

## 論文の内容の要旨

森林科学 専攻

平成 25 年度博士課程 進学

氏 名 吉田 尚広

指導教員名 松下 範久

論文題目 根系スケールにおける外生菌根と根外菌糸体の動態

外生菌根菌（以下菌根菌）は、マツ科やブナ科などの樹木の根に共生して、外生菌根（以下菌根）を形成する。菌根菌は、土壤中に伸長させた根外菌糸体によって養水分を吸収し、樹木へ供給することで、樹木の成長を著しく促進する。このような菌根菌の共生効果は菌種によって大きく異なるため、菌根菌が樹木の成長や森林の物質循環に果たす役割を考える上で、どのような菌種がどのように繁殖しているかを明らかにすることが重要である。これまでに、森林の地下部では、非常に狭い範囲に多種の菌根菌が存在することが明らかにされているが、実際の根系内において、多種の菌根菌がどのように共存しているのかについては、ほとんど分かっていない。そこで本研究では、根系スケールにおける菌根菌の動態を明らかにすることを目的として、まず、根系内における菌根菌の群集構造と詳細な分布を調査した。さらに、観察された 2 タイプの菌根分布様式が形成される要因についての仮説を立て、根箱実験系を用いて検証した。また、根系スケールにおける菌根菌の群集構造や分布には、菌根菌同士の直接的な相互作用だけではなく、宿主を介した間接的な相互作用も関与していると考えられる。そこで、不均一な土壌窒素条件に対する、菌根菌と宿主樹木の反応を調べた。

第 2 章では、八ヶ岳の亜高山帯針葉樹林の露岩上に更新したコメツガとシラビソを用いて、平面状に分布する根系内における菌根菌の群集構造と詳細な分布を調べた。第 1 節では、約 10 年生のコメツガ稚樹 3 本を採集し、根系および根端の位置を記録しながら

ら、各根端に感染していた菌種を DNA 解析により推定した。その結果、感染頻度の高かった菌種は、1 cm～数 cm の範囲でパッチ状に分布する傾向が見られ、感染頻度の低かった菌種は、根系の一部にモザイク状に分布する傾向が見られた。第 2 節では、コマツガとシラビソの菌根に感染していた菌種と、菌根周辺の土壌中に存在する菌種を同時に調べた。その結果、同種の菌根クラスターが形成されていた周辺の土壌からは、菌根を形成していない菌種も多数検出された。この結果は、菌根のクラスターを形成していた菌種が、周辺の土壌中に存在する他の菌種よりも、優位に未感染の根端に感染していることを示唆している。このような優位な感染を説明する仮説として、①菌根から新たに伸長した根外菌糸体は、土壌中の他の感染源よりも根端への感染能力が高い、または、②菌根の周りには感染源となる根外菌糸体量が増えるため、他種よりも優位に新たな根端へ感染できる、という 2 つが考えられた。さらに、第 1 節で根系の一部に見られたモザイク状分布を説明する仮説として、③菌根のクラスターから離れた場所では、菌根から新たに伸長した根外菌糸体が到達する前に、土壌中の孢子や菌糸断片による感染が起きていることが考えられた。

第 3 章では、第 2 章で立てた仮説①と②を検証するために、土壌中の根外菌糸体量と宿主からの炭素供給の有無が、菌根形成に与える影響を、根箱実験系を用いて調べた。コツブタケ属菌の 1 菌株 (PS) またはウラムラサキの 1 菌株 (La) を感染させたクロマツ実生苗 (以下菌根苗) の地下部をメッシュバッグに入れ、培養土を詰めた根箱の左端に移植した後、PS 菌根苗は 20 日間または 30 日間、La 菌根苗は 30 日間または 40 日間栽培した。その結果、両菌株とも、栽培期間の長い方で、土壌中の根外菌糸体量が有意に増加した。そのため本研究では、栽培期間が菌根形成に及ぼした影響を、土壌中の根外菌糸体量が菌根形成に及ぼした影響とみなした。栽培後の根箱を 3 つの処理区 (菌根苗をメッシュバッグから抜き取った除去区、菌根苗の地上部を遮光した遮光区、そのまま菌根苗の栽培を続ける対照区) に分けた後、無菌根のクロマツ実生苗 (以下無菌根苗) を根箱の右端に移植して 10 日間栽培し、無菌根苗に形成された菌根数を比較した。その結果、PS においては、栽培期間の間で菌根数に有意差がなかったが、La においては、栽培期間の長い方が、菌根数が有意に多かった。La の対照区では、栽培期間 20 日で未感染の根端が多く残っており、栽培期間 30 日で菌根数が増加した。一方、PS の対照区では、栽培期間 20 日で未感染の根端がほとんど無かったことから、この時点で無菌根苗の根系全体に菌根を形成するための根外菌糸体量があったため、栽培期間 30 日

