

# Ecological and Physiological Studies on Ectomycorrhizae of *Picea glehnii* (Fr. Schm.) Masters

(アカエゾマツの外生菌根の生態・生理学的研究)

## 学位論文内容の要旨

外生菌根が樹木の生育に重要な影響を与えることが明らかにされ、外国では苗木に外生菌根菌を接種するなど、林業への応用が進められている。しかし、日本では外生菌根の研究が進んでおらず、北海道の主要樹種であるアカエゾマツについても菌根の研究はほとんど行われていない。本研究では、アカエゾマツ苗木の菌根形成と菌根が苗木の成長に与える影響について検討するため、アカエゾマツの外生菌根の生態および生理について実験を行い、以下の結果を得た。

1. 北海道大学演習林林木育種場苗畑（名寄市）のアカエゾマツ苗木275本、雨龍地方演習林320林班（幌加内町）で6年前に地表かき起こし処理を行った林地に天然更新したアカエゾマツ実生苗60本を調査し、全ての苗木に外生菌根菌が自然感染していることを確認した。菌根の色、分枝、菌糸束の有無などの肉眼的特徴及びマントルやハルティッヒ・ネットの構造、clamp-connectionの有無などの顕微鏡的特徴から外生菌根のタイプ区分を行った。苗畑では1～6年生の苗木に5タイプの菌根が認められ、1タイプは担子菌類によるものであった。天然林では2～5年生の実生苗に34タイプの外生菌根があり、21タイプは担子菌類によるものであった。苗畑の菌根には、全ての苗齢に出現するタイプと特定の苗齢に見られるタイプがあったが、天然林では苗齢と菌根タイプとの関係に特定の傾向は認められなかった。両調査地の苗木は同じ時期に採集したが、共通する菌根タイプはなく、これは立地環境と林業作業が異なっているためであると考えられた。

2. 北海道の各地の森林で外生菌根菌の可能性のあるキノコ類を採集し、22種

29菌株を分離した。このうち、18種20菌株を *in vitro* でアカエゾマツ苗木に接種し、菌根の形成について観察した。接種3ヵ月後に菌根を形成し始めたものがあり、6ヵ月後には接種した全ての菌の菌糸が根を覆うように伸長していた。この時点で苗木を取り出し、根系を詳細に観察した。コテングタケ、テングタケ、ガンタケ、ツルタケダマシ、シーノコッカム・ゲオフィルム、キアブラシメジ、ウスムラサキシメジ、ホンシメジ、ムクゲヒダハタケ、コツブタケ、ヒメカタシヨウロ、ウスキニセシヨウロの12種14菌株は厚いマントルと深いハルティッヒ・ネットが見られ、外生菌根を形成したことが確認された。イロガワリ、ヒナツチガキ、ヌメリイグチの3種3菌株は、厚いマントルが存在したがハルティッヒ・ネットが見られず偽菌根を形成した。ホンシメジ1菌株は、薄いマントルに深いハルティッヒ・ネット、また細胞内菌糸が見られ、内外生菌根を形成した。コシヨウイグチとシメジ属の1種の2菌株はアカエゾマツと菌根を形成しなかった。なお、キアブラシメジ、ヌメリイグチ、ヒナツチガキ以外の菌は、アカエゾマツ林以外の森林に発生したキノコから分離した菌株であるが、アカエゾマツと菌根を形成した。

3. より野外条件に近い温室内で、テングタケ、コツブタケ、ウスキニセシヨウロの3菌株を苗齢2(Age-1)、12(Age-2)、24(Age-3)ヵ月のアカエゾマツ苗木に接種し、菌根の形成状況および菌根形成が成長に与える影響について検討した。接種15ヵ月後、無接種のコントロールを含む全ての苗木に外生菌根が着生していた。1ポットに2タイプ以上の菌根が着生しているものもあったが、接種した菌による外生菌根の形成は見られなかった。これには、接種した菌と自然感染していた菌との間に競合があった可能性、あるいは接種時期に高温となった影響が大きかった可能性も考えられる。

