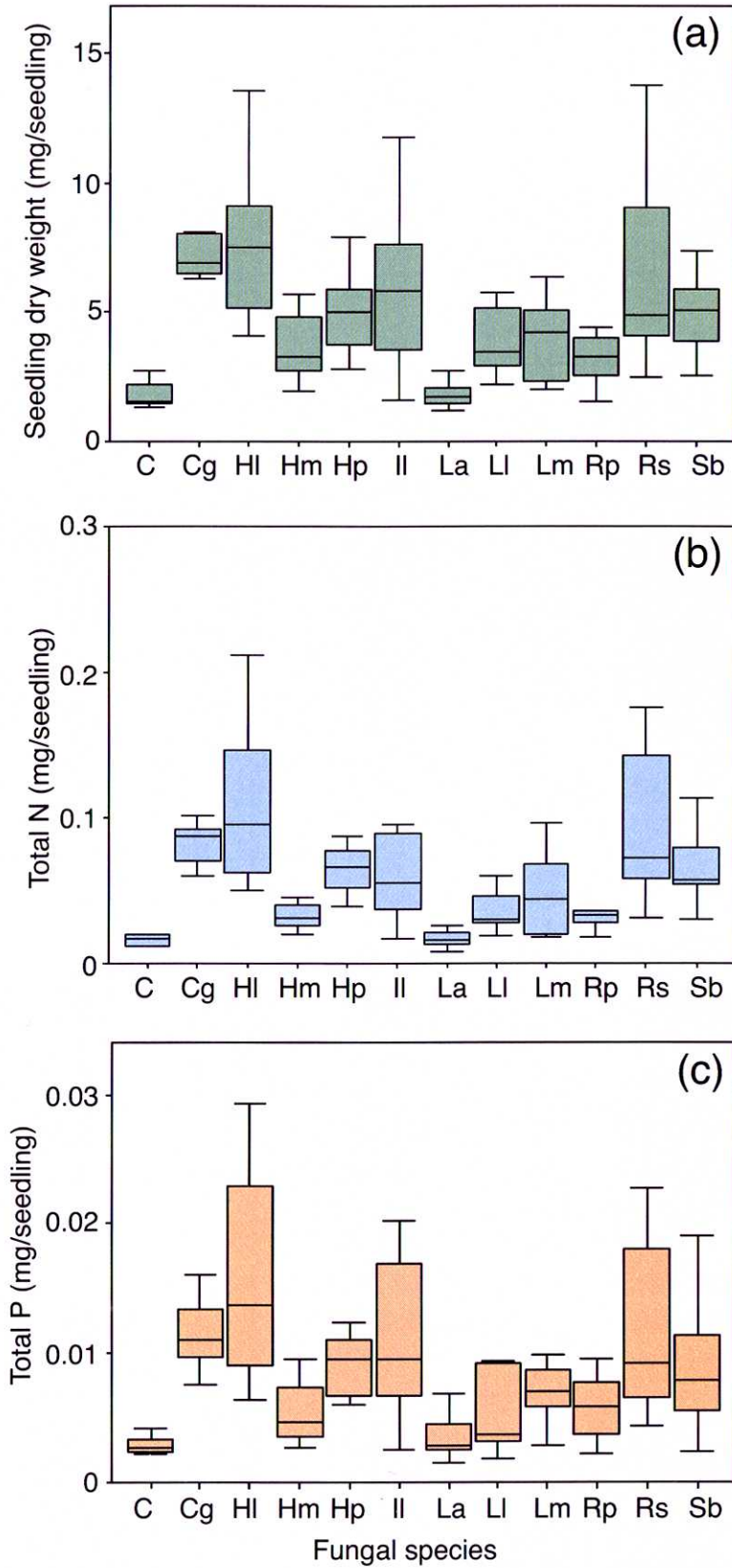


图 6-2. Data distribution of the dry weight (a), nitrogen content (b), and phosphorus content (c) of current-year *Salix reinii* seedlings transplanted in an early successional volcanic desert after extramatrical mycelial inoculation of 11 ectomycorrhizal fungi.

越えていた。特に、*C. geophilum* (1.99 ± 0.17 mg)、*H. leucosarx* (2.49 ± 0.21 mg)、*H. pusillum* (1.63 ± 0.09 mg)、クロトマヤタケ (1.88 ± 0.26 mg)、キツネタケ (1.47 ± 0.19 mg)、ギンコタケ (1.39 ± 0.16 mg)、キチャハツ (2.42 ± 0.30 mg)、ハマニセシヨウロ (1.80 ± 0.15 mg) を接種した実生の地上部乾重は、対照区の値より有意に高い値であった (Dunnett's test, $P < 0.05$, 表 6-1)。

ミヤマヤナギ当年生実生の地下部乾重は、地上部乾重の約2倍程度の値を示すものが多かった。処理区ごとの実生地下部乾重を見ると、ウラムラサキ接種区と対照区で低く、それぞれ 1.25 ± 0.13 mg と 1.27 ± 0.16 mg であった。*C. geophilum* (4.90 ± 0.36 mg)、*H. leucosarx* (5.02 ± 0.57 mg)、*H. pusillum* (3.25 ± 0.32 mg)、クロトマヤタケ (4.16 ± 0.76 mg)、キチャハツ (4.15 ± 0.70 mg)、ハマニセシヨウロ (3.21 ± 0.25 mg) を接種した実生の地下部乾重は、対照区の値より有意に高い値であった (Dunnett's test, $P < 0.05$, 表 6-1)。

ミヤマヤナギ当年生実生の地上部乾重と地下部乾重をあわせた実生一本あたりの乾重データの分布を図 6-2a に示した。対照区ではデータのばらつきが少なく、いずれの実生も小さな値であった。ウラムラサキを接種した実生の乾重もばらつきが小さく、いずれも小さな値であった。その他の菌種を接種した実生では、対照区の乾重値よりも高い値を示す個体が大部分であった。特に、*H. leucosarx* やクロトマヤタケ、キチャハツを接種した実生の中には、非常に高い乾重値を示す個体が存在した。

ミヤマヤナギ実生の窒素含量

実生の地上部窒素含量は、対照区で最も少なく 6.3 ± 1.4 μ g であった。菌根菌を接種した実生の地上部窒素含量は、対照区の実生よりも大きな値を示した (表 6-1)。特に、*C. geophilum* (30.2 ± 2.4 μ g)、*H. leucosarx* (38.4 ± 5.3 μ g)、*H. pusillum* (23.1 ± 1.6 μ g)、クロトマヤタケ (26.3 ± 6.0 μ g)、キチャハツ (33.7 ± 4.4 μ g)、ハマニセシヨウロ (27.3 ± 3.0 μ g) を接種した実生の地上部窒素含量は、対照区の実生より有意に多かった (Dunnett's test, $P < 0.05$, 表 6-1)。

実生の窒素含量は、いずれの処理区においても、地上部より地下部の方が多かった。地下部窒素含量は対照区で最も少なく 12.9 ± 2.5 μ g であった。菌根菌を接種した実生の地下部窒素含量は、ウラムラサキを除く全ての菌種で対照区の実生よりも大きな値を示した (表 6-1)。特に、*C. geophilum* (52.7 ± 4.4 μ g)、*H. leucosarx* (65.0 ± 9.2 μ g)、*H. pusillum* (40.8 ± 3.5 μ g)、クロトマヤタケ (41.4 ± 9.4 μ g)、キチャハツ (62.0 ± 10.1 μ g)、ハマニセシヨウロ (41.2 ± 4.7 μ g) を接種した実生の地下部窒素含量は、対照区の値よりも有意に高い値を示した (Dunnett's test, $P < 0.05$, 表 6-1)。

ミヤマヤナギ当年生実生の地上部と地下部の窒素含量をあわせた実生一本あたりの窒素含量の分布を図 6-2b に示した。対照区ではデータのばらつきが少なく、いずれの実生も小さな値であった。菌根菌を接種した実生では、ウラムラサキ接種区を除いて、対照区の窒素含量よりも高い値を示す個体が大部分であった。特に、*H. leucosarx* やキチャハツを接種した実生の中には、非常に高い窒素含量を示す個体が存在した。

実生の平均窒素含有率は、対照区で $1.01 \pm 0.08\%$ であった。ワカフサタケ ($0.94 \pm 0.06\%$) やウラムラサキ ($0.93 \pm 0.07\%$)、キツネタケ ($0.91 \pm 0.04\%$) を接種したものは対照区より低い値を示したが、*H. leucosarx* ($1.34 \pm 0.7\%$)、*H. pusillum* ($1.32 \pm 0.03\%$)、キチャハ

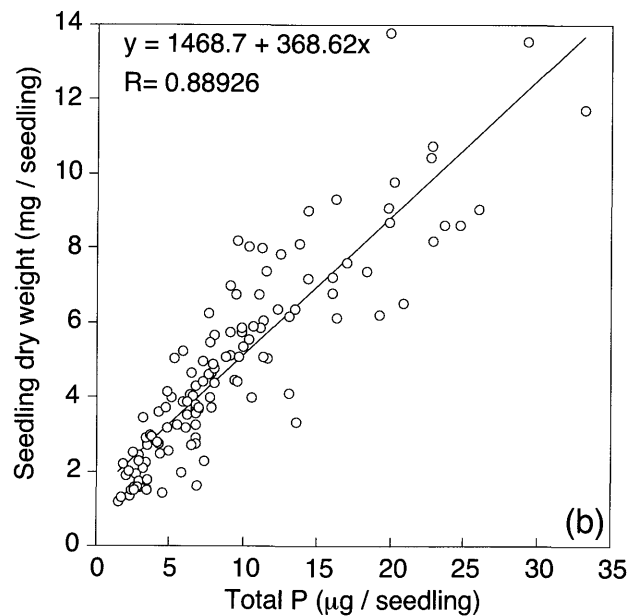
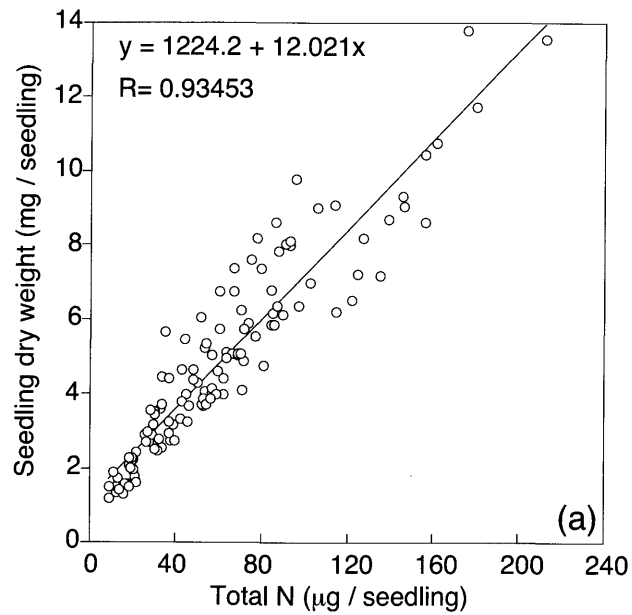


図 6-3. Growth of current-year *Salix reinii* seedlings that were transplanted to an early successional volcanic desert after mycelial inoculation of ectomycorrhizal fungi was correlated with nitrogen (a) or phosphate (b) content.

