

# 針葉樹苗畑での実生の生育における 共生菌類と病害の関係の解明

村田 弘 祐

畜産学研究科畜産環境科学専攻生態系保護学講座（修士課程1年）

## 1. 目 的

十勝の周辺部に広がる森林を構成する針葉樹は、木材として重要な資源である。これらの安定確保のため、現在、針葉樹の苗畑では病害対策の防カビ剤や化学肥料を用いて、苗木の育成・供給を行なっている。しかし、このような育苗法は、環境への影響が大きく、また、この苗木が自然環境で有すると考えられる共生菌類（菌根菌）との関係も損なわせる可能性がある。この菌根菌の存在は、植物に養分吸収の促進をしたり病害耐性を付加したりすることなどが知られている。その菌根菌との関係が損なわれると、育苗中の病害の増大や、造林地への植林の際に苗木が定着できない原因となる可能性が考えられる。例えば、苗畑での防カビ剤や化学肥料の使用は、本来実生に定着する菌根菌ではなく、それらの薬剤等に強いが共生的な働きが弱い菌が実生に定着し、かえって実生の生長を阻害してしまうかもしれない。そこで本研究では、苗畑において最も大きな枯死要因とされる暗色雪腐れ病と、各種条件下の実生の根の優占菌根菌による発病抑制効果について検討する。

## 2. 方 法

北海道富良野市に位置する東京大学北海道演習林内の苗畑と、比較区として同演習林内の針葉樹実生が天然更新している地はぎ跡地を調査地に設定した。苗畑からエゾマツ、アカエゾマツ、トドマツの実生を各々48本採取し、また、地はぎ跡地からエゾマツ、トドマツの実生を各々24本採取した。それらの根の外生菌根を形態で分類し、各形態タイプの菌根形成率を測定した。その後、各形態タイプからランダムに選んだ菌根全105サンプルを分子生物学的手法（DNAの抽出、PCR-RFLP法）により形態タイプ分けの確認を行ない、そのうちの18サンプルはITSシーケンス法を用いて菌根菌の同定を行った。

また、苗畑で主に優占していた外生菌根から菌根菌を分離し、分離菌株を得た。これら優占菌根菌による実生生長に及ぼす影響を調べるため、無菌状態で発芽生育させたエゾマツ実生を、シャーレに分注した寒天培地上に各1実生ずつ置き、その実生に分離した菌根菌を接種した。実験は2種類の養分含量の異なる寒天培地で、優占菌根菌2菌株を用いて行なった。養分含量の多い培地と少ない培地を用いて、各々の培地に、優占菌根菌2菌株をおのおの接種する区、菌を接種しないコントロール区を設定し、計6区画とした。各区画で反復10とし全60シャーレを用いて行なった。

さらに、苗畑で暗色雪腐れ病に冒された実生より病原菌を分離し、分離菌株を得た。その菌株の病原性試験を行い、病原性を確認した。優占菌根菌による病害抑制効果を明らかにするために、上

記と同様に培地上に置いたエゾマツ実生に、その病原菌と上記の優占菌根菌の菌株を同時に接種した。この実験では寒天培地 1 種類、病原菌 1 菌株、優占菌根菌 2 菌株を用いた。病原菌と優占菌根菌を各々接種する区、病原菌のみ接種する区、各々の優占菌根菌のみ接種する区、病原菌と菌根菌ともに接種しない区、の計 6 区画を設定した。各区画で反復 10 とし全 60 シャーレを用いて行った。病原菌による実生の枯死の判定は、目視により実生全体の 80% 以上の部分が茶色に枯れた状態とした。

### 3. 結 果

苗畑では、全根系の約 90% が菌根であった。そのうちクランプのない黒褐色の菌糸を持つ菌根が、エゾマツでは全菌根の約 70%，アカエゾマツでは約 45% を占め最も優占し、トドマツでは約 35% で 2 番目に優占して見られた。この形態タイプを PCR-RFLP 法と ITS シークエンス法で解析したところ、*Phialophora finlandia* と同定された。また、このタイプの外生菌根から分離した全 8 菌株は、DNA 解析の結果、すべて *P. finlandia* であった。他の菌根では、ワカフサタケ属 sp. がエゾマツでは約 2%，アカエゾマツでは約 10% を占めたが、トドマツでは約 44% を占め最も優占していた。また、*Amphinema* sp. がエゾマツでは約 3%，アカエゾマツでは約 27% 見られた。さらに少数ではあるが、イボタケ科 spp. が見られた。

一方、地はぎ跡地では、全根系の約 85% が菌根であった。そのうちクランプをもち、茶～茶褐色の菌鞘をもつ菌根が主に見られ、このタイプを PCR-RFLP 法を用いて解析すると 7 つのタイプに分かれた。そのうち 1 つの RFLP タイプが両樹種で全菌根の 26% 以上を占め最も優占しており、イボタケ科 sp. と同定された。これら 7 つの RFLP タイプ以外では、少数であるが 4 つの形態タイプが見られた。

苗畑の優占菌根から分離した *P. finlandia* を、エゾマツ実生に接種した結果を Fig. 1 に示す。2 種類の培地のうち養分の少ない培地では、*P. finlandia* 接種区の実生の地上部地下部の乾物重ともに、

