

多摩川上流部の里山林における菌類多様性評価

—里山林は樹木共生性きのこの種多様性の受け皿となりうるか—

2019年

田中 恵

東京農業大学地域環境科学部森林総合科学科 准教授

共同研究者

東京農業大学大学院 白川 誠

東京農業大学大学院 石川 陽

東京農業大学大学院 湊上 拓朗

## 目次

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| はじめに                             | 2  |
| 調査地概要                            | 4  |
| 1 樹木共生性きのこを指標とする里山林の菌類多様性評価      | 10 |
| 1-1 目的                           |    |
| 1-2 材料と方法                        |    |
| 1-3 結果と考察                        |    |
| 2 樹木共生菌類の地下部リソースの把握及び宿主樹木・環境間の比較 | 21 |
| 2-1 目的                           |    |
| 2-2 材料と方法                        |    |
| 2-3 結果と考察                        |    |
| 3 地下生きのこの未知種・希少種探索               | 30 |
| 3-1 目的                           |    |
| 3-2 材料と方法                        |    |
| 3-3 結果と考察                        |    |
| まとめ                              | 46 |
| 謝辞                               | 49 |
| 引用文献                             | 49 |
| 付表・写真 1~写真 3                     | 53 |

はじめに

多摩川上流部には里山と呼ばれる二次林が多く残されている。里山林は都市地域と奥山地域との中間に位置し、かつては薪炭林として利用されてきたが、現在はコナラ、アカマツ、シイ・カシなどを主体とした地域の自然環境として認識されている。里山林は流域周辺の地域住民にとっては最も身近な自然環境であると同時に、希少種の生息・生育地としての機能を持つ。このことから、地域の生物多様性保全を考える上では、里山林を適切に管理・維持し続けることが必要とされているが、近年では人の手が入らなくなったことによる管理放棄地が増加している。管理放棄はタケやネザサ類などの侵入を招き(平成 27 年度森林・林業白書)、森林構造の単純化を招くことが懸念されている(植田・小野寺 2004)。

里山林は豊かな生物種—多くの希少種を含む—の受け皿であるが、この生態系が健全に機能しうるためには多様な微生物の働きが欠かせない。微生物の中でも外生菌根菌は地下部で主に樹木を宿主として共生する菌類であり、樹木はそのことにより環境適応性を高めている。特に里山二次林に見られる樹木、コナラやシイ、カシ、そしてアカマツは普遍的に外生菌根菌と共生関係を結ぶ。菌根菌へは樹木の光合成産物の約 2 割が供給され(Wu *et al.* 2001)、菌根菌からは土壤養分が受け渡される。また、樹体に含まれる窒素やリンのほぼ全てが菌根菌によって吸収されたものである(Smith & Read 2008)ことから、里山林にとって樹木共生菌の存在は非常に重要である。

また、樹木共生菌はそれ自体が希少な種を有している。セイヨウショウロ(トリュフ)属は近年、都市近郊林を含む日本各地で発見例が報告されはじめている(Kinoshita *et al.* 2011)。希少性の高い、もしくは経済的価値の高い樹木共生性きのこは意外なほど身近な里山にこそ存在することが多いが、これらの種の把握は全く行われていないのが実態である。これは既往の森林における共生微生物研究が天然林を調査対象にしたものが多く、人為の入る里山二次林では殆ど行われていないためであると考えられる。

日本国内における既往の樹木共生微生物研究は天然林を調査対象とし、共生菌類の多様性・群集構造の解明を中心課題に据えるものが多い(Miyamoto *et al.* 2016 など)。生物多様性のホットスポットが熱帯にあることはよく知られているが、菌類の中でも樹木と共生する外生菌根菌の多様性が最も高いのは熱帯ではなく温帯域にあることが明らかになりつつある(Tedersoo *et al.* 2014)。これは、宿主となる樹種の分布域や土壤の構造などが影響していると考えられているが、詳細なメカニズムは分かっていない。

広葉樹二次林、特に里山林は前述のように、外生菌根性の広葉樹を主体とする林分でありながら、これまで共生菌に対する調査は殆ど行われてこなかった。人為が繰り返し入ることにより、天然林とは異なる菌類種が保存されている可能性は十分に考えられる。さらに、本研究ではきのこに加えて樹木と菌類の共生体である菌根についても調査を行うため、地下部に潜在的に存在する種を含め、包括的な菌類多様性評価が可能である。また、外生菌根菌種の中でも特に地下部にきのこを形成する、いわゆる地下生菌については、未だ発見例が少な

い。本研究はこうした種の生息地を明らかにする学術的に貴重な研究蓄積になると共に、希少種が生息するという可能性からも、身近な森林を再評価していくことを目的とする。

本研究では、以下の3研究課題(図-1 参照)を立て、多摩川上流部の里山林において、樹木共生菌類の多様性と地上部植生(宿主樹木と環境要因)との関係を明らかにし、今後の里山整備を考えるデータを提供する。あわせて希少性の高い樹木共生性きのこの探索を行うことで身近な里山林が樹木共生菌類の受け皿としてどの程度機能しているか検討する。

## 研究課題

第1章 樹木共生性きのこを指標とする里山林の菌類多様性評価

第2章 樹木共生菌類の地下部リソースの把握及び宿主樹木・環境間の比較

第3章 地下生きのこの未知種・希少種探索



## 調査地概要

調査は、多摩川流域を含む東京都青梅市内の里山林(青梅の森・釜の淵公園、いずれも青梅市所有)で行った。図に調査地の位置を示す。多摩川流域における里山林は、二次林の特徴から本州東部を中心に分布するコナラ林(東日本)のブロックに属している(植田・小野寺 2004)。林内はコナラ(*Quercus serrata*)やシデ類(*Carpinus*)を主体とする広葉樹二次林とスギ(*Cryptomeria japonica*)やヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)の人工林がモザイク状に入り組んでいる。また、アカマツ(*Pinus densiflora*)が尾根部に比較的残されている他、単木的にも点在している。コナラやアカマツは代表的な外生菌根性樹種であることから、林内では多くのきのこ(以下、本報告中では子実体とする)が見られると共に、土壤中に菌根やそこから伸びる根外菌糸、孢子として多くのリソースが保持されていると考えられる。

調査地内に10ヶ所の採取区を設けた(図-2)。それぞれの採取区は面積を150m<sup>2</sup>とし、2ヶ所(A、F)のみ立地条件を考慮して250m<sup>2</sup>とした。各採取区は、構成樹種ごとに林分タイプをコナラ・アカマツ混交林(Mixed)、コナラ林(Mono (Q))、アカマツ林(Mono (P))の3タイプに分けた。また、林分の管理・攪乱状況の違い、スギ・ヒノキ人工林との境界、ネザサ類の侵入度などの条件から攪乱度合いを相対的に3段階に分け(強・中・弱)、相対攪乱強度とした。各採取区の概観は図-3から図-12のとおりである。