ツ ($1.44 \pm 0.05\%$)、ハマニセショウロ ($1.36 \pm 0.08\%$) を接種した実生の窒素含有率は、対照区の値よりも有意に高かった (Dunnett's test, $P < 0.05$)。

実生に含まれる窒素含量と実生の乾重量には強い正の相関関係が見られた (図 6-3a)。

ミヤマヤナギ実生のリン含量

実生の地上部リン含量は、対照区で最も少なく $1.2 \pm 0.1 \mu\text{g}$ であった。菌根菌を接種した実生の平均リン含量は、いずれの接種区とも、対照区より大きな値を示した (表 6-1)。特に、*H. leucosarx* ($5.5 \pm 0.8 \mu\text{g}$)、クロトマヤタケ ($4.3 \pm 1.0 \mu\text{g}$)、キチャハツ ($3.9 \pm 0.6 \mu\text{g}$)、ハマニセショウロ ($3.5 \pm 0.6 \mu\text{g}$) を接種した実生の地上部リン含量は、対照区の値より有意に高い値であった (Dunnett's test, $P < 0.05$, 表 6-1)。

実生のリン含量は、いずれの処理区においても、地上部より地下部の方が多かった。地下部リン含量は対照区で最も少なく $1.7 \pm 0.3 \mu\text{g}$ であった。菌根菌を接種した実生の地下部リン含量は、いずれも対照区の値より大きかった (表 6-1)。特に、*C. geophilum* ($8.0 \pm 0.6 \mu\text{g}$)、*H. leucosarx* ($10.3 \pm 1.4 \mu\text{g}$)、クロトマヤタケ ($8.4 \pm 2.0 \mu\text{g}$)、キチャハツ ($8.0 \pm 1.4 \mu\text{g}$) を接種した実生の地下部リン含量は、対照区の値よりも有意に高い値であった (Dunnett's test, $P < 0.05$, 表 6-1)。

ミヤマヤナギ当年生実生の地上部と地下部に含まれるリン含量をあわせた実生一本あたりのリン含量の分布を図 6-2c に示した。対照区ではリン含量のばらつきが少なく、いずれの実生も小さな値であった。菌根菌を接種した実生のリン含量は、対照区よりも高い値を示す個体が多数を占めた。特に、*H. leucosarx* やクロトマヤタケ、キチャハツを接種した実生の中には、非常に高いリン含量を示す個体が存在した。

実生に含まれるリン含量と実生の乾重量には有意な相関が見られたものの (図 6-3b)、窒素と乾重量の相関よりも弱かった。

無母苗区のミヤマヤナギ実生

当年生実生とともに1年生の苗を植えなかった無母苗区では、当年生実生の冬芽数、乾重量、窒素含量、リン含量ともに、処理区中で最も大きな値を示した (表 6-1)。

種子の養分含量

ミヤマヤナギの種子一個あたりの窒素含量は $6.2 \pm 0.7 \mu\text{g}$ であった。この窒素含量は、対照区の実生に含まれる量のおよそ3割に相当する。また、種子一個あたりに含まれるリンの量は $1.2 \pm 0.1 \mu\text{g}$ であり、対照区の実生に含まれる量のおよそ40%に相当する。

考察

外生菌根菌の根外菌糸体による実生への感染

根外菌糸体による接種に用いた11菌種は、富士山一次遷移初期過程に出現した外生菌根菌の主要な構成要素である (第2、3章)。この11種を合わせると、2年間に出現した菌根性子実体の93%、調査した地下部菌根総数の84%をカバーする。つまり、本研究は一つの生態系にある大部分の菌種を用いた実験的解析ということになる。このような網羅的なアプローチは、その生態系における外生菌根菌の役割を理解する上で必要不可欠であるが、技術的・労力的に困難な点が多く、これまで行われたことがなかった。

根外菌糸体による菌根菌の感染については、単一菌種あるいは数種の菌根菌を用いた実験的解析や (Finlay & Read 1986a, 1986b, Duddridge *et al.* 1988, Wu *et al.* 1999)、熱帯苗畑での実用的な接種試験 (菊地 & 小川 1997) の中で示されてきた。また、林床でのトレンチングによって成木の根から隔離した場所に植栽した *Betula pendula* の苗は、隔離しな

かった苗と外生菌根菌の組成が異なっていたと報告されている (Fleming 1984)。同様に、Simard *et al.* (1997c) モトレンチングが *Pseudotsuga menziesii* に形成された外生菌根の群集構造に影響を与えることを示している。こうした報告から、少なくとも一部の菌では根外菌系体による菌根菌の感染が起こることが明らかである。しかし、生態系の中での根外菌系体による菌根菌感染を、個々の菌種ごとに実験的に解析したのは本研究が初めてであろう。そして、用いた 11 菌種の全てで、当年生実生への菌根菌感染が確認できたことから、根外菌系体による感染は一部の菌種に限られたものではなく、どの菌種でも可能であることが現地で実証された。

接種した菌種以外の外生菌根菌の混入は、いずれの処理区においても見られなかった。この結果は、第 4 章でミヤマヤナギ成木のない場所に植栽した無菌根苗がほとんど菌根を形成しなかった実験結果と一致するものである。このことから、この火山荒原では孢子による外生菌根菌の感染は難しく、既に根外菌系体のある場所での実生への外生菌根形成は、主に根外菌系体によって行われるものと考えられる。

根外菌系体の感染による実生への成長促進機構

根外菌系体が感染するような場所では、同所的に複数の植物個体が存在することになり、個体間の養分獲得競争が発生する。Jumpponen *et al.* (1998) は、氷河跡地の一次遷移過程において、矮性ヤナギ成木下の土壌は比較的肥沃であるが、播種した *Pinus contorta* の 8 週間後の生存実生数は、成木の近傍で少なくなると報告している。残念ながら実生の成長や菌根形成については調べられていないものの、実生の生育に必要な光や養分の獲得に成木が阻害的に作用した結果であると考察している。今回の実験においても、無母苗区の実生が他の処理区より良好な成長を示した。他の処理区では、1 年生の母苗との養分獲得競争のため、当年生実生の成長が抑圧されたものと捉えることができる。

しかし、富士山火山荒原の一次遷移初期過程においては、ミヤマヤナギ実生が単独で更新することはなく、必ず他の植物あるいはミヤマヤナギ成木と隣接して定着する (第 4 章参照)。スコリアの移動が激しいこの場所では、イタドリやミヤマヤナギ成木によって土壌表層が安定した場所にしか物理的に定着できないのである。このため、ミヤマヤナギ実生が定着可能な場所では、必ず他の植物個体とミヤマヤナギ実生との競合が行われることになる。ミヤマヤナギ当年生実生を単独で植栽した無母苗区は、実生が良好な生育を示したものの、生態的にはあまり意味を持たないと考えられる。

根外菌系体によって菌根菌に感染したミヤマヤナギ当年生実生の乾重 (平均値) は、11 菌種の全てにおいて、対照区よりも高い値を示した。これは、1 年生の母苗と当年生実生の競合条件下においても、同じ菌根菌を共有することが当年生実生の生育にプラスになることを示している。そして、*H. leucosarx* やクロトマヤタケ、キチャハツの菌系体に感染した当年生実生の成長にはばらつきが大きく、より大きな個体サイズをもったものが存在していた。富士山の火山荒原は冬季に積雪で覆われ、無事越冬するためには個体サイズが重要な要因であることが示されている (Maruta 1983)。現実には、この火山荒原で発芽したミヤマヤナギ当年生実生のほとんどは越冬することができない。小数であっても、より大きな個体サイズの実生が存在することは、ミヤマヤナギの繁殖にとって重要な意味を持つものと考えられる。

対照区の当年生実生に含まれるリンや窒素は、いずれも種子に含まれる量から倍以上増大していることから、菌根菌との共生なしでも貧栄養なスコリア土壌からある程度の養分を吸収できることを示している。しかし、当年生実生が含む養分、特に窒素含量は、ほとんどの菌根菌を感染させた処理区において、対照区の実生より大きな値を示したことから、根外菌糸体に感染したことが当年生実生の養分吸収量の増大に繋がったのは明らかである。これまで、外生菌根菌の根外菌糸体によって飛躍的に養水分の吸収面積が増大すること (e.g. Rousseau *et al.* 1994)、外生菌根菌が共生することにより植物だけでは通常利用できない窒素化合物 (e.g. Abuzinadah *et al.* 1986) やリン酸化合物 (e.g. Lapeyrie *et al.* 1991) を分解吸収できることが知られている。また、根外菌糸体で繋がれた植物個体間の窒素 (Arnebrant *et al.* 1993) の移動や、一部の根外菌糸体が吸収した養分が複数植物個体へ分配されることについても示されている (e.g. Finlay & Read 1986)。つまり、ミヤマヤナギ実生が菌糸体に感染することで、外生菌根菌の持つ優れた養分吸収機能や養分の共有機能を利用できるようになり、母苗との競合下で実生が単独で吸収できる窒素量を上回ったことを示している。

フィールドにおける外生菌根共生の機能と菌種特性

当年生実生の個体重と窒素含量との間には強い相関関係が認められたことから、窒素吸収量の多少が実生の成長に影響したものと考えられる。ウラムラサキに感染させた実生では、窒素の吸収量や乾重が対照区の実生とほとんど変わらなかった。一方、*H. leucosarx* やキチャハツの菌糸体に感染させることにより、実生の窒素吸収量は大幅に増大し、良好な生育を示した。実生一本に含まれる窒素量から種子に含まれる窒素量を引いた値、つまり実生が成長期間内に吸収した窒素量を、最も少なかったウラムラサキと最も多かった *H. leucosarx* で比較した場合、平均値で8.2倍の差があった。実生の平均乾重量で比較した場合も、この2つの菌種では4.1倍の差が認められた。このように、一次遷移初期過程にあるフィールドでの実験によって、養分吸収促進機能とそれに伴う実生の成長促進作用には、外生菌根菌の菌種間で大きな差が存在することを明らかにした。そして、このような菌種間差は、富士山火山荒原におけるミヤマヤナギ実生の定着が感染する外生菌根菌の菌種特性によって左右されることを示している。

第2、3章で明らかにしたそれぞれの外生菌根菌の遷移段階との関係を見ると、first-stage fungi であるウラムラサキ、キツネタケ、クロトマヤタケの3種間でも成長促進作用に大きな差があり、他の second-stage fungi や late-stage fungi との stage による違いは明瞭ではなかった。今回調べた根外菌糸体による菌根菌感染と胞子による感染では当年生実生の成長が異なる可能性もあるが、3種の first-stage fungi の成長促進作用が特に優れているから、最初に出現するというわけではないと考えられる。Fox (1986) は、二次遷移系列の early stage fungi が胞子による感染力に優れていることを報告している。一次遷移系列で最初に出現する菌種が決定される要因としては、宿主への成長促進作用の程度より、胞子による感染力がより重要なものかもしれない。

光合成などの生育活性が優れたミヤマヤナギ成木にはハマニセシヨウロが高い頻度で出現した (第2, 3章)。しかし、その菌糸体に感染させた当年生実生が、それ以外の菌種と比べて特に養分吸収促進効果が高いというわけではなかった。そして、不健全なミ

ヤマヤナギ成木の地下部菌根菌群集で優占するキツネタケやギンコタケといった菌種とハマニセショウロの間には、それぞれの菌系体に感染した実生の乾重や窒素含量、リン含量などに有意な差が見られなかった。ミヤマヤナギ成木の菌根菌に対する反応は当年生実生の反応と異なる可能性もあるが、共生する菌根菌の成長促進作用の違いが、中サイズのミヤマヤナギ成木で見られた生理活性の違い（第2、3章）に直接関与しているわけではないものと考えられる。

ミヤマヤナギパッチの内部に見られる菌種である*H. leucosarx*やキチャハツに感染させた当年生実生の中には、より多くの窒素を吸収した実生が多かった。用いた土壌はミヤマヤナギ成木下から採取したもので比較的有機質に富む。こうした土壌は、*H. leucosarx*やキチャハツの生育条件として適しているものと考えられる。しかし、この2種の菌が見られるのは、発達したミヤマヤナギ被覆の中心部で、光条件が悪くて実生生育が不可能な場所である。ミヤマヤナギ当年生実生の定着が比較的高頻度に見られるミヤマヤナギ被覆の縁部には、こうした菌の出現頻度は極めて低い。縁部での出現頻度が高い菌種の中で（第3章）、縁部に植栽した無菌根苗に菌根形成の見られた菌種（第4章）の中では、今回、クロトマヤタケやキツネタケ、ギンコタケ、ハマニセショウロに、実生への養分吸収促進機能や成長促進機能が認められた。ミヤマヤナギ成木近傍で発芽した実生は、これらの菌種の根外菌系体に感染することにより、その定着が促進されているものと考えられる。