で菌糸体量が増えても、菌根数が増えなかったと考えられる。つまり、根外菌糸体量の増加により菌根数が増加するものの、ある程度の菌糸体量まで増加すると菌根数の増加は頭打ちになり、それ以上は菌糸体量が増加しても菌根数は変化しないと推測された。また、どちらの菌株においても、除去区の菌根数が対照区よりも有意に減少した。このことから、菌根を形成した菌根菌は、宿主から光合成産物の供給を受けることで根外菌糸体量を増やすとともに、根端への感染能力も増大するため、周囲の根端に優位に菌根を形成することが可能になると考えられた。

第4章では、2章で立てた仮説③を検証するために、土壌中の菌糸断片、すなわち宿主からの炭素供給を失った根外菌糸体が、どの程度の期間、菌根形成能力を維持できるのかを調べた。PS または La を感染させた菌根苗の地下部をメッシュバッグに入れ、培養土を入れた根箱の左端に移植した。PS の菌根苗は 30 日間、La の菌根苗は 40 日間栽培して、土壌中に根外菌糸体を伸長させた後、4 つの処理区（菌根苗を全て除去した除去区、菌根苗の地上部を除去した切断区、菌根苗を全て除去したのち、根箱内の塊状の培養土を細かく潰してからよく混合した攪乱区、菌根苗の栽培をそのまま続けた対照区）に分けた。各処理を行った後、1 ヶ月、2 ヶ月または 3 ヶ月間、水道水を週 1 回与えながら栽培した。処理直後と各栽培期間終了後に、各根箱の右端に無菌根苗を移植して、30 日間栽培した後、無菌根苗に形成された菌根数を計測した。また、無菌根苗の移植時に、培養土の一部を回収して根外菌糸体量を測定した。その結果、両菌株とも、培養土中の根外菌糸体量は、攪乱区が他の処理区よりも速く減少する傾向が見られた。また、除去区と切断区では、処理後 2 ヶ月まで菌根が形成されたが、攪乱区では、処理後 1 ヶ月までしか菌根が形成されなかった。これらのことから、両菌株ともに、土壌が攪乱されず、根外菌糸体が断片化されなければ、宿主から炭素が供給されなくても、2 ヶ月間は根外菌糸体が菌根形成能力を維持できることが分かった。

第5章では、不均一な土壌窒素条件に対する菌根菌と樹木の反応を調べた。第1節では、PS を感染させた菌根苗を根箱内に移植し、窒素濃度の異なる肥料（0 mM : N-区、2.5 mM : N+区、5 mM : N++区）を 80 ml/週ずつ添加しながら栽培した。栽培後の菌根苗各部位（地上部、根、菌根）の乾重と窒素含有量は、窒素添加量が多いほど多かった。一方、土壌中の根外菌糸体量は、N+区で最も多く、N++区では N-区と同程度であった。このことから、土壌中の窒素濃度が高くなると、菌根菌は養分探索のために土壌中に根外菌糸体を伸長させる必要がなくなり、宿主からより多くの炭素を得るために菌根のバ

イオマスを増加させると推測された。第 2 節では、PS を感染させた菌根苗の根系を 2 つに分け、それぞれの根系（以下部分根系）を異なる根箱に入れながら菌根苗を移植した後、部分根系に等濃度の窒素を含む肥料を添加（N-/N-区、N+/N+区）、または部分根系に異なる窒素濃度の肥料を添加（N++/N-区）した。その結果、N++/N-区の菌根苗全体の乾重は、菌根苗全体で得られる窒素量が同じである N+/N+区と有意差はなかったが、N++/N-区の N++側の部分根系の乾重と窒素含有量は、どの部分根系よりも多かった。この結果は、菌根苗が、窒素をより多く得られる根系に対して優先的に炭素を分配していることを示しており、外生菌根性の樹木には、不均一な土壌窒素条件に対する根の表現型の可塑性があることを示唆している。また、宿主から部分根系への炭素分配と同様に、宿主から菌根菌へも炭素が分配されたと仮定すると、樹木は共生効果の低い菌を抑制し、共生効果の高い菌に多くの炭素を分配することで、根系内の菌根菌の分布を制御している可能性が考えられた。

本研究により、樹木根系内に新たな菌根が形成されると、宿主からの炭素供給を受けることで、周囲に根外菌糸体が伸長するとともに菌根形成能力が上昇するため、周囲の根端に優先的に感染してパッチ状の分布が形成されることが考えられた。また、根系の一部に存在するモザイク状の菌種分布には、宿主から炭素が供給されなくなった根外菌糸体も感染源として重要な役割を果たし得ることが示唆された。さらに、宿主樹木は菌根菌から得られる窒素量に応じて炭素の転流量を制御することで、根系内の菌種分布に影響を与えている可能性が示唆された。