菌根形成がアカエゾマツの成長に与える影響として、各苗齢の苗木の乾燥重量とシュートの養分含量(N,P,K,Ca,Mg,Na,Cu,Zn,Mn,Fe,Al)、Age-2とAge-3の光合成速度を測定したが、全ての測定値には接種の有無や菌株による差は見られなかった。しかし、Age-1のP,K,Ca,Mgの養分含量はAge-2、3の苗木と比べると非常に低い傾向が見られ、これはAge-1での菌根形成率が低かったこと、あるいは菌根

を形成してからの期間が短かったことによるものと推察された。

4. 菌根菌 19種22菌株と立枯病原因菌 3種( Fusarium roseum, Rhizoctonia solani, Pythium sp.)との総当り対峙培養を行い、外生菌根菌と立枯病菌との拮抗作用を検討した。全ての菌根菌が Pythium sp. の菌糸の成長を有意に抑制した。16種17菌株が Rhizoctonia solaniの菌糸の成長を、12種14菌株が Fusarium roseum の菌糸の成長を有意に抑制した。また、菌根菌と立枯病菌が互いに菌糸の成長を抑制する場合もみられたが、菌根菌の成長は抑制をうけない例も多く、促進された例もみられた。さらに、菌根菌と立枯病菌の構造に変化が観察され、菌糸の直径が増減する、分枝する、屈曲する、コイル状に巻く、先端部が破裂する、隔壁が高頻度で形成される、液胞が形成される、細胞が溶解するなどの変化がみられた。多くの場合、複数の変化が同時に観察され、立枯病菌で発生頻度が高かった。

5. 菌根菌あるいはこれらの菌を接種したアカエゾマツ苗木に立枯病菌に対する抗菌性物質が含まれているかを調べた。テングタケ、ムクゲヒダハタケ、コツブタケ、ウスキニセシヨウロを液体培地で培養し、さらにこれらの菌を接種したアカエゾマツ苗木および無接種のアカエゾマツ苗木を水耕栽培した。培養または栽培後、菌及び培養液、菌を接種したアカエゾマツの根系、無接種のアカエゾマツの根系、及びそれぞれの水耕液を抽出源として、メタノールで抽出後酢酸エチル可溶性画分と水溶性画分に分画した。ほとんどの分画に抗菌性物質が含まれていた。酢酸エチル可溶性画分については TLCバイオオートグラフィーによって、各抽出源に含まれる抗菌性物質は異なることが明らかになった。また、各抽出源の抗菌性物質は Fusarium roseum、あるいは Pythium sp. に対する作用が異なった。培養液には多くの種類の抗菌性物質が含まれていたので、菌根によって生成される抗菌性物質は根系外に放出されると考えられた。また、菌根菌は抗菌性物質を生産することによって、病原菌の胞子の発芽と菌糸の成長を抑制していることが示唆された。

本研究の結果から、苗畑と自然林内における菌根の形成はアカエゾマツ苗木の成長と生残に重要な影響を与えていることが示唆された。また、外生菌根菌は立

枯病菌の胞子の発芽と菌糸の成長を抑制し、病害発生を防ぐポテンシャルを持つことが明らかになった。したがって、苗畑の管理及び森林施業においては、外生菌根菌の維持と感染促進に十分配慮すべきであろう。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 五十嵐 恒 夫

副 査 教 授 但 野 利 秋

副 査 教 授 田 原 哲 士

副 査 助 教 授 矢 島 崇

## 学 位 論 文 題 名

### Ecological and Physiological Studies on Ectomycorrhizae of *Picea glehnii* (Fr. Schm.) Masters (アカエゾマツの外生菌根の生態・生理学的研究)

本論文は7章で構成され、表17、図8、写真94、引用文献154、総頁数129頁の英文論文である。別に参考論文8篇が添えられている。

外生菌根が樹木の生育に重要な影響を与えることが明らかにされ、外国では林業への応用が進められている。しかし、日本では外生菌根の研究が進んでおらず、北海道の主要樹種であるアカエゾマツについても菌根の研究はほとんど行われていない。本研究では、アカエゾマツ苗木の菌根形成と菌根が苗木の成長に与える影響について検討するため、アカエゾマツの外生菌根の生態および生理について実験を行い、以下の結果を得た。