第7章 総合考察

一次遷移地における孢子による外生菌根菌の感染

富士山の火山荒原では、イタドリが起点となって形成された植生パッチが島状に点在している。そうした植生パッチへ最初に侵入する外生菌根性植物はほとんどの場合ミヤマヤナギであり、調査地全体で見られた外生菌根性植物全体に占めるミヤマヤナギの割合は99% (被覆面積比) に達する (第2章)。調査地内にある全部で159の植生パッチの内、ミヤマヤナギが存在したのは37パッチであり、その全てに外生菌根菌が定着していた (第2, 3章)。このようなパッチへのミヤマヤナギの定着過程をさかのぼって考えると、イタドリパッチに最初に定着したミヤマヤナギ実生 (先駆実生) には、孢子によって菌根菌が感染したのは間違いない。つまり、5.5haの調査方形区で考えると、先駆実生への孢子感染が外生菌根共生の最終的な定着に結びついたのは、噴火後300年間で37回しか起こらなかった非常に頻度の低い現象であるといえる。これは、貧栄養なスコリアや厳しい気象条件などによって、ミヤマヤナギ実生の定着そのものが難しいことにも起因すると考えられる。しかし、同時に、実験的にミヤマヤナギ実生を現地植栽しても、孢子感染しか考えられない場所 (裸地やミヤマヤナギ成木の無い植生パッチ) では、外生菌根がほとんど形成されないことから、孤立したミヤマヤナギ実生への孢子感染自体が難しいことも原因として考えられる (第4章)。

先駆実生への孢子による菌根菌感染を制限する要因にはいくつか考えることができる。一つは周囲からの孢子供給量の不足であり、一つは孢子を失活させる厳しい環境である。発達した森林では、菌根菌の子実体の種類や量も一般的に多く、孢子バンクを形成する菌種も存在する。そのため、森林が攪乱によって消失した二次遷移地においては、土壌中の孢子バンクや近隣の森林からの孢子供給によって、更新した実生に菌根が容易に形成される (Baar *et al.* 1999, Bruns *et al.* 2002)。一次遷移地に分類される氷河跡地においてさえ、隣接する尾根に発達した森林から外生菌根菌の孢子が供給されることによって、実生の菌根形成は容易である (Helm *et al.* 1999)。このように、孢子の供給量が十分であれば、先駆実生への外生菌根形成自体は比較的容易に起こりうる。一方で、広い範囲にわたって森林が破壊されたことによって近隣からの孢子供給が少ないと予想されるセントヘレンズ山の噴火跡地では、先駆樹種実生への外生菌根形成が困難なことが記載されている (Allen *et al.* 1992)。

富士山の噴火跡地においては、調査地内での一部の菌種の子実体発生量は豊富であることや (第2章)、十分孢子の散布距離範囲内にある森林でミヤマヤナギに親和性のある菌種 (第5章) の子実体が多数発生していたことから、少なくともこうした菌種については、孢子供給不足が菌根形成の制限要因となっているとは考えにくい。

スコリア土壌の深部は一年を通して湿潤に保たれるが、その表面は非常に乾燥しやすい (高木・丸田 1996)。このため、飛来した孢子が表面に留まり、失活してしまう可能性がある。また、スコリア自体の特性が孢子バンク形成に不適であるとか、孢子バンクを形成する菌種の生育に不適である可能性も考えられる。本研究ではできなかったが、この場所での孢子の失活要因や孢子バンクの形成条件等についても、今後解き明かしてい

く必要がある。

こうした土壌関連の制限要因に加えて、宿主樹木の根量が要因として重要であることが、ミヤマヤナギ実生の植栽実験の結果からうかがえる（第4章）。ミヤマヤナギ実生を不健全なミヤマヤナギ成木の近傍に植栽した場合、孢子由来と考えられる感染が約2/3の実生に見られたが、ミヤマヤナギ成木のない植生パッチの近傍に植栽した実生にはほとんど菌根が形成されなかった。この2つの場所で、孢子の飛来数や土壌条件などが異なるとは考えにくい。外生菌根菌の孢子発芽は宿主樹木の根の存在によって促進されるとすれば（Fries *et al.* 1987, Ali & Jackson 1988）、ミヤマヤナギ成木の大きな根系近辺では孢子発芽が促進され、実生への感染率も高まるが、当年生実生のような非常に小さな根系では感染に有効な孢子発芽率を得られないのかもしれない。根系による孢子発芽の促進も、今後の興味深い課題である。

孢子による菌根菌の感染はこのような先駆実生への感染だけではない。定着後間もない非常に小さいミヤマヤナギ個体を除くと、ほとんど全てのミヤマヤナギ成木で複数の菌種が見られた（第2章、3章）。また、一部の菌種では、一つのパッチ内に遺伝的に異なる複数のジェネットが存在することも分かっている（Nakaya *et al.* pers. comm.）。つまり、先駆実生に最初に感染した菌根菌以外の菌種（あるいはジェネット）の孢子が、後から外部より侵入して、ミヤマヤナギ成木（あるいは幼木）へも感染したことを示している。孢子による感染には宿主の根量も重要な要素であることから、ミヤマヤナギ成木への孢子による感染は、一番最初に侵入したミヤマヤナギ実生への孢子感染（300年間で37回）よりも、遙かに容易なものと考えられる。事実、ミヤマヤナギが存在する各パッチに見られた子実体の菌種を合計しただけでも211になる。各パッチに最初に定着した一つの菌種を除いて、残りの菌種は根系が大きくなったミヤマヤナギ成木に感染したものとすれば、300年間で少なくとも174回の成木への感染が現在までに成立したことになる。子実体では見られなかった地下部菌根菌が存在したことや各菌種のジェネット数などを含めると、孢子による成木への感染数はこの数字を遙かに上回ることは疑いない。

以上のように、植生がパッチ状に点在する富士山火山荒原において、先駆実生への低頻度の孢子感染や、それより高頻度に起こる成木への孢子感染を介して、新しい菌根菌がパッチ内に定着していくと考えられる。これは後述する外生菌根菌の遷移様式を考える上で重要な知見である。

一次遷移地における根外菌糸体による外生菌根菌の感染

新たに定着した菌根菌は、宿主から有機物の供給を受けることで根外菌糸体を発達させる。外生菌根菌のもう一つの重要な感染様式は、この根外菌糸体による感染である。健全なミヤマヤナギ成木や大きなサイズのミヤマヤナギ成木の近傍に植栽したミヤマヤナギ実生に感染した菌種は、全て隣接する成木に見られた菌種であり、それぞれの成木に特徴的な菌種が実生にも見られた（第4章）。このことから、一部のミヤマヤナギ成木の縁部では、根外菌糸体を介しても外生菌根菌が感染していることが示唆される。

根外菌糸体によって実生への菌根菌感染が起こることは広く知られており、それを利用した熱帯苗畑での接種試験や（菊地&小川 1997）、実験への適用が行われてきた（Finlay & Read 1986a, 1986b, Duddridge *et al.* 1988, Wu *et al.* 1999）。また、林地において実生に形

成される外生菌根の群集構造が、成木から人為的に隔離することによって変化することも、成木から実生への根外菌系体による菌根菌感染を示唆するものである (Fleming 1984, Simard *et al.* 1997c)。山火事跡地や皆伐跡地では、下層植生である *Arctostaphylos* 植物が外生菌根菌の refuge として機能し、その周辺の *Pseudotsuga menziesii* 実生の菌根形成を促進することが指摘されている (Horton *et al.* 1999, Hagerman *et al.* 2001)。このように、林地や攪乱跡地における根外菌系体による実生への感染については数多くの報告があるものの、一次遷移地における根外菌系体による実生への感染については全く調べられていなかった。

一次遷移初期過程における根外菌系体による実生への菌根菌感染を実験的に実証するため、富士山火山荒原から分離した 11 種の菌種を用いて、1 年生の菌根苗を作成した後、その菌根から伸びる根外菌系体によって、隣接して播種した当年生実生への菌根形成を現地で調べた (第 6 章)。その結果、全ての菌種で当年生実生への菌根菌感染が確認された。この 11 種が富士山火山荒原の菌根性子実体群集に占める割合は 9 割を越え、地下部菌根菌群集でも 84%、単一植栽したミヤマヤナギ実生に見られた菌根菌群集では 99% に達する。すなわち、優占する菌種の全てにおいて、現地環境でも根外菌系体による実生への感染が実際に起こることが示されたのである。さらに、短期間ではあったが、根外菌系体によって接種した菌種以外の菌根は全く見られなかった。これは、根外菌系体が存在するようなミヤマヤナギ成木の近辺では、外部からの孢子による感染がほとんど起こらないことを示している。一次遷移初期過程における先駆樹木実生の菌根形成には孢子より根外菌系体が重要であるものと考えられる。

外生菌根菌の根外菌系体は、実生への感染だけでなく、成木の根へも感染する。こうした感染の拡大は、外生菌根菌の栄養繁殖と呼ばれ、菌根菌の重要な繁殖様式であることがジェネット解析によって示されている (e.g. Dahlberg & Stenlid 1994, Gryta *et al.* 1997, Dahlberg 1997, Zhou *et al.* 1999)。また、高頻度に攪乱を受ける海岸砂丘においては、安定した林地に比べて、*Hebeloma cylindrosporum* のジェネットサイズが大きかったことから、攪乱によって他の菌の侵入が制限されるような場所では、根外菌系体による感染が重要な役割を果たすと考察されている (Marmeisse *et al.* 1999)。そして、富士山火山荒原の主要な菌根菌の一つであるハマニセシヨウロについても、5m を越す大きなジェネットが多数存在することが分かっている (Nakaya *et al.* pers. comm.)。このような大きなジェネットの存在は、長年にわたって根外菌系体による感染が繰り返されてきたことを示す。

菌根菌の子実体が形成されるためには、同じジェネットに属する多くの菌根が必要である。孢子によって最初に感染した一部の菌根だけでは子実体を形成することはできない。富士山火山荒原で 2 年間に発生した 11,450 本という膨大な子実体自体が、根外菌系体による感染の産物であり、根外菌系体感染の重要性を示しているともいえる。

外生菌根菌の一次遷移

多数の外生菌根菌種が、孢子や根外菌系体による宿主の根への感染を通して定着することで、その場所に特有な外生菌根菌群集が形成される。そして、最終的に表れてきた外生菌根菌の群集構造は一定のパターンを示すことがある。単一樹種からなる植林地の林齢、あるいは単木の成長に伴って、優占する外生菌根菌が early-stage fungi と呼ばれる初

期に定着する菌種から、late-stage fungiと呼ばれる後期に定着する菌種へと置き変わる事が繰り返し示されてきた (Mason *et al.* 1982, 1983, Deacon *et al.* 1983, Fleming 1983, Fleming *et al.* 1984, Last *et al.* 1984, Dighton *et al.* 1986)。さらに、こうした外生菌根菌群集の変化のパターンから、「外生菌根菌の遷移モデル」が提唱されている。その根拠にされる研究の多くは、二次遷移地での菌根性の子実体を調べたものであり、正確には「菌根性子実体の二次遷移モデル」と言えよう。