図-2. 調査地位置図 青色の旗は各採取区をあらわす



図-3. 採取区 A Mixed 相对攪乱強度 中



図-4. 採取区 A2 Mono (Q) 相对攪乱強度 強



図-5. 採取区 B Mixed 相对攪乱強度 弱



図-6. 採取区 B2 Mixed 相对攪乱強度 弱



図-7. 採取区 C Mono (P) 相对攪乱強度 強



図-8. 採取区 C2 Mono (Q) 相对攪乱強度 弱





図-9. 採取区 D Mono (P) 相对攪乱強度 中



図-10. 採取区 E Mono (Q) 相对攪乱強度 弱



図-11. 採取区 F Mixed 相对攪乱強度 中

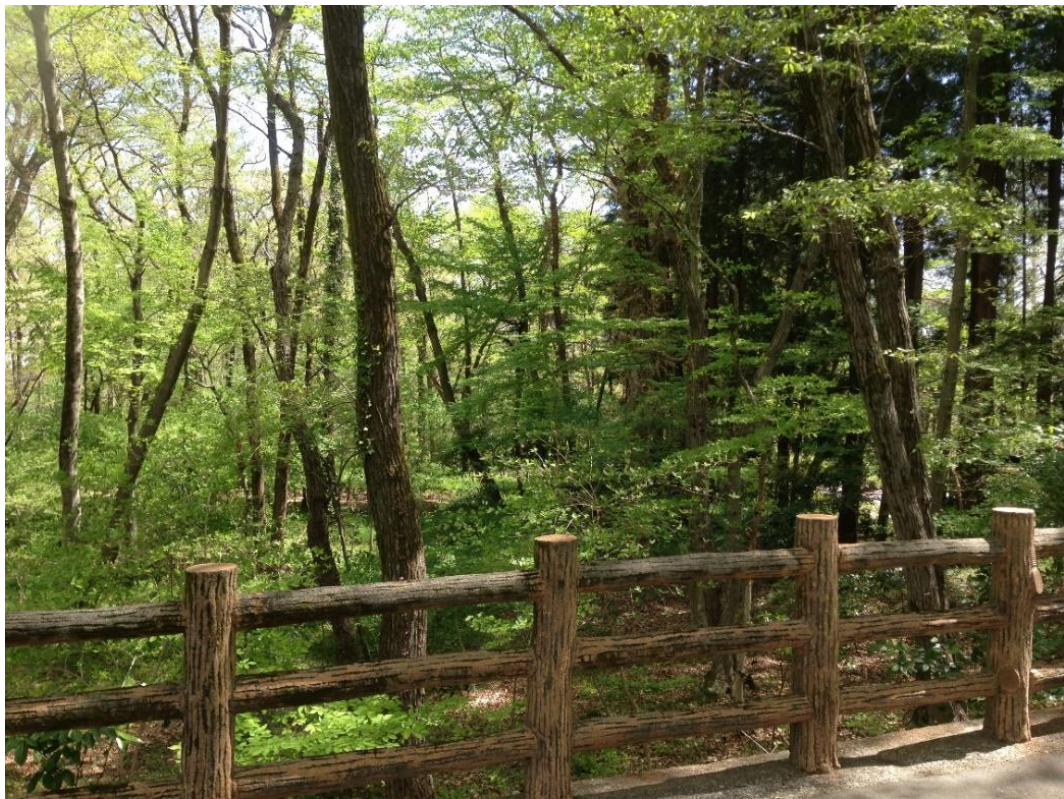


図-12. 採取区 G Mono (Q) 相对攪乱強度 強

## 1 樹木共生性きのこを指標とする里山林の菌類多様性評価

### 1-1 目的

人里近くの丘陵に広がる広葉樹を主体とする二次林、いわゆる里山は、かつての生産性を失い放置されていることが多い。管理されなくなった里山は特定樹種(多くは照葉樹)の優占やマツ枯れ、竹林の拡大などにより景観が大きく変化するだけでなく、生物相の急激な変化が危惧されている(山崎ら 2000)。一方で、里山は人の生活空間の近くに存在する自然であることから、環境林としての活用が望まれており、里山管理の手法が模索されている。

里山は豊かな生物多様性を有する場であり、多くの希少種が存在する場でもあるとされている(植田・小野寺 2004)が、生物分類群の中でも菌類、特に樹木と共生関係を結ぶ菌類の多様性に着目した調査は殆ど行われてこなかった。本章では里山における菌類多様性を評価する上で、まず、比較的発見の容易な子実体を指標とすることにした。菌根性の子実体の存在は、それ自体が胞子を散布する役割を持っていると共に、その地下部に共生菌類の菌糸が存在することを示している。さらに、傘やひだ、柄、胞子などの形態的特徴による分類や標本として比較することも可能である。

典型的な里山林であった本調査地はコナラとシデ類を中心とした二次林とスギ・ヒノキ人工林がパッチ状に入り組んだ構造をしている(青梅の森事業計画 2010)。共生菌の宿主となりうる樹木は比較的多く残されているが、人為が入った森林において、共生菌類はどの程度保持されているのだろうか。林分タイプ、攪乱強度の違いによる子実体の発存量、菌種の推定を行い、子実体を指標とした菌類多様性の評価は可能か検討した。

### 1-2 材料と方法

#### 1-2-1 サンプルリング

2016年8月から2018年11月にかけて設定した10の採取区に加えて全長5kmの探索ルート(図-13)を調べ、子実体を採取した。採取回数は4月から12月までの月に1-2回とし、発生が多くなる季節を中心に採取回数を多くした。子実体は地上生、地下生のものに加えて、菌核も採取した。採取時は同一種と思われるものが複数存在する場合はそのいずれかを残し、必要以上に林内の資源を損なわないように心がけた。採取した子実体は持ち帰った後、図鑑(今関ら 2011、佐々木ら 2016、中島・吹春 2017)を用いた形態による簡易的な類別を行い、その後通風乾燥機で乾燥させDNA解析に用いるまで室温・乾燥状態にて保存した。



図-13. 調査地における子実体探索ルート（緑色）

## 1-2-2DNA 解析

### ・DNA 抽出

CTAB 法を用いて DNA 抽出を行った。乾燥させた子実体を 1-2mm 角の大きさに切り取り、2.0ml スクリューキャップチューブに入れた。この 2.0ml チューブにジルコニアビーズと Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB) 溶液を 50 $\mu$ l 加え、破砕機にかけ子実体を破砕した。破砕後のチューブに CTAB 溶液を 450 $\mu$ l 加えよく混合し、60 $^{\circ}$ C で 1 時間インキュベートした。その後クロロホルム・イソアミルアルコール混合液を 500 $\mu$ l 加えよく攪拌し遠心 (15,000rpm、7 分、24 $^{\circ}$ C) した。遠心後の 2.0ml チューブから上層 300 $\mu$ l を吸い、イソプロピルアルコール 300 $\mu$ l の入った 1.5ml チューブに移した。転倒混和後、-30 $^{\circ}$ C で 10 分以上インキュベートさせ、遠心 (15,000rpm、7 分、4 $^{\circ}$ C) を行った。上清を捨て、70%エタノールを 500 $\mu$ l 加え再び遠心 (15,000rpm、7 分、4 $^{\circ}$ C) を行い、上清を捨て 1 時間程度乾燥させた。乾燥した 1.5ml チューブに TE バッファーを 500 $\mu$ l 加えて DNA を溶解させた。一部のサンプルについては、DNA 抽出キットとして QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) も併用した。

### ・PCR 増幅

抽出した DNA は rRNA の Internal transcribed spacer (ITS) 領域 (ITS1-5.8S-ITS2) について PCR 法を用いて増幅を行った。PCR 酵素には Emerald Amp PCR Master Mix (タカラバイオ) を用い、プライマーはフォワードに ITS-1F、リバーズに ITS-4 を使用した。1 サンプルあたり 10 $\mu$ l の反応系に DNA テンプレートを 1 $\mu$ l 加え、95 $^{\circ}$ C 1 分、続けて 98 $^{\circ}$ C 10 秒・55 $^{\circ}$ C 30 秒・72 $^{\circ}$ C 90 秒のサイクルを 40 サイクルし、最後に 72 $^{\circ}$ C 7 分の伸長反応を行った。

PCR 反応後の産物はアガロースゲル電気泳動法（1.2%アガロースゲル、100V 15 分間泳動、染色試薬 GelRed）で目的産物の増幅を確認した。

#### ・シーケンス

ダイターミネーター法を用いて、塩基を蛍光標識する反応を行った。まず、PCR 反応の際に残った dNTP、プライマーを酵素的に除去する精製を行った。増幅した PCR 産物 2 $\mu$ l に対し、ExoSAP-IT（Thermo Fisher Scientific）を含む反応液を 3 $\mu$ l 混合し全量を 5 $\mu$ l とした。精製条件は 37 $^{\circ}$ C 15 分とし、続けて 80 $^{\circ}$ C 10 分の反応で酵素を失活させた。

サイクルシーケンスには BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit（ABI）を用い、シーケンスプライマーには ITS-1 を使用した。反応系 10 $\mu$ l に対し、精製済 PCR 産物 1 $\mu$ l を加え、96 $^{\circ}$ C 1 分、続けて 96 $^{\circ}$ C 10 秒・50 $^{\circ}$ C 5 秒・60 $^{\circ}$ C 4 分のサイクルを 30 サイクル行った。

シーケンス反応後のサンプルはエタノール酢酸沈殿法を用いて未反応 ddNTP を除去した。1 サンプルあたり 99.5%エタノール 25 $\mu$ l、125mM EDTA 1 $\mu$ l、3M NaOAc 1 $\mu$ l の混合液を加え、ピペッティング後遠心（4,000rpm、30 分、4 $^{\circ}$ C）し、フラッシングで上清を除去した後、70%エタノール 70 $\mu$ l を加え再び遠心（4,000rpm、20 分、4 $^{\circ}$ C）及びフラッシングを行った。フラッシング後のサンプルは乾燥させ、Hi-Di Formamide を 10 $\mu$ l 加えた後、サンガーシーケンシングによる塩基配列決定を行った。

#### ・塩基配列を用いた種推定

得られた塩基配列は Sequence Scanner Software2 を用いて明瞭に波形が確認できた配列のみ選択した。ITS 領域の相同性が 97%以上の配列を分子操作的分類単位（MOTU: Molecular operational taxonomic unit）とし、得られた配列データを ATGC ver.7.0（GENETYX）を用いてアセンブルした。塩基数が 300bp 以上の MOTU について、BLAST プログラムを用いて種の推定を行った。相同性が 97%以上を種レベル、95%を属レベル、90%未満は目としてその後の解析に用いた。以降この MOTU を便宜的に「種」として扱うこととする。