1. 苗畑（名寄市）のアカエゾマツ苗木275本、林地（幌加内町）に天然更新したアカエゾマツ実生苗60本を調査し、全ての苗木に外生菌根菌が自然感染していることを確認した。菌根の色、分枝などの肉眼的特徴及びマントルやハルティッヒ・ネットの構造、clamp-connectionの有無などの顕微鏡的特徴から外生菌根のタイプ区分を行った。苗畑では1～6年生の苗木に5タイプ、天然林では2～5年生の実生苗に34タイプの外生菌根が認められた。両調査地の苗木には共通する菌根タイプはなく、これは立地環境と林業作業が異なるためであると考えられた。

2. 北海道の各地の森林で外生菌根菌の可能性のあるキノコ類を採集し、分離した18種20菌株を *in vitro* でアカエゾマツ苗木に接種した。接種6ヵ月後には全ての菌の菌糸が根を覆うように伸長していた。根系を詳細に観察した結果、コ

テングタケ、テンゲタケ、ガンタケ、ツルタケダマシ、シーノコッカム・ゲオフィルム、キアブラシメジ、ウスムラサキシメジ、ホンシメジ、ムクゲヒダハタケ、コツブタケ、ヒメカタシヨウロ、ウスキニセシヨウロの12種14菌株は外生菌根を形成し、イロガワリ、ヒナツチガキ、ヌメリイグチの3種3菌株は偽菌根を形成し、ホンシメジ1菌株は内外生菌根を形成した。コシヨウイグチとシメジ属の1種の2菌株はアカエゾマツと菌根を形成しなかった。

3. より野外条件に近い温室内で、テングタケ、コツブタケ、ウスキニセシヨウロの3菌株を苗齢2(Age 1)、12(Age 2)、24(Age 3)カ月のアカエゾマツ苗木に接種し、菌根の形成状況および菌根形成が成長に与える影響について検討した。接種15カ月後、無接種のコントロールを含む全ての苗木に外生菌根が着生していたが、接種した菌による外生菌根の形成は見られなかった。接種した菌と自然感染していた菌との間に競合があった可能性が考えられる。菌根形成がアカエゾマツの成長に与える影響として、各苗齢の苗木の乾燥重量とシュートの養分含量(N, P, K, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Mn, Fe, Al)、Age 2とAge 3の光合成速度を測定したが、全ての測定値には接種の有無や菌株による差は見られなかった。

4. 菌根菌 19種22菌株と立枯病原菌 3種(*Fusarium roseum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp.)との総当り対峙培養を行い、外生菌根菌と立枯病菌との拮抗作用を検討した。全ての菌根菌が *Pythium* sp. の菌糸の成長を有意に抑制した。16種17菌株が *Rhizoctonia solani* の菌糸の成長を、12種14菌株が *Fusarium roseum* の菌糸の成長を有意に抑制した。

5. 菌根菌あるいはこれらの菌を接種したアカエゾマツ苗木に立枯病菌に対する抗菌性物質が含まれているかを調べた。テングタケ、ムクゲヒダハタケ、コツブタケ、ウスキニセシヨウロを液体培地で培養し、さらにこれらの菌を接種したアカエゾマツ苗木および無接種のアカエゾマツ苗木を水耕栽培した。培養または栽培後、菌及び培養液、菌を接種したアカエゾマツの根系、無接種のアカエゾマツの根系、及びそれぞれの水耕液を抽出源として、メタノールで抽出後酢酸エチル可溶性画分と水溶性画分に分画した。ほとんどの分画に抗菌性物質が含まれていた。酢酸エチル可溶性画分については TLCバイオオートグラフィーによって、

各抽出源に含まれる抗菌性物質は異なることが明らかになった。菌根菌は抗菌性物質を生産することによって、病原菌の胞子の発芽と菌糸の成長を抑制していることが示唆された。

以上のように本研究は、苗畑と自然林内における菌根の形成はアカエゾマツ苗木の成長と生残に重要な影響を与えていること、また、外生菌根菌には立枯病菌の胞子の発芽と菌糸の成長を抑制し、病害発生を防ぐポテンシャルを持つことを明らかにした。また、苗畑の管理及び森林施業において外生菌根菌の維持と感染促進に十分配慮すべきであることを提起し、学術的にも、林業上も高く評価される。

よって審査員一同は、最終試験の結果と合わせて、本論文の提出者 カスヤ・マリア・カタリーナ・メグミは博士（農学）の学位を受けるに十分な資格があるものと認定した。