本研究では、これまで詳細が知られていなかった外生菌根菌の一次遷移について、宿主の成長に伴う地上部の子実体群集 (第2章) と地下部の菌根菌群集 (第3章) の変化から解析した。子実体調査によって、植生パッチに最初に定着したミヤマヤナギに最初に見られる子実体はクロトマヤタケ、キツネタケ、ウラムラサキのいずれかであることを示し、この3種を first-stage fungi と定義した。ミヤマヤナギの成長に伴ってギンコタケとハマニセショウロが次に出現した (second-stage fungi)。さらに大きく成長したミヤマヤナギからは、フウセンタケ属やワカフサタケ属、ベニタケ属などの多くの菌種の子実体が発生するようになった (late-stage fungi)。

二次遷移地で early-stage fungi として最初に出現する代表的な菌種にはワカフサタケ属菌が含まれるが (e.g. Last *et al.* 1984)、今回得られた一次遷移地での結果では、いずれのワカフサタケ属菌も late-stage fungi に属していた。一方、二次遷移地で late-stage fungi として発生するベニタケ属やフウセンタケ属は、本調査地においても late-stage fungi であったことから、一次遷移地の late-stage fungi が二次遷移地の early-stage fungi として出現するのではない。さらに、二次遷移地では early-stage fungi が消えて late-stage fungi が出現するという、種の置き換わりが起こるが、本研究ではミヤマヤナギが大きく成長し、late-stage fungi が数多く発生するようになってもお、first-stage fungi や second-stage fungi の子実体が豊富に発生し、菌種の置き換わりは全く見られなかった。このように、一次遷移の初期過程における外生菌根菌の遷移系列は、これまで知られていた二次遷移地のものとは大きく異なると言える。

子実体の出現順序に加え、本研究では子実体発生量の解析も行い、主要な菌根菌のいずれの菌種 (または分類群) も、その子実体発生量はミヤマヤナギの成長とともに単調増加することを明らかにした (第2章)。二次遷移過程における研究では、初期に定着した菌根菌の子実体発生量が徐々に減少し、やがて消えてしまうことが報告されている (e.g. Last *et al.* 1984)。こうした特定菌種の衰退メカニズムについては明らかではないが、既に全ての地表面がいずれかの菌種によって占められている段階では、菌種間の競合が必然的に起こるものと考えられる。一次遷移の初期過程では、ほとんどの地表面は植生や根系によって占められていない裸地である。菌根菌の菌種も林地に比べて少ない。こうしたことから、菌根菌同士の競合が少なく、それぞれの菌種の子実体発生量に影響するほどではないものと推測される。いずれにせよ、定量的な子実体調査によって得られた、主要な全ての菌根菌の子実体発生量が単調増加するという結果は、外生菌根性子実体の一次遷移初期過程の大きな特徴であると考えられる。

地上部の子実体の一次遷移に加え、本研究では地下部外生菌根菌群集とその遷移についても調べた (第3章)。菌種の同定には、r-DNA の ITS 領域を用いた分子生物学的同定法の導入に加え、種内変異と種間変異を考慮し、精度の高い方法により行った。近年、

DNA解析によって地下部菌根菌の同定が可能になり、子実体群集と地下部菌根菌群集の構造が大きく異なることが、成立した森林での多くの研究により示されてきた (e.g. Gardes & Bruns 1996, Dahlberg *et al.* 1997, Peter *et al.* 2001)。このため、菌根菌の遷移を調べる際にも、地上部の子実体群集とは別に、地下部の菌根菌群集を調べる必要性が指摘されていた。二次遷移地での地下部菌根菌群集では、最初に *Rhizopogon* などの特定の菌種が優占すること (Horton *et al.* 1998, Baar *et al.* 1999, Grogan *et al.* 2000)、森林土壌中に蓄積されていた孢子バンクが攪乱後の菌根形成に深く関与していることが示されている (Baar *et al.* 1999)。一次遷移の初期過程では、孢子バンクは存在しない。こうした場所での地下部菌根菌群集については、菌根形態タイプが植生ステージによって異なることなどが示されているものの (Helm *et al.* 1996, Yang *et al.* 1998, Helm *et al.* 1999)、DNA解析によって菌種を同定した研究はこれまでなかった。つまり、本研究は一次遷移の初期過程における地下部菌根菌群集を菌種レベルで明らかにした最初の研究でもある。

異なる成長段階(サイズ)のミヤマヤナギから菌根をサンプリングすることにより、ミヤマヤナギの成長に伴う地下部外生菌根菌の遷移について解析を行った(第3章)。その結果、小サイズ (< 0.5 m² in coverage) のミヤマヤナギでは、子実体で見られた first-stage fungi の菌根が優占していた。中サイズ (2 - 10 m²) のミヤマヤナギからは、first-stage fungi に加えて second-stage fungi の菌根が、高い頻度と相対数量で出現した。さらに成長した大サイズ (> 45 m²) のミヤマヤナギからは、first-stage fungi、second-stage fungi に加えて、子実体遷移系列の late-stage fungi の菌根が見られた。このように、地下部菌根菌群集の一次遷移系列は子実体のものとほぼ同じであることを明らかにすることができた。さらに、大サイズ宿主の地下部菌根菌群集では、*Tomentella* 属を含むイボタケ科と UN-D1 (unidentified D morphotype species 1) が主要な構成要素として同定された。特に、イボタケ科の菌種は、いわゆるキノコを形成する菌種ではなく、発達した森林では、しばしば優占することが知られていたが、その出現時期については不明であった (e.g. Peter *et al.* 2001)。つまり、イボタケ科が植生の発達とともに出現することを突きとめることができたのも、地下部菌根菌群集調査の大きな成果の一つであるといえよう。

地下部菌根菌の解析では、等量の1土壌サンプル (10 × 10 × 10 cm) 当たりの菌根菌の種数についても調べた。その結果、1土壌サンプルあたりの菌根菌の種数も、ミヤマヤナギの成長とともに有意に増加していた。つまり、ミヤマヤナギの成長に伴って、菌根菌の生息可能域が全体として増大することによる菌種の増加以外に、同じ量の土壌中でも菌種が増加することが明らかになった。特に、大サイズのミヤマヤナギ被覆の中心部から採取した土壌中には、平均で4種近い菌種が出現し、最も高い数値を示したことから、土壌の発達と土壌環境の多様化が菌根菌の種数増大の要因であると考えられた。

さらに地下部菌根菌の解析では、順位-相対数量図によって群集構造についても調べた。その結果、地下部菌根菌の群集構造が、ミヤマヤナギの成長に伴って、幾何級数タイプから対数正規タイプへと移行していくことを明示した。また、発達したミヤマヤナギの内部ほど明瞭な対数正規タイプになることも示した。このような群集構造の変化は、植生遷移に伴う植物群落の発達過程で数多く示されている (e.g. Tokeshi 1993)。つまり、ミヤマヤナギの成長に伴って、地下部外生菌根菌の群集構造が発達・成熟していることが明らかにされたものと考えられる。

以上のように、富士山火山荒原における地上部の菌根性子実体群集と地下部外生菌根菌群集の定量的解析により、外生菌根菌の一次遷移について、菌根菌の出現順序、種の豊かさ、各菌種の相対数量、群集構造、空間分布などの詳細を明らかにすることができた。これにより、「外生菌根菌の一次遷移モデル」を確立できたものとする。

外生菌根菌の群集構造を決定する要因

パッチ内の菌根菌群集は植生発達に伴って豊かになっていく。このような変化はどのような原因で進行するのだろうか？富士山火山荒原における菌根性子実体や地下部菌根菌の空間分布の解析から、一つのパッチ内においても、パッチの内部と外部では外生菌根菌の種構成や群集構造が大きく異なることが分かった（第2, 3章）。発達した植生パッチの内部ではリターが蓄積し、土壌中の有機質や窒素量が増加していることが報告されている（Hirose & Tateno 1984）。外生菌根菌の群集構造が、リターや土壌の性質に影響されることはいくつかの研究から示唆されている（e.g. Conn & Dighton 2000）。今回得られた結果は、一次遷移の初期過程における植生の発達に伴う土壌の変化が、外生菌根菌の群集構造を決定する大きな要因であることを示している。

同じような個体サイズを持つミヤマヤナギでも、健全な個体と不健全な個体とが存在し、光合成活性や葉内養分濃度に大きな差異が認められた（第2章）。そして、健全なミヤマヤナギと不健全なミヤマヤナギとでは、共生する外生菌根菌の種組成が大きく異なっていた（第2, 3章）。健全なミヤマヤナギ個体には大きな子実体重量を持つハマニセシヨウロが高頻度に見られ、不健全なミヤマヤナギ個体には子実体発生が少なく、「いわゆるキノコ」を作らない *Thelephoraceae* や *Cenococcum geophilum* などの相対菌根数が多かった。このことから、宿主の生育活性、特に宿主からの光合成産物供給の多少が、外生菌根菌の群集構造を決定するもう一つの大きな要因であることが考えられる。

外生菌根菌の種組成や群集構造がどのような要因で決定されるのかについては、既に様々なアプローチによる示唆的な報告がある。伐採などの森林施業（e.g. Hagerman *et al.* 1999, 2001）や山火事などの攪乱（e.g. Grogan *et al.* 2000）によって、外生菌根菌群集は大きく変化することが示されている。また、大気汚染に伴う窒素降下物の増加の影響や、実験的に林地に窒素施肥を行うことによって、外生菌根菌の群集構造が変化するという報告もある（Kårén & Nylund 1997, Wallenda & Kottke 1998, Lilleskov *et al.* 2001, 2002）。その他、オゾンや酸性降下物、二酸化炭素濃度、土壌の重金属汚染など、外生菌根菌の群集構造は多くの要因によって影響されることが知られている。

しかし、外生菌根菌の群集構造とは、こうした要因が外生菌根菌、あるいは宿主に対して作用することによって、つまり一方向の作用によって決定されるものではないと考えられる。例えば、宿主の生育の結果生ずる土壌変化や、宿主の生理活性がミヤマヤナギ成木の菌根菌の群集構造を決定する要因であることは上述したが、接種する菌根菌の菌種によって宿主の生理活性そのものが大きく異なっていた（第6章）。また、土壌は菌根菌群集に影響を与えることは既に述べたが、逆に土壌への有機物供給は菌根菌が最も大きな要素であることが示されている（Högberg *et al.* 2001）。つまり、外生菌根菌の群集構造は、宿主と菌根菌の個々の特性や相互作用に加え、その両者と環境要因との相互作用も絡んだ複雑で微妙なバランスの上に決定されるものとするが、その詳細な機構を

明らかにするためにはさらに多くの実験的研究が必要であろう。

一次遷移地というフィールドにおける植物の生育と外生菌根菌

これまで、外生菌根菌の共生が植物の成長を促進することについては、多くの樹種と菌種の組み合わせによる実験的な研究によって示されてきた (Smith & Read 1997)。親和性のある外生菌根菌の欠如した状態では外来樹種の造林が失敗することから (Mikola 1970)、フィールドにおける宿主植物の生育にも外生菌根共生が重要な働きをしているものと考えられていた。しかし、ほとんどのフィールドでは、何らかの外生菌根菌が在来植物に自然感染することから、菌根菌の感染しない対照区を得られず、菌根菌の持つ在来植物への成長促進機構を厳密に評価するのは難しい。しかし、本研究では、外生菌根菌の自然感染が行われにくい一次遷移の初期過程にある火山荒原をフィールドとしたことから、フィールドにおける外生菌根共生の機能と役割について、数多くの貴重な知見が得られた。