### 1-3 結果と考察

#### ・子実体採取数

調査期間中の 2 年間に、10 採取区と探索ルートにおいて合計 27 回の踏査を行った結果、総子実体採取数は菌根性、非菌根性を含めて合計 482 個体となった。採取月別の子実体発生数を図-14 に示す。子実体の発生季節は 6 月から 11 月にかけてであり、期間中は特に 8-10 月の採取数が多く、季節による採取数の差が大きいことが分かった。また、採取数の多い 8 月と 10 月に対し、9 月に一度発生数が減少することから、夏と秋にそれぞれ発生のピークがあること、さらに採取月によって見られる子実体の種類が大きく異なっていた（後述）。

子実体のうち、探索ルートで採取したものを除いた採取区別子実体採取数(合計 294 個体)を図-15 に示す。採取数は最小(採取区 A2)が 12、最大(採取区 B)が 48 個体であり、採取区により大きな違いがあることが分かった。また、採取区の林分タイプによる傾向は見られなかったが相対攪乱強度が強い 3 採取区のうち、2 採取区(A2、C)では採取数が少なかった。

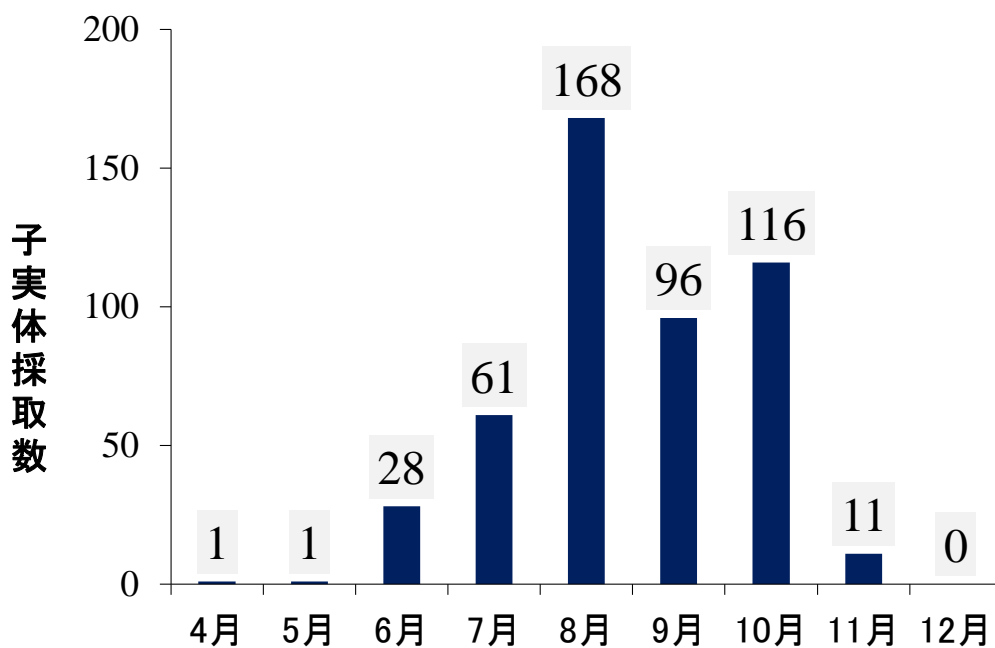


図-14. 月別の子実体採取数

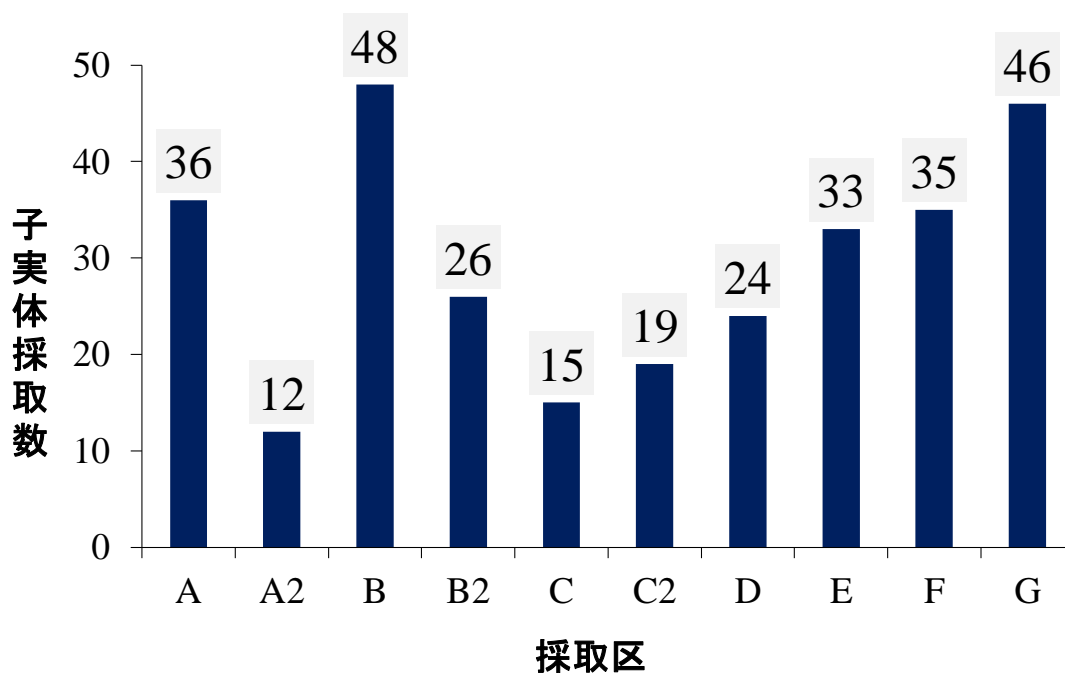


図-15. 採取区別の子実体採取数

## ・子実体の多様性

採取した全ての子実体計 482 個体について、形態による分類後 DNA 解析を行ったところ、全体の 59.54%にあたる 287 個体について、300bp 以上の塩基配列を得ることが出来た。このうち腐生性の 31 配列を除いた菌根性子実体の塩基配列 256 について、クラスタリングを行った結果、菌根性の子実体は **118MOTU** に分類された。比較的狭い範囲の都市近郊の里山林においても、菌根性の子実体は多種多様なものが存在していることが明らかになった。採取した子実体のうち代表的な形態を示すものを写真-1 に示す。また、本研究における全ての出現 MOTU は、総出現種のリストとして付表に示す。

採取区の環境に関わらず、テングタケ属、イグチ科、ベニタケ科が広く分布していることがわかった。種推定で和名まで判明したものを中心に、出現種の特徴を述べる。

### ・テングタケ属 (*Amanita*)

タマゴタケ (*A. caesareoides* 写真 1-3)、ミヤマタマゴタケ (*A. imazekii* 写真 1-5)、テングタケ (*A. pantherina* 写真 1-9)、フクロツルタケ (*A. volvata* 写真 1-11) などが 7 月から 9 月にかけて発生した。最も多く採取されたのは *Amanita* sp.1 (写真 1-12) で、採取区では 6 ヶ所で発生が見られた。

### ・イグチ科 (*Boletaceae*)

傘の裏が管孔状で他の子実体との区別がつけやすく、多くの属が置かれている。キクバナイグチ属 (*Boletellus*) のコガネキクバナイグチ (*B. aurocontextus* 写真 1-29)、キクバナイグチ (*B. emodensis* 写真 1-30) などが見られた。ニガイグチ属 (*Tylopilus*) ではヨゴレキニガイグチ (*T. balloui* 写真 1-91)、ブドウニガイグチ (*T. vinosobrunneus*)、さらに、アケボノアワタケ (*Harrya chromapes* 写真 1-44)、ハナガサイグチ (*Pulveroboletus auriflammeus* 写真 1-60) モエギアミアシイグチ (*Retiboletus nigerrimus* 写真 1-62) などが 8 月から 9 月にかけて発生した。

### ・ベニタケ科 (*Russulaceae*)

6 月から 11 月の最も長期間にわたって発生し、ベニタケ属 (*Russula*) が多く見られた。種レベルまで推定されたものでは、ウコンクサハツ (*R. ballouii* 写真 1-65)、クロハツモドキ (*R. densifolia* 写真 1-67)、ウグイスハツ (*R. heterophylla* 写真 1-68)、ヤブレベニタケ (*R. lepida* 写真 1-70) などが採取された。また、チチタケ属 (*Lactarius*) については *Lactarius* sp.1 (写真 1-55) の形態的特徴がキチチタケ (*L. chrysorrheus*) に酷似していたが、塩基配列の相同性が 95% であることから、種の特定には至らなかった。ベニタケ科の多くは属レベルもしくは種レベルにおいて不明なものが多かった (写真 1-72~84)。

他に、フウセンタケ属 (*Cortinarius*) のカワムラフウセンタケ (*C. purpurascens* 写真 1-32) など、イッポンシメジ属 (*Entoloma*) ではクサウラベニタケ (*E. rhodopolium* 写真 1-39)、キツネタケ属 (*Laccaria*) ではカレバキツネタケ (*L. vinaceoavellanea* 写真 1-50) などの発生が見られた。