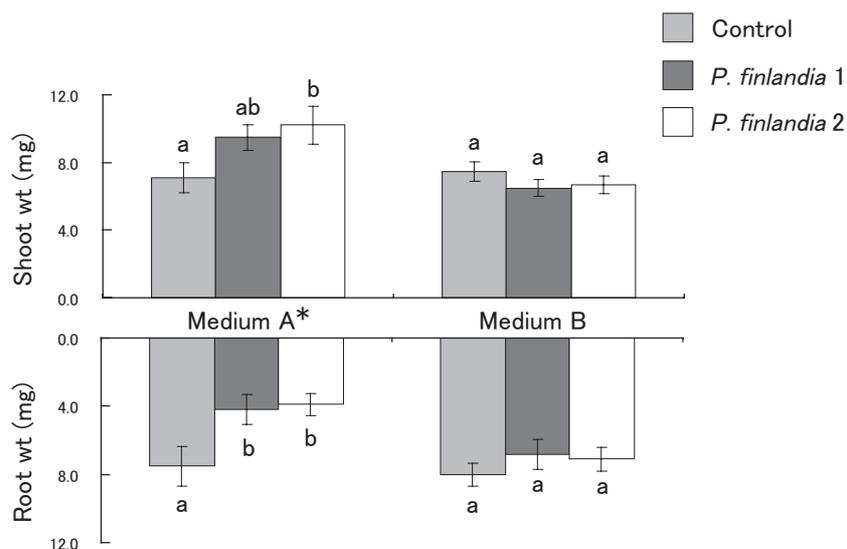


図 1. 2 種類の異なる養分含量の培地での、優占菌根菌 *P. finlandia* を接種したエゾマツ実生の地上部地下部の乾物重

\* Medium A は養分含量の多い培地、Medium B は少ない培地を示す

菌を接種していないコントロール区の実生との有意な差は見られなかった。養分の多い培地では、*P. finlandia* 接種区の実生がコントロール区より地上部乾物重が大きく、地下部乾物重が小さいという傾向が見られた。また、*P. finlandia* の2菌株間での差は見られなかった。

また、暗色雪腐れ病病原菌と *P. finlandia* をエゾマツ実生に接種した結果を Table 1 に示す。病原菌のみ接種した区では、実生は地上部全体が病原菌の菌糸で包まれており、この区の枯死率は75%であった。一方、病原菌と *P. finlandia* を接種した区では、病原菌の菌糸の伸長がほとんど見られず、この区の枯死率は0%であった。また、*P. finlandia* の2菌株間での差は見られなかった。

Table 1 暗色雪腐れ病病原菌と苗畑での優占菌根菌 *P. finlandia* を接種したエゾマツ実生の枯死率 (± SE)

ectomycorrhizal fungi	pathogen inoculation	mortality (%)
<i>P. finlandia</i> 1	○	0 ± 0.0
	×	0 ± 0.0
<i>P. finlandia</i> 2	○	0 ± 0.0
	×	0 ± 0.0
Control	○	75 ± 17.6
	×	0 ± 0.0

## 4. 考 察

苗畑では化学肥料の使用により土壌養分が多くなり、養分吸収を良くするとされる菌根は、実生にとって必ずしも必要ではないと考えられる。また、防カビ剤の使用は菌根菌の生存にも影響を及ぼすはずである。しかし、苗畑、地はぎ跡地とも約80%以上の高い菌根形成率を示した。針葉樹2種の外生菌根菌の定着量のみを見た場合、防カビ剤や化学肥料の影響は少ないように思われる。

また、子嚢菌類の *P. finlandia* が苗畑で優占し、担子菌類のイボタケ科 sp. が地はぎ跡地で優占しており、人為環境下と自然環境の間で出現する菌根菌種の構成が大きく異なることがわかった。苗畑では、防カビ剤の影響、または化学肥料の使用による土壌養分の変化に伴い、定着する外生菌根菌の種構成が変化し、その環境に合った菌が優占して定着したと考えられる。

菌根菌 *P. finlandia* のエゾマツ実生に対する影響が、培地の養分含量の違いにより異なっていた (Fig. 1)。特に、養分の多い培地において、*P. finlandia* を接種したエゾマツ実生は菌を接種していないコントロール区の実生と比べ地上部重が高く、地下部重が低い傾向があった。この *P. finlandia* は養分の多い培地において、実生地上部の生長を促進する可能性が示唆された。このことは、今回調査した苗畑の環境、つまり化学肥料の使用を考慮すると興味深い結果であると思われ、実際の苗畑においても優占した *P. finlandia* の存在は、実生にとって有益である可能性が考えられた。

*P. finlandia* を接種した実生では病原菌による枯死が起きなかった (Table 1)。調査地の苗畑で毎年雪腐れ病が発生しているが、*P. finlandia* が優占して定着することにより、その被害が現状レベルで抑えられている可能性があると考えられた。

## 5. 謝 辞

本研究の実施にあたりご援助いただいた財団法人帯広畜産大学後援会に感謝いたします。

キーワード：苗畑，外生菌根菌，エゾマツ，接種試験