富士山火山荒原の同じ場所に植栽したミヤマヤナギ当年生実生 (不健全なミヤマヤナギ成木の近傍) でも、菌根を形成した実生は、菌根を形成しなかったものよりその成長が有意に良かった (第4章)。このことから菌根共生の有無が実生の定着に大きな影響を及ぼすものと考えられる。さらに、植栽したミヤマヤナギ当年生実生に自然に形成された外生菌根の数と実生の成長との間には正の相関関係が見られたのに加え、実生一本に共生する菌種数が増加するに従って実生の成長が促進される傾向が認められた (第4章)。こうしたことから、外生菌根菌の感染の有無に加えて、感染の程度や共生する菌根菌の種組成も、実生の生育に影響するものと考えられる。

植栽した実生への外生菌根形成は、既に成立したミヤマヤナギ成木に隣接した場所以外ではほとんど見られなかった (第4章)。この結果、裸地やミヤマヤナギ成木のない場所でのミヤマヤナギ実生の生育は悪く、ミヤマヤナギ成木の近傍に植栽した実生とは有意な成長差が認められた。これは既に定着した植物が後から侵入する植物の定着を促進する現象の一つと捉えることができる。こうした植物個体間の facilitation 作用については環境条件の厳しい場所で多数報告されている (e.g. Pugnaire *et al.* 1996, Bellingham *et al.* 2001)。facilitation 作用のメカニズムとしては、先に定着した植物によって土壌養分、土壌水分などが改善されること、過酷な自然条件下での庇護効果などがこれまで明らかにされてきた (Callaway 1995, Bertness & Leonard 1997)。今回行った富士山の火山荒原における植栽実験は、一次遷移初期過程における植物間の facilitation 機構に、外生菌根菌が介在することを初めて提唱するものである。

不健全なミヤマヤナギ成木近傍と、健全なミヤマヤナギ近傍とでは、植栽した実生の成長は後者の方が有意に良かった (第4章)。この二つの場所で実生に感染した菌種を比べると、共通する菌種が優占していた。一方、健全なミヤマヤナギ成木の近傍では、宿主から十分な光合成産物の供給を受けて根外菌系体が発達しているが、それによる感染は孢子由来の感染よりも早い時期に起こるものと考えられる。実際に現地で行った根外菌系体による感染試験で得られたミヤマヤナギ当年生実生には、不健全な成木の近傍に植栽した実生に見られた菌種を用いても、健全な成木近傍に植栽した実生と同等な成長促進効果が見られた (第6章)。このことから、健全なミヤマヤナギ成木と不健全なミヤ

マヤマギ成木の近傍における当年生実生の成長の違いは、感染する菌根菌の菌種の違いよりも、感染方法の違いがより大きく影響したものと考える。つまり、新たな実生の定着には、既に定着している健全なミヤマヤナギ成木の近傍で、根外菌糸体によって早い時期に菌根菌に感染することが重要なのであろう。

本研究では、この根外菌糸体による感染に着目し、フィールドでの実験的な解析をさらに行った。このフィールドではミヤマヤナギ実生が単独で更新することはなく、必ず他の植物あるいはミヤマヤナギ成木と隣接して定着する(第4章参照)。スコリアの移動が激しいこの場所では、イタドリやミヤマヤナギ成木によって土壌表層が安定した場所にしか物理的に定着できないのである。このため、ミヤマヤナギ実生が定着可能な場所では、必ず他の植物個体とミヤマヤナギ実生との競合が行われることになる。こうした条件で、ミヤマヤナギ成木の菌根から伸びる根外菌糸体による実生への菌根菌感染を考えた場合、成木の根と実生の根は同じ菌根菌を共有し、同所的に存在することから、養分の獲得を巡って互いに競合することを考えなければならない。第6章で行った1年生の母苗と当年生実生をセットで植栽する実験で、母苗と一緒に植えなかった区の実生の成長が一番良かったことから、成木との養分競合の存在を推し量ることができる。

こうした成木と実生との競合に菌根菌の根外菌糸体の共有がどのように影響するのかを調べるため、1年生のミヤマヤナギ菌根苗(対照区は1年生の無菌根苗)と隣接してミヤマヤナギの種子を播種し、当年生実生に感染させる実験を現地で行った。根外菌糸体によって菌根菌に感染したミヤマヤナギ当年生実生の養分含量や乾重は、感染実験に用いた11菌種の全てにおいて、対照区よりも高い平均値を示した。これまで、外生菌根菌の多くは植物が利用できない窒素化合物やリン酸化合物を利用できることが示されている(e.g. Abuzinadah *et al.* 1986, Lapeyrie *et al.* 1991)。今回の結果は、こうした外生菌根菌の機能により、1年生の母苗と当年生実生の競合下においても、同じ菌根菌を共有することが当年生実生の生育にプラスになることを示しているものとする。

実験室の環境下では、外生菌根菌の菌種によって宿主に及ぼす影響が大きく異なることが数多く示されているが、フィールドにおいて個々の外生菌根菌の機能を評価することは難しく、これまでほとんど行われていない。第6章で行った根外菌糸体による感染試験では、現地で優占するほとんどの菌種を用いて、個々の菌種の機能を個別に評価した最初の研究である。その結果、養分吸収の程度やそれに伴う成長促進作用には大きな菌種間差があり、実生の窒素含量を比較した場合、最も少なかったウラムラサキ感染実生と最も多かった *H. leucosarx* 感染実生とでは8.2倍の差があった。実生の平均乾重量で比較した場合も、この2つの菌種では4.1倍の差が認められた。このような養分吸収促進作用・成長促進作用の大きな菌種間差は、根外菌糸体を介して感染する菌根菌の菌種の違いが、富士山火山荒原におけるミヤマヤナギ実生の定着を左右する大きな要因となりうることを示すものである。

本研究では、遷移の初期過程における外生菌根共生による植物の成長促進機構について、そのメカニズムの一端も明らかにすることができた。他の一次遷移初期過程と同様に、富士山の火山荒原でも、土壌中の養分、特に窒素が非常に限られている(Hirose & Tateno 1984)。ミヤマヤナギ成木の単位葉量あたりの光合成速度と葉内窒素濃度との間には明確な相関関係があったほか(第2章)、実生の成長量と窒素含量との間にも明確な相

関係が認められた (第4, 6章)。さらに、外生菌根菌を現地で感染させた実生の多くは、対照苗に比べて有意に多い窒素を吸収していた (第6章)。これまで、外生菌根菌の多くは、様々な形態の有機態窒素化合物や無機窒素化合物を利用することが示されている (e.g. Abuzinadah & Read 1986a, Keller 1996)。このような菌根菌が吸収した窒素養分は宿主植物にも供給されることが知られている (e.g. Abuzinadah *et al.* 1986)。こうしたことから、本研究で見られた一次遷移地における外生菌根共生による宿主植物の成長促進は、窒素吸収量の増大が主因となってもたらされたものと推測される。

植生回復や遷移におよぼす菌根菌の影響の重要性

未だに地表面の90%以上が裸地である富士山火山荒原のこの場所で、更に植生が回復するためには、新たな植物個体の定着が必要不可欠である。ミヤマヤナギは現存植生のおよそ2割を占める主要な構成要素であり、木本植物としては最も被覆面積が大きい。このミヤマヤナギのジェネット解析によって、サイズの大きいミヤマヤナギパッチは多数の遺伝的に異なる個体の集合体であることが示されている (Lian *et al.* 2003)。このことから、一つのミヤマヤナギ成木の近傍で新しいミヤマヤナギ実生が定着してきたことが考えられる。そして、自然に定着したミヤマヤナギ実生が見られるのも、いくつかのミヤマヤナギ成木の近傍に限られる。既に示したように、ミヤマヤナギ実生の生育には、菌根菌を介在したミヤマヤナギ成木の facilitation 作用が大きく影響している。この場所で更にミヤマヤナギ実生が定着し、植生が回復していくためには外生菌根菌の働きが必要条件になるものと考えられる。

外生菌根菌のミヤマヤナギへの貢献は実生の段階にとどまらない。富士山火山荒原では、健全なミヤマヤナギ成木と生育の悪いミヤマヤナギ成木が存在していた (第2章)。不健全なミヤマヤナギ成木では、隣接して植栽した実生に根外菌糸体による菌根菌の感染はほとんど見られず (第4章)、子実体の発生も少ないことから菌根菌の孢子生産量も限られる (第2章)。不健全なミヤマヤナギ成木自身の成長も遅く、種子生産量も少ないことから、植生回復への貢献は少ないものと考えられる。これに対し、健全なミヤマヤナギ成木に共生する外生菌根菌は、豊富な光合成産物の供給を受けて根外菌糸体の発達も良いことから、隣接して植栽した全ての実生に根外菌糸体によって感染した可能性が高い (第4章)。さらに、健全なミヤマヤナギ成木からは最大で葉量の約19%にも達する菌根性子実体が発生した (第2章)。こうした子実体は、周囲へ大量の孢子を供給することによって、菌根菌の新たな場所での定着の可能性を高めるであろう。そして、健全なミヤマヤナギ成木は、それ自体の成長速度も速く、種子の生産量も多い。このように、健全なミヤマヤナギ成木-外生菌根菌共生系は、菌と植物が互いに協調し、それぞれの無性繁殖と有性繁殖を活発に行う関係であり、富士山火山荒原の植生回復の核として機能しているものと考えられる。

この火山荒原では、ミヤマヤナギの後にカラマツとダケカンバの侵入が見られる。この両樹種は高木性であり、その侵入は森林の形成へと向かう植生遷移において大切な段階である。本研究で植栽したカラマツとダケカンバ当年生実生への菌根形成は、ミヤマヤナギ成木のないパッチではほとんど見られなかった。ミヤマヤナギ成木の近傍に植栽したこれらの実生は、ほとんど全て外生菌根を形成し、そのほとんど全てはミヤマヤナ

ギ成木に共生する菌種と同じであった(第4章)。この結果は、先に定着した植物が、後から侵入する異樹種の実生の菌根形成に対してもfacilitation効果を及ぼしていることを示すものである。調査地内で自然に定着したカラマツとダケカンバは非常に少ないが、より植生回復の進んだ標高の低い場所では多数見られる。こうしたカラマツとダケカンバが存在する植生パッチにはミヤマヤナギが必ず存在する。植栽時期の問題によって、菌根形成に伴う成長促進作用をミヤマヤナギ以外で明らかにすることはできなかったが、富士山火山荒原において、ミヤマヤナギの後から侵入するカラマツとダケカンバ実生の定着には、ミヤマヤナギ成木に共生する菌根菌の菌糸体による感染が不可欠なものと予想される。つまり、外生菌根菌は植生遷移を繋ぐ重要な存在でもあると言えよう。

本研究では、富士山火山荒原において、地上部の子実体群集と地下部菌根菌群集の両面から、菌根菌の種組成、種の豊かさ、群集構造、空間分布などの宿主の成長に伴う変化を明らかにし、「外生菌根菌の一次遷移モデル」を初めて確立した。さらに、一次遷移初期過程における木本植物実生の定着には、既に定着した成木による実生の菌根形成促進が重要であることを示すとともに、植物間のfacilitation作用に外生菌根菌が介在することを解明した。そして、外生菌根菌の根外菌糸体による感染が、実際のフィールドにおけるミヤマヤナギ実生の成長を促進する機構を明らかにするとともに、その成長促進作用の大きな菌種間差を示した。このような植物の成長と菌根菌の機能に関する研究成果は、一次遷移初期過程における外生菌根共生の果たす役割についてのモデルを提唱するものであるとともに、外生菌根菌の機能が植生回復や植生遷移に決定的な影響を及ぼしうることを示すものである。

謝 辞

東京大学の宝月岱造教授には、本研究をとりまとめるにあたり、多くのご支援をいただくとともに、様々なご指導を賜った。また、東京大学の鈴木和夫教授、大澤雅彦教授、福田健二助教授、小島克己助教授には、それぞれご専門の立場から本論文に対して貴重なご意見とご批評をいただいた。これらの方々に深く感謝の意を表したい。