一方、地下生の子実体としては、ショウロ属 (*Rhizopogon*) (写真 1-64)、ツチダンゴ属 (*Elaphomyces*) (写真 1-36~38)、セイヨウショウロ属 (*Tuber*) (写真 1-90) などが見られた。これらについては第 3 章で詳しく述べる。

全ての子実体 482 個体のうち、探索ルートで採取したものを除いた 294 個体について、300bp 以上の塩基配列を得ることが出来たのは 195 個体(66.0%)であった。このうち、腐生性 23 個体(18MOTU)を除いた菌根性の子実体 172 個体の 88MOTU を採取区別に表-1 から表-10 に示す。

表-1. 採取区 A の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ | 相対攪乱強度 | MOTU   |
|-----|-------|--------|--|
| A   | Mixed | 中      | <i>Amanita volvata</i><br><i>Amanita</i> sp. 1<br><i>Baorangia</i> sp.<br><i>Boletus</i> sp.<br>Boletales sp. 1<br>Entolomataceae sp. 2<br>Inocybaceae sp. 1<br><i>Lactarius uvidus</i><br><i>Lactarius</i> sp. 2<br><i>Russula</i> sp. 2<br><i>Russula</i> sp. 6<br><i>Russula</i> sp. 10<br><i>Russula</i> sp. 12<br>Russulaceae sp. 1<br><i>Tuber</i> sp. 1<br><i>Tylopilus balloui</i><br><i>Tylopilus</i> sp. 1 |

採取区 A はコナラ・アカマツの混交林であり、攪乱強度は中程度である。ここでは平均採取数よりもやや多い 36 個体が得られた。出現 MOTU はテングタケ属、イグチ科、チチタケ属、ベニタケ属の他に唯一セイヨウショウロ属の子実体を得られた。フクロツルタケモドキ、コガネヤマドリ、ウコンハツに似た形態の *Russula* sp.12 が見られる。

表-2. 採取区 A2 の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ    | 相対攪乱強度 | MOTU  |
|-----|----------|--------|---|
| A2  | Mono (Q) | 強      | <i>Amanita caesareoides</i><br><i>Amanita</i> sp. 1<br><i>Tylopilus balloui</i><br>Boletaceae sp. 5 |

採取区 A2 はコナラ林で攪乱強度が強い。間伐を行ったばかりであり、採取数は全ての採取区の中で最も少なかった。



表-3. 採取区 B の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ | 相対攪乱強度 | MOTU   |
|-----|-------|--------|--|
| B   | Mixed | 弱      | Agaricales sp. 3<br><i>Boletellus aurocontextus</i><br><i>Boletellus emodensis</i><br><i>Boletus</i> sp.<br>Boletaceae sp. 5<br>Boletales sp. 2<br><i>Cortinarius purpurascens</i><br>Cortinariaceae sp. 1<br><i>Elaphomyces</i> sp. 2<br>Entolomataceae sp. 1<br>Entolomataceae sp. 2<br><i>Harrya chromapes</i><br>Inocybaceae sp. 1<br><i>Lactarius yazooensis</i><br><i>Lactarius</i> sp. 1<br><i>Retiboletus</i> sp.<br><i>Russula grisea</i><br><i>Russula</i> sp. 8<br><i>Tylopilus</i> sp. 1<br><i>Xeroconomus</i> sp. 1 |

表-4. 採取区 B2 の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ | 相対攪乱強度 | MOTU  |
|-----|-------|--------|---|
| B2  | Mixed | 弱      | Agaricales sp. 4<br><i>Amanita brunnescens</i><br><i>Amanita pantherina</i><br><i>Amanita</i> sp. 1<br>Amanitaceae sp. 2<br><i>Cortinarius</i> sp. 2<br>Cortinariaceae sp. 1<br><i>Entoloma rhodopolium</i> 1<br><i>Harrya chromapes</i><br><i>Lactarius</i> sp. 1<br><i>Pulveroboletus subrufus</i><br><i>Rhizopogon</i> sp.<br><i>Strobilomyces</i> sp. |

採取区 B、B2 はいずれもコナラ・アカマツ混交林で攪乱強度は弱い。特に B では最も多く

の子実体が採取された(48 個体)。出現 MOTU はテングタケ属、イグチ科、チチタケ属、ベニタケ属の他、フウセンタケ属、イッポンシメジ属など幅が広い。B2 ではマツ特異的なショウロ属やコムラサキイッポンシメジに似た形態の *Cortinarius* sp.2、*Strobilomyces* sp.などが出現している。

表-5. 採取区 C の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ    | 相対攪乱強度 | MOTU  |
|-----|----------|--------|---|
| C   | Mono (P) | 強      | <i>Amanita</i> sp. 1<br>Boletales sp. 3<br>Cortinariaceae sp. 1<br><i>Cortinarius</i> sp. 1<br><i>Tylopilus</i> sp. 2 |

表-6 採取区 C2 の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ    | 相対攪乱強度 | MOTU   |
|-----|----------|--------|--|
| C2  | Mono (Q) | 弱      | <i>Amanita</i> sp. 1<br><i>Aureoboletus</i> sp.<br>Boletaceae sp. 3<br><i>Elaphomyces</i> sp. 2<br><i>Lactarius uvidus</i><br><i>Lactarius</i> sp. 1<br><i>Retiboletus</i> sp.<br><i>Russula</i> sp. 1<br><i>Tylopilus</i> sp. 3 |

採取区 C は山頂近くのアカマツ林で攪乱強度が強い。複数年にわたって *Amanita* sp.1 が出現した。C2 は C に隣接したコナラ林であるが、いずれも採取数は平均を下回った。ここでは地下生菌のツチダンゴ属が出現している。

表-7 採取区 D の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ    | 相対攪乱強度 | MOTU  |
|-----|----------|--------|---|
| D   | Mono (P) | 中      | <i>Amanita manginiana</i><br><i>Amanita</i> sp. 1<br>Boletaceae sp. 1<br><i>Elaphomyces</i> sp. 3<br>Entolomataceae sp. 1<br><i>Russula grisea</i><br><i>Russula</i> sp. 9<br>Russulaceae sp. 1 |

採取区 D は尾根沿いのアカマツ林で土壌が比較的乾燥している。*Amanita manginiana* (和名なし) やニガイグチモドキに似た形態の *Boletaceae* sp.1 が複数年出現した。また、地下生菌のツチダンゴ属も得られた。

表-8 採取区 E の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ    | 相対攪乱強度 | MOTU   |
|-----|----------|--------|--|
| E   | Mono (Q) | 弱      | <i>Agaricales</i> sp. 2<br><i>Amanita caesareoides</i><br><i>Amanita fritillaria</i><br><i>Amanita orientifulva</i><br><i>Amanita</i> sp. 2<br><i>Amanita</i> sp. 3<br><i>Amanita volvata</i><br><i>Entoloma rhodopolium</i> 1<br><i>Inocybaceae</i> sp. 1<br><i>Lactarius deliciosus</i> f. <i>laeticolor</i><br><i>Russula densifolia</i><br><i>Russula</i> sp. 14<br><i>Russula</i> sp. 2<br><i>Russula</i> sp. 3 |

採取区 E はなだらかな傾斜のコナラ林である。攪乱強度は弱く、平均採取数より多い子実体を得られた。タマゴタケのジェネットが存在している。

表-9 採取区 F の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ | 相対攪乱強度 | MOTU  |
|-----|-------|--------|---|
| F   | Mixed | 中      | <i>Amanita volvata</i><br><i>Amanitaceae</i> sp. 4<br><i>Boletales</i> sp. 1<br><i>Clitopilus prunulus</i><br><i>Elaphomyces</i> sp. 1<br><i>Gomphaceae</i> sp.<br><i>Hydnum</i> sp.<br><i>Russula grisea</i><br><i>Russula</i> sp. 11<br><i>Russulaceae</i> sp. 2<br><i>Sarcodon</i> sp.<br><i>Tylopilus balloui</i> |

採取区Fは林道沿いのコナラ・アカマツ混交林である。ウスタケやコウタケ属 (*Sarcodon*) などの特徴的な子実体が見られた。ここにもツチダンゴ属が出現している。

表-10 採取区 G の出現 MOTU

| 採取区 | 林分タイプ    | 相対攪乱強度 | MOTU  |
|-----|----------|--------|---|
| G   | Mono (Q) | 強      | <i>Amanita pantherina</i><br>Amanitaceae sp. 1<br><i>Astraeus hygrometricus</i><br>Boletaceae sp. 4<br><i>Entoloma</i> sp. 1<br><i>Hebeloma vinosophyllum</i><br><i>Hydnum repandum</i><br>Inocybaceae sp. 2<br><i>Lactarius hygrophoroides</i><br><i>Lactarius qinlingensis</i><br><i>Lactarius</i> sp. 3<br><i>Russula cerolens</i><br><i>Russula insignis</i><br><i>Russula mariae</i><br>Russulaceae sp. 3<br>Russulaceae sp. 4<br><i>Scleroderma areolatum</i> |