富士山の野外調査をともに行った中屋博順氏には、その協力だけでなく、研究への熱意の重要性を思い起こさせていただいた。溝口岳男氏、菊地淳一氏、三輪誠博士、呉炳雲博士、松田陽介博士には、多くの知見とご助言をいただいた。佐々木廣海氏には、貴重な地下生菌の子実体を多数提供していただいた。東京大学アジア生物資源環境研究センター共生機能開発研究室に所属したポスドクの方々や大学院生、東京大学農学部附属演習林田無試験地の方々には野外調査や実験を間接的にサポートをしていただいた。最後に、妻陽子には研究活動への快い理解と支援をいただいた。以上の方々に深く御礼申し上げます。

引用文献

- Abuzinadah RA, Read DJ. 1986a.** The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants: I. Utilization of peptides and proteins by ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist* **103**: 481-494.
- Abuzinadah RA, Read DJ. 1986b.** The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants: III. Protein utilization by *Betula*, *Picea* and *Pinus* in mycorrhizal association with *Hebeloma crustuliniforme*. *New Phytologist* **103**: 507-514.
- Abuzinadah RA, Finlay RD, Read DJ. 1986.** The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants: II. Utilization of protein by mycorrhizal plants of *Pinus contorta*. *New Phytologist* **103**: 495-506.
- Adachi N, Terashima I, Takahashi M. 1996.** Central die-back of monoclonal stands of *Reynoutria japonica* in an early stage of primary succession on Mount Fuji. *Annals of Botany* **77**: 477-486.
- Agerer R. 1987-1997.** *Colour Atlas of Ectomycorrhizae*. Schwäbisch Gm,nd, Germany: Einhorn-Verlag.
- Alexander IJ, Högborg P. 1986.** Ectomycorrhizas of tropical angiospermous trees. *New Phytologist* **102**: 541-550.
- Ali NA, Jackson RM. 1988.** Effects of plant roots and their exudates on germination of spores of ectomycorrhizal fungi. *Transactions of the British Mycological Society* **91**: 253-260.
- Allen EB, Allen MF. 1984.** Competition between plants of different successional stages: Mycorrhizae as regulators. *Canadian Journal of Botany* **62**: 2625-2629.
- Allen MF, Crisafulli C, Friese CF, Jeakins SL. 1992.** Re-formation of mycorrhizal symbioses on Mount St Helens, 1980-1990: Interactions of rodents and mycorrhizal fungi. *Mycological Research* **96**: 447-453.
- 青島清雄・椿啓介・三浦宏一郎 1983. 菌類研究法. 共立出版, 東京.
- Arnebrant K, Ek H, Finlay RD, Söderstrom B. 1993.** Nitrogen translocation between *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. seedlings inoculated with *Frankia* sp. and *Pinus contorta* Dougl. ex Loud seedlings connected by a common ectomycorrhizal mycelium. *New Phytologist* **124**: 231-242.
- Baar J, Bastiaans T, van de Coevering MA, Roelofs JGM. 2002.** Ectomycorrhizal root development in wet Alder carr forests in response to desiccation and eutrophication. *Mycorrhiza* **12**: 147-151.
- Baar J, Horton TR, Kretzer AM, Bruns TD. 1999.** Mycorrhizal colonization of *Pinus muricata* from resistant propagules after a stand-replacing wildfire. *New Phytologist* **143**: 409-418.
- Baxter JW, 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.
- Bellingham PJ, Walker LR, Wardle DA. 2001.** Differential facilitation by a nitrogen-fixing shrub during primary succession influences relative performance of canopy tree species. *Journal of Ecology* **89**: 861-875.
- Bertness MD, Leonard GH. 1997.** The role of positive interactions in communities: lessons from intertidal habitats. *Ecology* **78**: 1976-1989.

- Blundon DJ, MacIsaac DA, Dale MRT. 1993.** Nucleation during primary succession in the Canadian Rockies. *Canadian Journal of Botany* **71**: 1093-1096.
- Brandrud TE, Lindström H, Marklund H, Melot J, Muskos S. 1989-1998+.** *Cortinarius flora photographica*. Matfors, Sweden: Cortinarius HB.
- Breitenbach J, Kränzlin F. 1984.** *Fungi of Switzerland Vol. 1*. Lucerne, Switzerland: Mykologia Lucerne.
- Breitenbach J, Kränzlin F. 1986.** *Fungi of Switzerland Vol. 2*. Lucerne, Switzerland: Mykologia Lucerne.
- Breitenbach J, Kränzlin F. 1991.** *Fungi of Switzerland Vol. 3*. Lucerne, Switzerland: Mykologia Lucerne.
- Breitenbach J, Kränzlin F. 1995.** *Fungi of Switzerland Vol. 4*. Lucerne, Switzerland: Mykologia Lucerne.
- Breitenbach J, Kränzlin F. 2000.** *Fungi of Switzerland Vol. 5*. Lucerne, Switzerland: Mykologia Lucerne.
- Brundrett M, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N. 1996.** *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agriculture Research.
- Bruns T, Tan J, Bidartondo M, Szaro T, Redecker D. 2002.** Survival of *Suillus pungens* and *Amanita francheti* ectomycorrhizal genets was rare or absent after a stand-replacing wildfire. *New Phytologist* **155**: 517-523.
- Callaway RM. 1995.** Positive interactions among plants. *Botanical Review* **61**: 306-349.
- Cázares E, Trappe JM. 1994.** Spore dispersal of ectomycorrhizal fungi on a glacier forefront by mammal mycophagy. *Mycologia* **86**: 507-510.
- Chapin FS, III, Walker LR, Fastie CL, Sharman LC. 1994.** Mechanisms of primary succession following deglaciation at Glacier Bay, Alaska. *Ecological Monographs* **64**: 149-175.
- Conn C, Dighton J. 2000.** Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* **32**: 489-496.
- Cullings KW, Vogler DR, Parker VT, Finley SK. 2000.** Ectomycorrhizal specificity patterns in a mixed *Pinus contorta* and *Picea engelmannii* forest in Yellowstone National Park. *Applied and Environmental Microbiology* **66**: 4988-4991.
- Dahlberg A. 1997.** Population ecology of *Suillus variegatus* in old Swedish Scots pine forests. *Mycological Research* **101**: 47-54.
- Dahlberg A, Finlay RD. 1999.** *Suillus*. In: Cairney JWG, Chambers SM eds. *Ectomycorrhizal fungi: key genera in profile*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 33-64.
- Dahlberg A, Stenlid J. 1994.** Size, distribution and biomass of genets in populations of *Suillus bovinus* (L.: Fr.) Roussel revealed by somatic incompatibility. *New Phytologist* **128**: 225-234.
- Dahlberg A, Jonsson L, Nylund JE. 1997.** Species diversity and distribution of biomass above and below ground among ectomycorrhizal fungi in an old-growth Norway spruce forest in south Sweden. *Canadian Journal of Botany* **75**: 1323-1335.
- Danell E, Fries N. 1990.** Methods for isolation of *Cantharellus* spp., and the synthesis of ectomycorrhizae with *Picea abies*. *Mycotaxon* **38**: 141-148.
- Deacon JW, Donaldson SL, Last FT. 1983.** Sequences and interactions of mycorrhizal fungi of birch. *Plant and Soil* **71**: 257-262.

- Dickie IA, Koide RT, Steiner KC. 2002.** Influences of established trees on mycorrhizas, nutrition, and growth of *Quercus rubra* seedlings. *Ecological Monographs* **72**: 505-521.
- Dickie IA, Xu B, Koide RT. 2002.** Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytologist* **156**: 527-535.
- Dighton J, Poskitt JM, Howard DM. 1986.** Changes in occurrence of basidiomycete fruit-bodies during forest stand development: With specific reference to mycorrhizal species. *Transactions of the British Mycological Society* **87**: 163-171.
- Duddridge JA, Finlay RD, Read DJ, Söderstrom B. 1988.** The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants: III. Ultrastructural and autoradiographic analysis of inter-plant carbon distribution through intact mycelial systems. *New Phytologist* **108**: 183-188.
- Finlay RD. 1989.** Functional aspects of phosphorus uptake and carbon translocation in incompatible ectomycorrhizal associations between *Pinus sylvestris* and *Suillus grevillei* and *Boletinus cavipes*. *New Phytologist* **112**: 185-192.
- Finlay RD, Read DJ. 1986a.** The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants: I. Translocation of carbon-14 labeled carbon between plants interconnected by a common mycelium. *New Phytologist* **103**: 143-156.
- Finlay RD, Read DJ. 1986b.** The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants: II. The uptake and distribution of phosphorus by mycelial strands interconnecting host plants. *New Phytologist* **103**: 157-166.
- Finlay RD, Frostegard A, Sonnerfeldt AM. 1992.** Utilization of organic and inorganic nitrogen sources by ectomycorrhizal fungi in pure culture and in symbiosis with *Pinus contorta* Dougl. ex Loud. *New Phytologist* **120**: 105-115.
- Fleming LV. 1983.** Succession of mycorrhizal fungi on birch: infection of seedlings planted around mature trees. *Plant and Soil* **71**: 263-267.
- Fleming LV. 1984.** Effects of soil trenching and coring on the formation of ectomycorrhizas on birch (*Betula pendula*) seedlings grown around mature trees. *New Phytologist* **98**: 143-154.
- Fleming LV, Deacon JW, Last FT, Donaldson SJ. 1984.** Influence of propagating soil on the mycorrhizal succession of birch seedlings transplanted to a field site. *Transactions of the British Mycological Society* **82**: 707-711.
- Forgel R, Hunt G. 1979.** Fungal and arboreal biomass in a western Oregon Douglas-fir ecosystem: distribution patterns and turnover. *Canadian journal of forest research* **9**: 245-256.
- Fox FM. 1986.** Groupings of ectomycorrhizal fungi of birch and pine, based on establishment of mycorrhizas on seedlings from spores in unsterile soils. *Transactions of the British Mycological Society* **87**: 371-380.
- Fries N. 1978.** Basidiospore germination in some mycorrhiza-forming hymenomycetes. *Transactions of the British Mycological Society* **70**: 319-324.
- Fries N. 1987.** Ecological and evolutionary aspects of spore germination in the higher Basidiomycetes. *Transactions of the British Mycological Society* **88**: 1-7.
- Fries N, Serck Hanssen K, Dimberg LH, Theander O. 1987.** Abietic acid, an activator of basidiospore germination in ectomycorrhizal species of the genus *Suillus* (Boletaceae). *Experimental Mycology* **11**: 360-363.
- Gardes M, Bruns TD. 1993.** ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology* **2**: 113-118.
- Gardes M, Bruns TD. 1996.** Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata*

- forest: Above- and below-ground views. *Canadian Journal of Botany* **74**: 1572-1583.
- Gardes M, Dahlberg A. 1996.** Mycorrhizal diversity in arctic and alpine tundra: an open question. *New Phytologist* **133**: 147-157.
- Graf F. 1994.** Ecology and sociology of macromycetes in snow-beds with *Salix herbacea* L. in the alpine Valley of Radönt (Grisons, Switzerland). *Dissertationes Botanicae* **235**: 1-242.
- Graf F, Brunner I. 1996.** Natural and synthesized ectomycorrhizas of the alpine dwarf willow *Salix herbacea*. *Mycorrhiza* **6**: 227-235.
- Grime JP. 1979.** *Plant strategies and vegetation processes*. New York, USA: Wiley.
- Grime JP. 2001.** *Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties*. New York, USA: Wiley.
- Grogan P, Baar J, Bruns TD. 2000.** Below-ground ectomycorrhizal community structure in a recently burned bishop pine forest. *Journal of Ecology* **88**: 1051-1062.
- Gryta H, Debaud JC, Effosse A, Gay G, Marmeisse R. 1997.** Fine-scale structure of populations of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* in coastal sand dune forest ecosystems. *Molecular Ecology* **6**: 353-364.
- Guzman G. 1970.** Monografía del género *Scleroderma* Pers. emend. Fr. *Darwiniana* **16**: 233-407.
- Hagerman SM, Jones MD, Bradfield GE, Gillespie M, Durall DM. 1999.** Effects of clear-cut logging on the diversity and persistence of ectomycorrhizae at a subalpine forest. *Canadian Journal of Forest Research* **29**: 124-134.
- Hagerman SM, Sakakibara SM, Durall DM. 2001.** The potential for woody understory plants to provide refuge for ectomycorrhizal inoculum at an interior Douglas-fir forest after clear-cut logging. *Canadian Journal of Forest Research* **31**: 711-721.
- Hansen L, Knudsen H. 1992.** *Nordic macromycetes* Vol. 2. Copenhagen, Denmark: Nordsvamp.
- Hansen L, Knudsen H. 1997.** *Nordic macromycetes* Vol. 3. Copenhagen, Denmark: Nordsvamp.
- Harley JL, Smith SE. 1983.** *Mycorrhizal symbiosis*. London, UK: Academic Press.
- Hashimoto Y, Hyakumachi M. 2001.** Effects of isolates of ectomycorrhizal fungi and endophytic *Mycelium radialis atrovirens* that were dominant in soil from disturbed sites on growth of *Betula platyphylla* var. *japonica* seedlings. *Ecological Research* **16**: 117-125.
- Heinonen-Tanski H, Holopainen T. 1991.** Maintenance of ectomycorrhizal fungi. In: Norris JR, Read DJ, Varma AK eds. *Methods in microbiology* **23**. London, UK: Academic Press, 413-422.
- Helm DJ, Allen EB. 1995.** Vegetation chronosequence near Exit Glacier, Kenai Fjords National Park, Alaska, U.S.A. *Arctic and Alpine Research* **27**: 246-257.
- Helm DJ, Allen EB, Trappe JM. 1996.** Mycorrhizal chronosequence near Exit Glacier, Alaska. *Canadian Journal of Botany* **74**: 1496-1506.
- Helm DJ, Allen EB, Trappe JM. 1999.** Plant growth and ectomycorrhiza formation by transplants on deglaciated land near Exit Glacier, Alaska. *Mycorrhiza* **8**: 297-304.
- Hendrix JW, Hunt CS, Maronek DM. 1985.** Relationship between the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* associated with loblolly pine and acid-generating *Thiobacillus* spp. on an acidic strip mine site. *Canadian Journal of Microbiology* **31**: 878-879.
- Hirose T, Tateno M. 1984.** Soil nitrogen patterns induced by colonization of *Polygonum cuspidatum* on Mt. Fuji. *Oecologia* **61**: 218-223.
- 本郷次雄・今関六也. 1987. 原色日本新菌類図鑑 (1). 保育社, 東京. 325 pp.
- 本郷次雄・今関六也. 1989. 原色日本新菌類図鑑 (2). 保育社, 東京. 315 pp.
- Horton TR, Bruns TD. 1998.** Multiple-host fungi are the most frequent and abundant

- ectomycorrhizal types in a mixed stand of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and bishop pine (*Pinus muricata*). *New Phytologist* **139**: 331-339.
- Horton TR, Bruns TD. 2001.** The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology* **10**: 1855-1871.
- Horton TR, Bruns TD, Parker VT. 1999.** Ectomycorrhizal fungi associated with *Arctostaphylos* contribute to *Pseudotsuga menziesii* establishment. *Canadian Journal of Botany* **77**: 93-102.
- Horton TR, Cázares E, Bruns TD. 1998.** Ectomycorrhizal, vesicular-arbuscular and dark septate fungal colonization of bishop pine (*Pinus muricata*) seedlings in the first 5 months of growth after wildfire. *Mycorrhiza* **8**: 11-18.
- Högberg P, Nordgren A, Buchmann N, Taylor AFS, Ekblad A, Högberg MN, Nyberg G, Ottosson LM, Read DJ. 2001.** Large-scale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration. *Nature* **411**: 789-792.
- Ingleby K, Last FT, Mason PA. 1985.** Vertical distribution and temperature relations of sheathing mycorrhizas of *Betula* spp. growing on coal spoil. *Forest Ecology and Management* **12**: 279-286.
- Jonsson L, Dahlberg A, Nilsson MC, Kårén O, Zackrisson O. 1999a.** Continuity of ectomycorrhizal fungi in self-regenerating boreal *Pinus sylvestris* forests studied by comparing mycobiont diversity on seedlings and mature trees. *New Phytologist* **142**: 151-162.
- Jonsson L, Dahlberg A, Nilsson MC, Zackrisson O, Kårén O. 1999b.** Ectomycorrhizal fungal communities in late-successional Swedish boreal forests, and the composition following wildfire. *Molecular Ecology* **8**: 205-215.
- Jumpponen A, Mattson K, Trappe JM, Ohtonen R. 1998.** Effects of established willows on primary succession on Lyman Glacier forefront, Noth Cascade Range, Washington, U.S.A.: evidence for simultaneous canopy inhibition and soil facilitation. *Arctic and Alpine Research* **30**: 31-39.
- Jumpponen A, Trappe JM, Cázares E. 1999.** Ectomycorrhizal fungi in Lyman Lake Basin: A comparison between primary and secondary successional sites. *Mycologia* **91**: 575-582.
- Jumpponen A, Trappe JM, Cázares E. 2002.** Occurrence of ectomycorrhizal fungi on the forefront of retreating Lyman Glacier (Washington, USA) in relation to time since deglaciation. *Mycorrhiza* **12**: 43-49.
- Kanchanaprayudh J, Zhou Z, Yomyart S, Sihanonth P, Hogetsu T. 2003.** Molecular phylogeny of ectomycorrhizal *Pisolithus* fungi associated with pine, dipterocarp, and eucalyptus trees in Thailand. *Mycoscience* **44**: 287-294.
- Kårén O, Nylund JE. 1997.** Effects of ammonium sulphate on the community structure and biomass of ectomycorrhizal fungi in a Norway spruce stand in southwestern Sweden. *Canadian Journal of Botany* **75**: 1628-1642.
- Kårén O, Högberg N, Dahlberg A, Jonsson L, Nylund JE. 1997.** Inter- and intraspecific variation in the ITS region of rDNA of ectomycorrhizal fungi in Fennoscandia as detected by endonuclease analysis. *New Phytologist* **136**: 313-325.
- Keller G. 1996.** Utilization of inorganic and organic nitrogen sources by high-subalpine ectomycorrhizal fungi of *Pinus cembra* in pure culture. *Mycological Research* **100**: 989-998.
- 菊地淳一・小川真. 1997.** 共生微生物を利用したフタバガキの育苗. 熱帯林業 **38**: 36-48.

- Kirk PM, Cannon JC, David JC, Stalpers JA. 2001. *Dictionary of the fungi 9th edition*. Oxford, UK: CAB International.
- Ladurner H, Simonini G. 2003. *Fungi Europaei 8: Xerocomus*. Alassio, Italy: Edizioni Candusso.
- Lamhamedi MS, Godbout C, Fortin JA. 1994. Dependence of *Laccaria bicolor* basidiome development on current photosynthesis of *Pinus strobus* seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* **24**: 1797-1804.
- Lannoy G, Estades A. 1995. *Monographie des Leccinum d'Europe*. Paris, France: Chevallier Imprimeurs.
- Lapeyrie F, Chilvers GA, Bhem CA. 1987. Oxalic acid synthesis by the mycorrhizal fungus *Paxillus involutus* (Batsch, ex Fr.) Fr. *New Phytologist* **106**: 139-146.
- Lapeyrie F, Ranger J, Vairelles D. 1991. Phosphate-solubilizing activity of ectomycorrhizal fungi *in vitro*. *Canadian Journal of Botany* **69**: 342-346.
- Last FT, Mason PA, Ingleby K, Fleming LV. 1984. Succession of fruitbodies of sheathing mycorrhizal fungi associated with *Betula pendula*. *Forest Ecology and Management* **9**: 229-234.
- Last FT, Pelham J, Mason PA, Ingleby K. 1979. Influence of leaves on sporophore production by fungi forming sheathing mycorrhizas with *Betula* spp. *Nature* **280**: 168-169.
- Leake JR, Donnelly DP, Saunders EM, Boddy L, Read DJ. 2001. Rates and quantities of carbon flux to ectomycorrhizal mycelium following ¹⁴C pulse labeling of *Pinus sylvestris* seedlings: Effects of litter patches and interaction with a wood-decomposer fungus. *Tree Physiology* **21**: 71-82.
- Lee SS, Lim KL. 1989. Mycorrhizal infection and foliar phosphorus content of seedlings of three dipterocarp species growing in a selectively logged forest and a forest plantation. *Plant and Soil* **117**: 237-242.
- Lilleskov EA, Fahey TJ, Horton TR, Lovett GM. 2002. Belowground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska. *Ecology* **83**: 104-115.
- Lilleskov EA, Fahey TJ, Lovett GM. 2001. Ectomycorrhizal fungal aboveground community change over an atmospheric nitrogen deposition gradient. *Ecological Applications* **11**: 397-410.
- Lian C, Oishi R, Miyashita N, Nara K, Nakaya H, Zhou Z, Wu B, Hogetsu T. 2003. Genetic structure and reproduction dynamics of *Salix reinii* during primary succession on Mt. Fuji, as revealed by nuclear and chloroplast microsatellite analysis. *Molecular Ecology* **12**: 609-618.
- Liu WT, Marsh TL, Cheng H, Forney LJ. 1997. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphism of genes encoding 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* **63**: 4516-4522.
- Magnússon SH, Magnússon B. 1992. Effect of willow on the establishment of birch from seeds. *Náttúrufræðingurinn* **61**: 95-108. (in Icelandic)
- Marmeisse R, Gryta H, Jargeat P, Fraissinet-Tachet G, Gay G, Debaud JC. 1999. *Hebeloma*. In: Cairney JWG, Chambers SM eds. *Ectomycorrhizal fungi: key genera in profile*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 89-127.
- Martin F, Diez J, Dell B, Delaruelle C. 2002. Phylogeography of the ectomycorrhizal *Pisolithus* species as inferred from nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *New Phytologist* **153**: 345-357.
- Maruta E. 1983. Growth and survival of current-year seedlings of *Polygonum cuspidatum* at the