採取区 G は他の採取区から離れた多摩川沿いの公園に位置している。攪乱強度は強いが 46 個体が採取された。出現 MOTU にはワカフサタケ属 (*Hebeloma*) やニセショウロ属 (*Scleroderma*) など、この採取区でしか見られないものがあつた。

採取区・探索ルート以外においても、複数年同じ場所発生を確認し、かつ調査地全体で特定の箇所には発生しなかった子実体が見られた。ムラサキフウセンタケ (*Cortinarius violaceus*)、ツチグリ (*Astraeus* sp.)、ハナガサイグチ (*Pulveroboletus auriflammeus*) などが小さなジェネットを形成し、同じ場所で毎年子実体を発生させていた。

菌類相の調査に子実体を用いるこれまでの例では、種の推定を形態類別のみで行っていることが多い (吹春ら 2017)。本研究では採取した全ての子実体の約 60% について DNA ベースによる種推定を行うことができた。菌根性子実体の 118 種 (MOTU) という分類数は、全て塩基配列を元に得られた種推定の結果であり、現時点においては最も正確な手法を用いた分類が行われているといえる。

神奈川県都市公園で外生菌根性の子実体を調べた研究では、コナラ・クヌギ林 (2,625m<sup>2</sup>) において形態類別による 32 種の子実体を採取している (井手下ら 2008)。本研究の全採取区 (1,700m<sup>2</sup>) で得られた子実体は 88 種 (MOTU) であり、都市公園

と里山、樹種の違い、手法の違いなどから単純比較は出来ないものの、比較的多くの種推定を行うことが出来たと思われる。

本調査地においては、採取区の環境に関わらず、テングタケ属、イグチ科、ベニタケ科が広く分布していることが分かった。各採取区の子実体出現 MOTU は、比較的多くの子実体が得られた分類群、例えばテングタケ属やイグチ科、ベニタケ属、チチタケ属などが見られる一方で、特定の採取区にしか出現しないものもあった。林分タイプ別では、マツ特異的な種が混交林で見られたが、相対攪乱強度の違いによる傾向は明確には示されなかった。また、2年間の調査において、毎年同じ MOTU の子実体が特定の採取区に見られた。このような場所では地下部に菌根菌の安定的なジェネットが形成されていると考えられる。

以上のことから、子実体発生が見られない種が存在すること、また調査者の観察力や習熟度などによるバイアスといった点があるものの、菌類多様性を調査する際に、評価指標として子実体を採取することには一定の効果があることが分かった。一方で、採取区の植生や微細な環境条件の違いが菌類多様性に及ぼす影響を調べるためにも、地上部の子実体調査に加えて、地下部の菌根もあわせて調べる必要がある (Yamada & Katsuya 2001) ことが改めて示された。

## 2 樹木共生菌類の地下部リソースの把握及び宿主樹木・環境間の比較

### 2-1 目的

暖温帯の里山二次林を構成する樹木のうち、コナラやシイ、カシ、そしてアカマツといった樹種は外生菌根菌と共生関係を結ぶ。この共生は、宿主となった樹木の光合成産物を菌根菌に受け渡し、菌根菌からは宿主樹木に窒素やリンといった土壌養分、土壌水分が受け渡される密接な相利共生関係とされており、共生しない樹木個体は野外環境においては生き残ることができない。

宿主樹木と共生する菌類は樹木 1 個体につき複数種存在することが知られている (Saari *et al.* 2005; Bahram *et al.* 2011)。また、外生菌根菌には宿主特異性があり、樹種によって異なる菌根菌種が共生しているとされている (Bruns *et al.* 2002)。しかしながら、日本国内の広葉樹二次林、特に里山林は外生菌根性の広葉樹を主体とする林分でありながら、これまで共生菌に対する調査は殆ど行われてこなかったため、どのようなリソースが地下部に存在しているかは明らかになっていない。

第 1 章では、子実体を採取する手法を用いて菌類多様性を調べたが、出現菌種は手法によって違いが見られることがわかっている (松田 1999)。これは、子実体の発見自体が困難な属 (ロウタケ属、ラシヤタケ属など) があること、また子実体の発生から消失までの期間が短い、あるいはサイズが小さく発見しづらいものがあることなど、菌種そのものの生理的性質に加え、調査者によるバイアスがかかることに由来すると考えられている (Frøslev *et al.* 2019)。そこで、子実体だけでなく、直接樹木と連絡している菌根を調べることで手法によるバイアスを出来るだけ小さくし、かつより詳細なリソースの把握を行うことにした。

林内のコナラ及びアカマツ成木から根系、加えて土壌からも直接菌根を採取し、形態分類及び分子生物学的手法により種の推定と樹種間の菌根菌種の比較を行う。また、子実体で確認された種とあわせて、林内地下部の外生菌根菌のリソースについて明らかにする。さらに、採取区ごとの菌根菌群集の特徴を掘り下げていく。採取区により菌根菌群集は変化するか、変化するとしたら何が影響するのか、菌根菌群集に影響を及ぼしうる要因は何か、構成樹種と攪乱強度、土壌環境要因を調べることで明らかにすることを目的とした。

### 2-2 材料と方法

#### 2-2-1 サンプリング

##### ・宿主樹木根系からのサンプリング

採取区においてコナラとアカマツを各 3 本ずつ選定し、側根をたどって根系を採取した。アカマツについては採取区に成木がない場合は実生も対象とし、根系全体を掘り取った。

##### ・土壌コアサンプリング

1 採取区あたり 3 ヶ所から土壌コア (10×10×5cm) を採取した。採取したコアから根系を水道水で洗い出し、根の形態及び菌根の形成の有無により外生菌根性樹木の根系であると判断した。根端は双眼実体顕微鏡を用いて観察し、菌根表面の色や形状、根外菌糸の特徴な

どをもとに形態類別を行った。類別した形態ごとに3根端を採取し、乾燥後1根端ずつ2.0mlチューブに分けCTAB溶液を50 $\mu$ l加え、DNA抽出まで-30 $^{\circ}$ Cで保存した。

## 2-2-2DNA 解析

DNA解析は1-2-2と同手順で行った。ただし菌根からのDNA抽出は根端のサイズが小さいため、溶解時のTEバッファをアカマツは200 $\mu$ l、コナラは30-50 $\mu$ lとした。種推定についても1-2-2と同様にITS領域の相同性が97%以上の配列を分子操作的分類単位(MOTU)とし、配列データをアセンブルした。塩基数が300bp以上のMOTUについて、BLASTプログラムを用いて種の推定を行った。相同性が97%以上を種レベル、95%を属レベル、90%未満は目としてその後の解析に用いた。

## 2-2-3 土壌環境データ

### ・土壌硬度

山中式土壌硬度計を用いて測定した(n=5)。

### ・リター厚

各採取区において無作為に5地点を選び、リターの構成、A0層の厚さを測定した(n=5)。

### ・土壌含水率

各採取区において無作為に5地点を選び、リターを除いた地表5-15cmを掘り返し、土壌を採取した。各採取土壌30gの重量を測定し、乾燥機で60 $^{\circ}$ C、48時間以上乾燥させた乾燥重量との差から土壌含水率を計算した(n=5)。

### ・土壌 pH

採取・乾燥させた土壌を0.5mmメッシュのふるいにかけて、その乾燥重量に対して質量比5となるよう純水を加えた試料を30分間振とうし、静置したものについて、pHメーターを用いガラス電極法で測定した(n=5)。

### ・土壌 C/N

採取・乾燥させた土壌を0.5mmメッシュのふるいにかけて試料各0.1gをC/Nコーダーを用い乾式灰化法で測定した(n=5)。

## 2-2-4 統計解析

各採取区について、Simpsonの多様度指数(1- $\lambda$ )とShannon-Wienerの多様度指数(H')をそれぞれ算出した。採取区におけるMOTUsの累積曲線およびSample-based rarefaction curveは、EstimateS (Version 9.1.0)を用いて計算した。

採取区における菌根菌群集組成について、非計量多次元尺度法(NMDS)を用いて序列化を行った。解析は属レベルで行い、Jaccard指数で実施した。科レベルより上のサンプルは解析から除外した。また、土壌環境要因が菌根菌群集に及ぼす影響についてveganパッケージのenvfit関数によって検定を行った。

また、科レベルにおける階層クラスタリング分析を行い、ヒートマップとしてあらわした。採取区ごと、もしくは出現した科ごとに行列データを標準化(Z-score)し、距離はユークリッド距離、クラスター間の距離は Ward 法を用いて測定した。

NMDS および階層クラスタリング分析は R ver. 3.5.3. (R Core Team, 2019 <https://www.r-project.org/>)を用いて行った。

## 2-3 結果と考察

### ・共生菌類の地下部リソース

各採取区のコナラ成木およびアカマツ成木・実生から取り出した根端数は、それぞれコナラ 154、アカマツ 105 となった。また、土壌コアから取り出した根端数は 112 で、合計根端数は 371 となった。また各採取区において菌核も 4 個採取した。採取した菌根のうち代表的な形態を示すものを写真-2 に、菌核を写真-3 に示す。