- upper distribution limit on Mt. Fuji. *Oecologia* **60**: 316-320.
- Marx DH. 1969.** The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. 1. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria. *Phytopathology* **59**: 153-163.
- Mason PA, Last FT, Pelham J, Ingleby K. 1982.** Ecology of some fungi associated with an ageing stand of birches (*Betula pendula* and *B. pubescens*). *Forest Ecology and Management* **4**: 19-39.
- Mason PA, Wilson J, Last FT, Walker C. 1983.** The concept of succession in relation to the spread of sheathing mycorrhizal fungi on inoculated tree seedlings growing in unsterile soils. *Plant and Soil* **71**: 247-256.
- Massicotte HB, Melville LH, Peterson RL, Luoma DL. 1998.** Anatomical aspects of field ectomycorrhizas on *Polygonum viviparum* (Polygonaceae) and *Kobresia bellardii* (Cyperaceae). *Mycorrhiza* **7**: 287-292.
- 増沢武弘 1997.** 高山植物の生態学。220pp. 東京大学出版会。
- Matsuda Y, Hijii N. 1998.** Spatiotemporal distribution of fruitbodies of ectomycorrhizal fungi in an *Abies firma* forest. *Mycorrhiza* **8**: 131-138.
- Mehta CR, Patel NR. 1996.** *SPSS Exact tests 7.0 for Windows*. Chicago, US: SPSS Inc.
- Mikola P. 1970.** Mycorrhizal inoculation in afforestation. In: *International Review of Forestry Research Vol. 3*. New York and London: Academic Press, 123-196.
- Miller FM. 1979.** Some occurrences of vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural and disturbed ecosystems of the Red Desert. *Canadian Journal of Botany* **57**: 619-623.
- Moeseneder MM, Arrieta JM, Muiyzer G, Winter C, Herndl G. 1999.** Optimization of terminal-restriction fragment length polymorphism analysis for complex marine bacterioplankton communities and comparison with denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology* **65**: 3518-3525.
- Molina R, Massicotte H, Trappe JM. 1992.** Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: community-ecological consequences and practical implications. In: Allen MJ ed. *Mycorrhizal functioning*. London: Chapman and Hall, 357-423.
- Molina R, Trappe JM. 1982.** Lack of mycorrhizal specificity by the Ericaceous hosts *Arbutus menziesii* and *Arctostaphylos uva ursi*. *New Phytologist* **90**: 495-509.
- Montecchi A, Sarasini M. 2000.** *Funghi Ipogei d'Europa*. Trento, Italy: Associazione Micologica Bresadola.
- Morris WF, Wood DM. 1989.** The role of lupine in succession on Mount St. Helens: facilitation or inhibition? *Ecology* **70**: 697-703.
- Mueller GM. 1992.** Systematics of *Laccaria* (Agaricales) in the continental United States and Canada, with descriptions of extant types. *Fieldiana Botany new series* **30**: 1-158.
- 奈良一秀 1998.** ブナ林の共生菌とその役割。金子繁・佐橋憲生 編；ブナ林をはぐくむ菌類 文一総合出版 pp.79-149.
- 奈良一秀・宝月岱造 1996.** 外国産マツを含むマツ属樹木7種への外生菌根菌接種の影響。日林論 **107**: 227-228.
- 奈良一秀, 宝月岱造 1998.** 樹木-外生菌根菌共生系におけるリン酸の動態。日林論 **109**: 287-288.
- Nara K, Hogetsu T. 2004.** Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species. *Ecology* **85**: (in press).
- 奈良一秀・宝月岱造・鈴木和夫 1992.** モミ造林地における外生菌根の空間分布と形態

- 的特徴。東大演報 **87**: 195-204.
- Nara K., Kawahara M., Hogetsu T. 1999.** The application of ectomycorrhizal fungi to dipterocarp seedlings: evaluating the soil substrate used to cultivate mycorrhizal seedlings as an effective inoculum. Proceedings of International Symposium "Can biological production harmonize with environment?: reports from research sites in Asia" pp.127-130, Tokyo.
- Nara K., Kawahara M., Okamura K., Sakurai K., Hogetsu T. 1999.** Prospects and problems pertaining to the application of ectomycorrhizal fungi to dipterocarp seedlings in tropical nurseries. Proceedings of International Symposium "Can biological production harmonize with environment?: reports from research sites in Asia" pp.151-154, Tokyo.
- Nara K, Nakaya H, Hogetsu T. 2003.** Ectomycorrhizal sporocarp succession and production during early primary succession on Mount Fuji. *New Phytologist* **158**: 193-206.
- Nara K, Nakaya H, Wu B, Zhou Z, Hogetsu T. 2003.** Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji. *New Phytologist* **159**: 743-756.
- Nara K., Wu B., Hogetsu T. 2000.** Uptake, translocation and transfer of nutrients in ectomycorrhizal symbioses. Proceedings of 7th international symposium of the mycological society of Japan. (Tukuba) pp.11-14.
- 奈良一秀・呉炳雲・宝月岱造 **2001.** 樹木とキノコの共生 — 放射性同位元素を用いて菌根共生を探る —。東京大学アイソトープ総合センターニュース **32**: 2-5.
- 根田仁 **1997.** 菌類の採集・検出と分離：軟質担子菌類。日本菌学会会報 **38**: 184-188.
- Odum EP. 1971.** *Fundamentals of Ecology, 3rd edition.* Philadelphia, USA: W. B. Saunders.
- Ohsawa M. 1984.** Differentiation of vegetation zones and species strategies in the subalpine region of Mt. Fuji. *Vegetatio* **57**: 15-52.
- Pegler DN, Læssøe T, Spooner BM. 1995.** *British Puffballs, Earthstars and Stinkhorns.* London, UK: Royal Botanic Gardens KEW.
- Pegler DN, Spooner BM, Young TWK. 1993.** *A revision of British hypogeous fungi.* London, UK: Royal Botanic Gardens KEW.
- Peter M, Ayer F, Egli S. 2001.** Nitrogen addition in a Norway spruce stand altered macromycete sporocarp production and below-ground ectomycorrhizal species composition. *New Phytologist* **149**: 311-325.
- Pritsch K, Boyle H, Munch JC, Buscot F. 1997.** Characterization and identification of black alder ectomycorrhizas by PCR/RFLP analyses of the rDNA internal transcribed spacer (ITS). *New Phytologist* **137**: 357-369.
- Pugnaire FI, Haase P, Puigdefabregas J. 1996.** Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology* **77**: 1420-1426.
- Reeves FB, Wagner D, Moorman T, Kiel J. 1979.** The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed vs. natural environments. *American Journal of Botany* **66**: 6-13.
- Robinson D, Fitter A. 1999.** The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network. *Journal of Experimental Botany* **50**: 9-13.
- Rousseau JVD, Sylvia DM, Fox AJ. 1994.** Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient-absorbing surface of pine. *New Phytologist* **128**: 639-644.
- Sarnari M. 1998.** *Monografia illustrata del genere Russula in Europa.* Trento, Italy: Associazione Micologica Bresadola.

- Senn-Irlet B. 1993.** The mycoflora of alpine mire communities rich in *Salix*. In: Petrini O, Laursen GA eds. *Arctic and alpine Mycology*. Berlin, Germany: Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, 235-249.
- Simard SW, Molina R, Smith JE, Perry DA, Jones MD. 1997a.** Shared compatibility of ectomycorrhizae on *Pseudotsuga menziesii* and *Betula papyrifera* seedlings grown in mixture in soils from southern British Columbia. *Canadian Journal of Forest Research* **27**: 331-342.
- Simard SW, Perry DA, Jones MD, Myrold DD, Durall DM, Molina R. 1997b.** Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature* **388**: 579-582.
- Simard SW, Perry DA, Smith JE, Molina R. 1997c.** Effects of soil trenching on occurrence of ectomycorrhizas on *Pseudotsuga menziesii* seedlings grown in mature forests of *Betula papyrifera* and *Pseudotsuga menziesii*. *New Phytologist* **136**: 327-340.
- Smith SE, Read DJ. 1997.** *Mycorrhizal symbiosis, 2nd edn*. London, UK: Academic Press.
- Stangl J. 1989.** *Die gattung Inocybe in Bayern*. Regensburg, Germany: Verlag der Gesellschaft.
- 高木勇夫・丸田恵美子 1996.** 自然環境とエコロジー。228pp. 日科技連出版社。
- Tateno M, Hirose T. 1987.** Nitrification and nitrogen accumulation in the early stages of primary succession on Mt. Fuji. *Ecological Research* **2**: 113-120.
- Taylor AFS. 2002.** Fungal diversity in ectomycorrhizal communities: Sampling effort and species detection. *Plant and Soil* **244**: 19-28.
- Taylor DL, Bruns TD. 1999.** Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: Minimal overlap between the mature forest and resistant propagule communities. *Molecular Ecology* **8**: 1837-1850.
- Titus JH, del Moral R. 1998.** The role of mycorrhizal fungi and microsites in primary succession on Mount St. Helens. *American Journal of Botany* **85**: 370-375.
- Titus JH, Tsuyuzaki S. 2003.** Distribution of plants in relation to microsites on recent volcanic substrates on Mount Koma, Hokkaido, Japan. *Ecological Research* **18**: 91-98.
- Tokeshi M. 1993.** Species abundance patterns and community structure. *Advances in Ecological Research* **24**: 111-186.
- Trappe JM. 1969.** Studies on *Cenococcum graniforme*. I. An efficient method for isolation from sclerotia. *Canadian Journal of Botany* **47**: 1389-1390.
- 露崎史朗 2001.** 火山遷移初期状態に関する研究. 日本生態学会誌 51:13-22.
- van der Heijden EW, de Vries FW, Kuyper Th W. 1999.** Mycorrhizal associations of *Salix repens* L. communities in succession of dune ecosystems. I. Above-ground and below-ground views of ectomycorrhizal fungi in relation to soil chemistry. *Canadian Journal of Botany* **77**: 1821-1832.
- Visser S. 1995.** Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire. *New Phytologist* **129**: 389-401.
- Vitousek PM, Walker LR. 1989.** Biological invasion by *Myrica faya* in Hawaii: plant demography, nitrogen fixation, ecosystem effects. *Ecological Monographs* **59**: 247-265.
- Vogt KA, Bloomfield J, Ammirati JF, Ammirati SR. 1992.** Sporocarp production by basidiomycetes, with emphasis on forest ecosystems. In: Carroll GC, Wicklow DT eds. *The fungal community: its organization and role in the ecosystem*. New York: Marcel Dekker, 563-581.
- Vogt KA, Grier CC, Meier CE. 1982.** Mycorrhizal role in net primary production and nutrient cycling in *Abies amabilis* ecosystems in western Washington. *Ecology* **63**: 370-380.

- Walker LR, Chapin FS. 1987. Interactions among processes controlling successional change. *Oikos* **50**: 131-135.
- Walker LR, del Moral R. 2003. *Primary succession and ecosystem rehabilitation*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Wallenda T, Kottke I. 1998. Nitrogen deposition and ectomycorrhizas. *New Phytologist* **139**: 169-187.
- White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. New York, USA: Academic Press, 315-322.
- Wu B, Nara K, Hogetsu T. 1999. Competition between ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus densiflora*. *Mycorrhiza* **9**: 151-159.
- Wu B, Nara K, Hogetsu T. 2001. Can ¹⁴C-labeled photosynthetic products move between *Pinus densiflora* seedlings linked by ectomycorrhizal mycelia? *New Phytologist* **149**: 137-146.
- Wu B, Nara K, Hogetsu T. 2002. Spatiotemporal transfer of carbon-14-labelled photosynthate from ectomycorrhizal *Pinus densiflora* seedlings to extraradical mycelia. *Mycorrhiza* **12**: 83-88.
- 山田明義 2001. 菌類の採集・検出と分離：外生菌根菌（3）分離培養法ならびに釣菌法．日本菌学会会報 **42**: 177-187.
- Yang G, Cha Joo Y, Shibuya M, Yajima T, Takahashi K. 1998. The occurrence and diversity of ectomycorrhizas of *Larix kaempferi* seedlings on a volcanic mountain in Japan. *Mycological Research* **102**: 1503-1508.
- Yarranton GA, Morrison RG. 1974. Spatial dynamics of a primary succession: nucleation. *Journal of Ecology* **62**: 417-428.
- Zhou Z, Hogetsu T. 2002. Subterranean community structure of ectomycorrhizal fungi under *Suillus grevillei* sporocarps in a *Larix kaempferi* forest. *New Phytologist* **154**: 529-539.
- Zhou Z, Miwa M, Hogetsu T. 1999. Analysis of genetic structure of a *Suillus grevillei* population in a *Larix kaempferi* stand by polymorphism of inter-simple sequence repeat (ISSR). *New Phytologist* **144**: 55-63.
- Zhou Z, Miwa M, Nara K, Wu B, Nakaya H, Lian C, Miyashita N, Oishi R, Maruta E, Hogetsu T. 2003. Patch establishment and development of a clonal plant, *Polygonum cuspidatum*, on Mount Fuji. *Molecular Ecology* **12**: 1361-1373.