第 1 章で示した子実体 482 個体とあわせて総サンプル数は 857 サンプルとなった。このうち腐生菌、内生菌を除き、300bp 以上の塩基配列が得られたものは、子実体が 256、菌根が 222、菌核が 4、合計 482 サンプルであった。全てをまとめて分類すると 187 の MOTU に分類され、合計の菌根菌種は 27 科 41 属にわたることが明らかになった。本調査地は豊富な菌根菌の種多様性を内包するといえる。表-11 に本研究で得られた全ての菌根菌 MOTU のうち、総採取数の上位 20 位までを示す。また、本研究における全ての出現 MOTU は、総出現種のリストとして付表に示す。

最も多く採取されたのは *Lactarius* sp.1 であった。子実体、菌根ともに出現し、10 採取区のうち 7 ヶ所で確認された(写真 2-29~33)。次いで多かったのが *Sebacina* sp.1 である。ロウタケ科(*Sebacinaceae*)に属し、子実体は背着生(傘を作らず、子実層を表面にして基質に張り付くタイプ)であるため発見が難しい。本調査においても菌根からのみ採取された(写真 2-49~57、ロウタケ科を含む)。*Cenococcum geophilum* は菌根(写真 2-8,9)以外に菌核が多く採取された(写真 3-B)。また、テングタケ科(*Amanitaceae*)の *Amanita* sp.1(写真 2-2~4)も多く見られた。この他に上位 20 までの MOTU にはマツ類と特異的に共生関係を結ぶショウロ属(*Rhizopogon*)や地下生菌のツチダンゴ属(*Elaphomyces*)、イグチ科(*Boletaceae*)が見られた。

総採取数上位の MOTU をみると、子実体の発見が困難なもの、あるいは見られないものが多く存在することが分かった。以上のことから、子実体だけでなく、菌根を調べることにより、本調査地における菌根菌種のリソースがより詳細に把握できたといえる。

### ・共生菌類の群集構造と宿主樹木、土壌環境との関係

10 採取区における菌根菌(子実体 294(探索ルートのを除外)、菌根 371、菌核 4)のうち、腐生菌、内生菌を除き 300bp 以上の塩基配列が得られたものは 394 であった。MOTU に分けると 162MOTU になった。以下はこの採取区で得られたデータを元に考察する。



表-11. 総採取数上位 20 までの菌根菌 MOTU (n=482)

| 順位 | MOTU名                         | 総採取数 | 出現採取区数(/10) | 形態      |
|----|-------------------------------|------|-------------|---------|
| 1  | <i>Lactarius</i> sp. 1        | 34   | 7           | +R E/Sp |
| 2  | <i>Sebacina</i> sp. 1         | 26   | 10          | E       |
| 3  | <i>Cenococcum geophilum</i> 1 | 13   | 6           | E/Sc    |
| 4  | <i>Amanita</i> sp. 1          | 12   | 5           | +R Sp   |
| 5  | <i>Amanita pantherina</i>     | 10   | 3           | +R E/Sp |
| 6  | <i>Harrya chromapes</i>       | 8    | 2           | +R E/Sp |
| 7  | <i>Lactarius</i> sp. 2        | 8    | 3           | E/Sp    |
| 8  | <i>Boletus</i> sp.            | 8    | 5           | +R E/Sp |
| 9  | <i>Rhizopogon luteolus</i>    | 7    | 2           | E       |
| 10 | <i>Elaphomyces</i> sp. 1      | 6    | 1           | E/Sp    |
| 11 | <i>Tylopilus</i> sp. 1        | 6    | 2           | E/Sp    |
| 12 | Boletaceae sp. 1              | 6    | 3           | Sc/Sp   |
| 13 | Inocybaceae sp. 1             | 6    | 3           | +R Sp   |
| 14 | <i>Xerocomus</i> sp. 1        | 6    | 1           | +R Sp   |
| 15 | Cortinariaceae sp. 1          | 6    | 3           | Sp      |
| 16 | <i>Tomentella</i> sp. 1       | 5    | 1           | E       |
| 17 | <i>Tylopilus balloui</i>      | 5    | 3           | +R Sp   |
| 18 | <i>Entoloma rhodopolium</i> 1 | 5    | 2           | +R Sp   |
| 19 | <i>Retiboletus</i> sp.        | 5    | 2           | +R Sp   |
| 20 | <i>Amanita caesareoides</i>   | 5    | 2           | +R Sp   |

+R: 採取区外発生あり E: 菌根 Sc: 菌核 Sp: 子実体

各採取区で得られた菌根菌の多様度指数を相対攪乱強度別に表-12 に示す。多様度指数  $H'$  が全ての採取区において高い値となった。また、相対攪乱強度が弱いほど、多様度指数は高くなる傾向が見られた。

表-12. 各採取区の多様度指数

| 相対攪乱強度<br>林分タイプ<br>採取区  | 強     |          |          | 中     |          |       | 弱        |       |       |       |
|-------------------------|-------|----------|----------|-------|----------|-------|----------|-------|-------|-------|
|                         | Mixed | Mono (P) | Mono (Q) | Mixed | Mono (P) | Mixed | Mono (Q) |       |       |       |
|                         | A2    | C        | G        | A     | F        | D     | B        | B2    | C2    | E     |
| Simpson (1- $\lambda$ ) | 0.912 | 0.888    | 0.964    | 0.954 | 0.939    | 0.927 | 0.944    | 0.909 | 0.931 | 0.951 |
| Shannon-Wiener ( $H'$ ) | 3.726 | 3.471    | 4.958    | 4.709 | 4.351    | 3.986 | 4.667    | 4.091 | 4.168 | 4.615 |

各採取区で得られた MOTUs について、Jackknife2 による種数の推定を行った(図-16)。その結果、この採取区における推定種数は 345 種(MOTU)になった。これは、実測値の 162MOTU と比較すると約 2 倍の数値である。第 1 章の子実体探索においても、形態分類による種推定(写真-1A~E)にとどまり、MOTU に含むことが出来なかったサンプルが多数存在したが、菌根においても同様であることから、実測値以上の数の菌根菌がこの調査地には潜

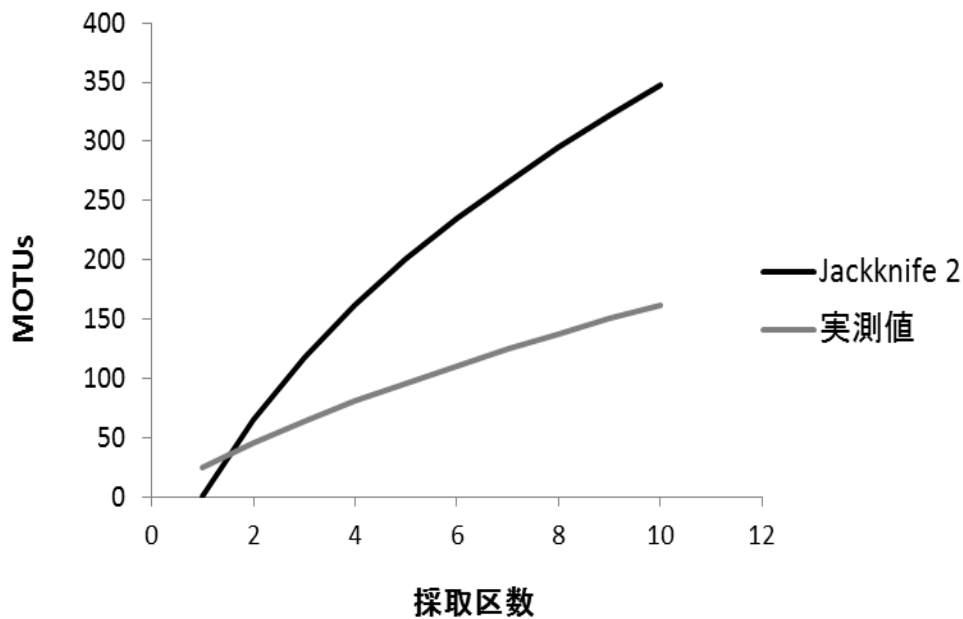


図-16. 採取区における MOTUs の累積曲線と Sample-based rarefaction curve

在している可能性が強く示唆された。

採取区別の土壤環境データを表-13 に示す。土壤環境は各採取区により一定程度の差が見られた。中でも顕著な違いが見られたのは採取区 G で、含水率が他の採取区よりも低く、pH が高い傾向が見られた。また、採取区 D においても pH が低く、C/N 比が他の採取区よりも有意に高くなった。採取区 G は多摩川に面した釜の淵公園内であり、土壤環境は他の採取区とは異なることが分かった。採取区 D は尾根のアカマツ林で比較的乾燥し、腐植の分解が他採取区と比較してあまり進んでいないことが示唆された。

表-13. 各採取区の土壤環境データ

| 採取区 | 土壤硬度 (kg/cm <sup>2</sup> ) | A <sub>0</sub> 層厚さ (mm) | 含水率 (%) | pH           | C/N           |
|-----|----------------------------|-------------------------|---------|--------------|---------------|
| A   | 3.60±1.38a                 | 25.60±8.17a             | 41.43ab | 4.62±0.19abc | 15.77±0.73abc |
| A2  | 1.07±0.95b                 | 70.40±13.45b            | 41.88ab | 4.24±0.10a   | 17.43±1.14a   |
| B   | 1.49±0.47b                 | 37.20±13.22ab           | 32.96ac | 4.34±0.26ab  | 19.27±1.39ab  |
| B2  | 0.44±0.21b                 | 33.20±20.58ab           | 38.02ab | 4.13±0.37a   | 19.70±1.01a   |
| C   | 1.38±0.60b                 | 24.80±17.28a            | 40.34ab | 4.92±0.38cd  | 18.46±2.09cd  |
| C2  | 1.04±0.49b                 | 42.80±18.77ab           | 37.39ab | 4.83±0.44bcd | 16.57±1.26bcd |
| D   | 0.86±0.11b                 | 29.20±10.31a            | 19.98de | 3.55±0.16e   | 22.15±1.88e   |
| E   | 0.79±0.75b                 | 27.60±14.94a            | 42.73b  | 4.47±0.15abc | 15.80±0.88abc |
| F   | 6.53±1.78c                 | 23.10±16.99a            | 26.35cd | 4.87±0.26bcd | 13.80±1.47bcd |
| G   | 1.57±1.09b                 | 59.80±33.62ab           | 10.97e  | 5.39±0.25d   | 13.08±1.53d   |

Tukey's test P<0.05

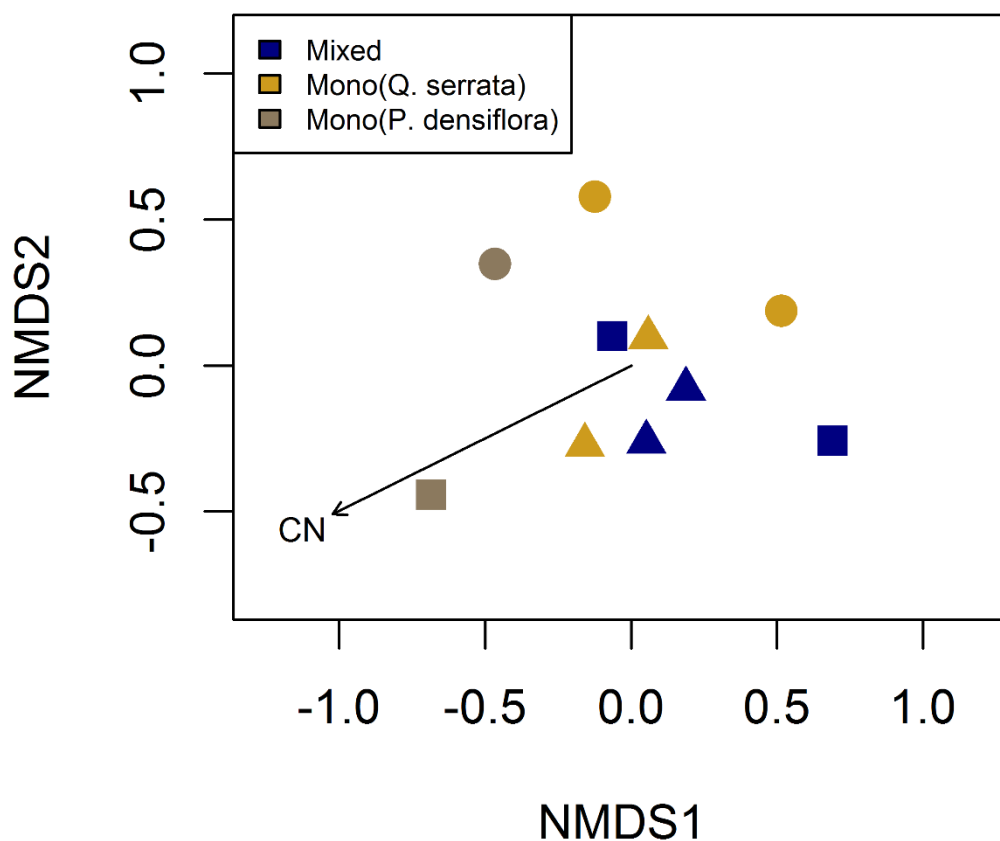


図-17. NMDS による採取区における菌根菌群集組成の序列化  
 解析は属レベルで行い、科以上のサンプルは除外  
 Jaccard 指数 Stress=0.1242231, PERMANOVA P<0.05  
 相対攪乱強度 ●強 ■中 ▲弱

図-17 に NMDS による採取区における菌根菌群集組成の序列化を示す。菌根菌群集は林分タイプ(混交林・コナラ林・アカマツ林)により有意に分かれた(PERMANOVA, P<0.05)。一方、攪乱の強度別では有意ではないものの分かれる傾向が見られた。土壤環境要因による影響を見たところ、C/N 比のみが有意に菌根菌群集に影響を及ぼす( $R^2=0.6613$ ,  $P=0.029$ )ことが分かった。土壤硬度( $R^2=0.3334$ ,  $P=0.264$ )、リター厚( $R^2=0.3133$ ,  $P=0.261$ )、土壤含水率( $R^2=0.2122$ ,  $P=0.439$ )、土壤 pH( $R^2=0.4196$ ,  $P=0.128$ )はいずれも影響を及ぼさなかった。

階層クラスタリング分析を用い、菌根菌各科を標準化した採取区のヒートマップを図-18 に示す。採取区全体を通して見られるのはベニタケ科(Russulaceae)であり、次いでイグチ科(Boletaceae)、ロウタケ科(Sebacinaceae)、テングタケ科(Amanitaceae)、イボタケ科(Thelephoraceae)が高頻度で出現していた。このことから、異なる林分タイプであっても、高出現頻度の科は採取区間である程度一致し、これらの科がコナラやアカマツといった本調査地の宿主樹木にとって、菌根共生の主体となっていることが伺えた。

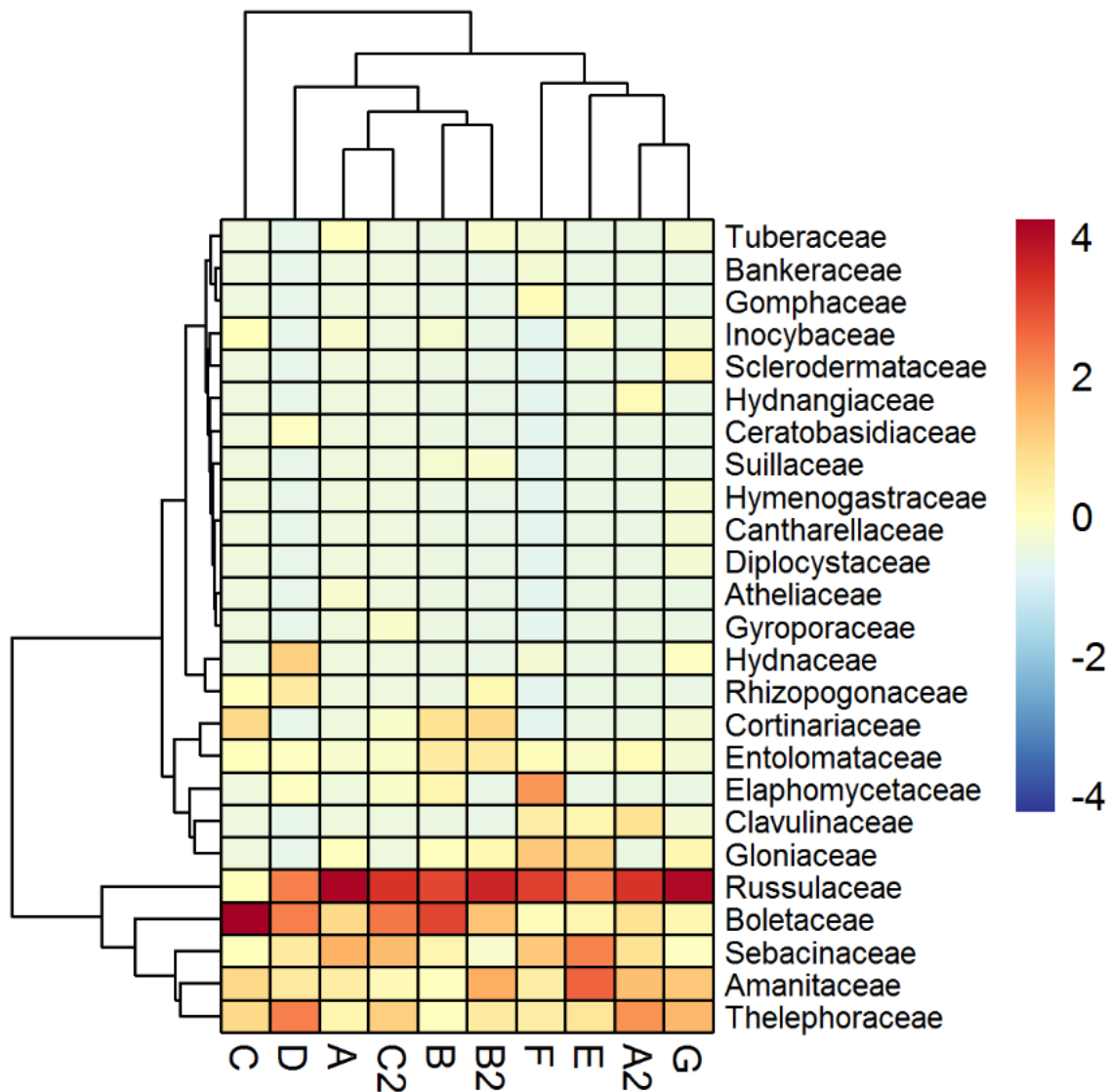


図-18. 採取区における出現菌根菌各科の階層クラスタリング  
 暖色が強いほど各採取区における高頻度の出現菌根菌（科レベル）を示す  
 菌根菌各科（行）を Z-score に標準化 目以上のサンプルは除外  
 ユークリッド距離、ward 法

次に、階層クラスタリング分析を用い、採取区を標準化した出現菌根菌各科のヒートマップを図-19 に示す。同じデータセットを用いているが、図-18 とは異なり、菌根菌のどの科がどの採取区に高頻度で出現しているかを示している。例えば採取区 G で見られるニセショウロ科 (Sclerodermataceae)、Hymenogaster 科などはこの区にのみ出現したものである。ヒートマップから、シングルトンもしくはリード数の少ない MOTU が各採取区に点在していることが分かった。また、種や属といった分類単位よりも大きい科レベルにおいても、1 採取区にのみ出現す

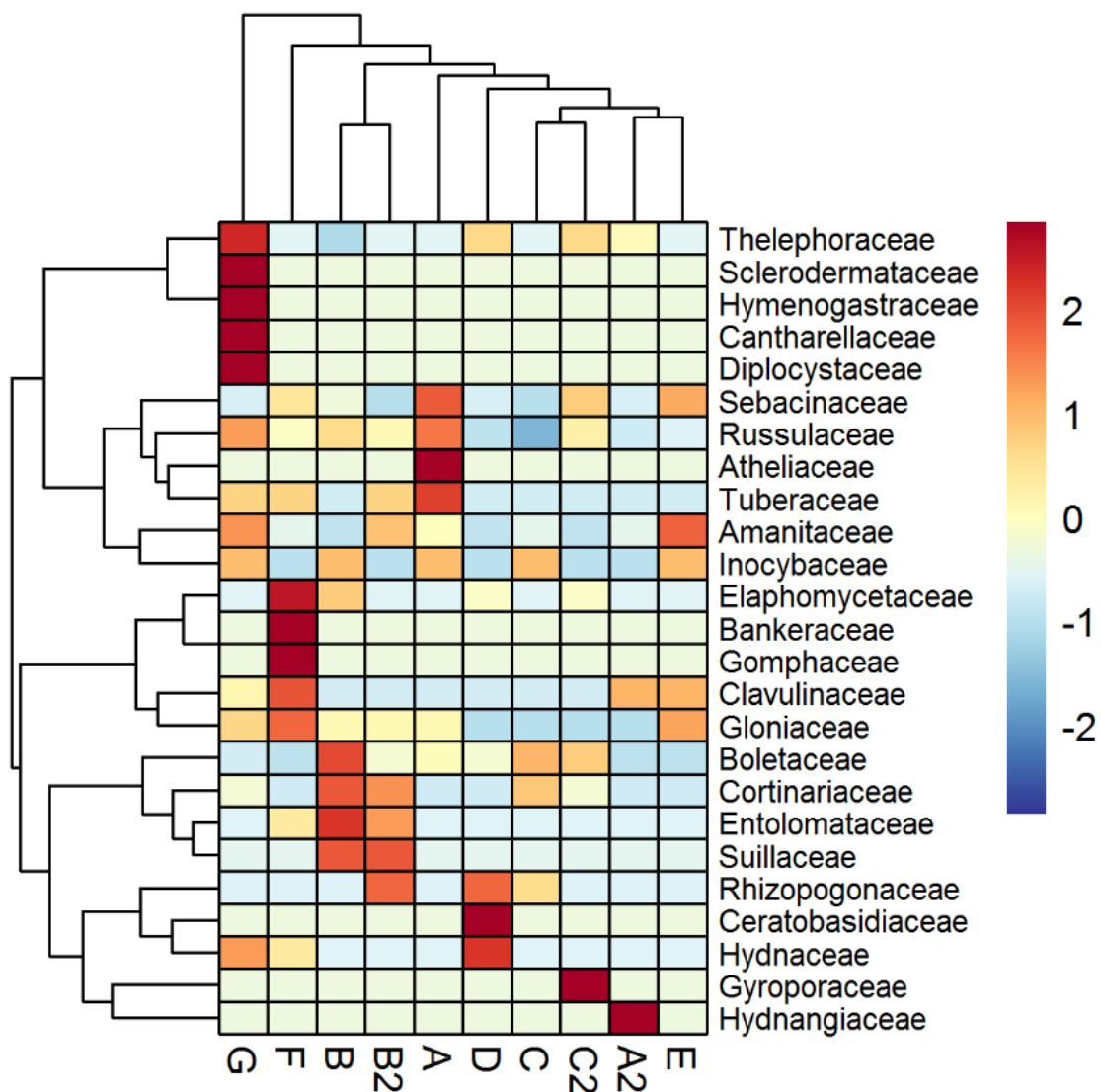


図-19. 採取区における出現菌根菌各科の階層クラスタリング  
 暖色が強いほど高頻度の出現菌根菌（科レベル）を示す  
 採取区（列）を Z-score に標準化 目以上のサンプルは除外  
 ユークリッド距離、ward 法

るものが多く見られた。これらは、林分タイプに関わらず各採取区を特徴付ける菌根菌であるともいえる。このことから、比較的小さい範囲に菌根菌のジェネットは分布していること、さらにこれらの菌類の存在が多様性に富む群集構造を生み出す要因になる可能性が考えられた。

本章では、地上部・地下部の菌根菌群集と群集構造に林分・環境が及ぼす影響を調べた。その結果、手法の偏りによるバイアスを小さくし、調査地全体の菌根菌リソースがより詳細にわかった。菌根菌種は 27 科 41 属 187 種 (MOTU) にわたり、本調査地は豊富な菌根菌の種多

様性を内包していることが明らかになった。日本の天然林と二次林においてミズナラ(*Q. crispula*)を含む8種の外生菌根性樹木を調べた例(Ishida *et al.* 2007)では、観察された菌根菌は205種、推定種数は300-400種と報告されている。本研究の推定種数は345種(MOTU)であり、サンプル数や樹種数、調査条件などの違いから一概に比較することはできないが、人為の入った狭い面積の里山林においても、菌根菌種の多様性は比較的高く保たれていることが明らかになった。

先行研究において、ミズナラと共生する菌種はイグチ科、フウセンタケ科、チチタケ属、ベニタケ属、ラシヤタケ属、ロウタケ属、*Cenococcum geophilum*(Ishida *et al.* 2007)、中国のモンゴリナラ(*Q. liaotungensis*)と共生する菌種は/tomentella-thelephora(ラシヤタケ-イボタケ属)や/cenococcum、/russula-lactarius(ベニタケ-チチタケ属)などの系統に属することが分かっている(Wang *et al.* 2017)。コナラ属の森林においてこれらの菌根菌各科は菌根共生の主体となっていると考えられるが、人為の入る里山林においても同様であることが明らかになった。

採取区ごとの菌根菌群集は林分タイプ—コナラ・アカマツ混交林とコナラ林およびアカマツ林—の間で有意に異なり、地上部の植生と菌根菌群集には関連がある、すなわち宿主樹木の種の違いが菌群組成に影響を及ぼしていることが分かった。北米の混交林において、複数種のコナラ属とマツ属の菌根菌種を調べた例では、ベニタケ属、チチタケ属、*C. geophilum*、ワカフサタケ属、テングタケ属などが検出されたが、コナラ属とマツ属に共有する MOTU は5/164と極めて少ない(Rasmussen *et al.* 2018)ことが分かっている。また、子実体と菌根の両方を調べた例でも、ヨーロッパナラ(*Q. robur*)、アカガシワ(*Q. rubra*)とヨーロッパクロマツ(*P. nigra*)、ヨーロッパアカマツ(*P. sylvestris*)の間で共通する菌種は少ない(Trocha *et al.* 2012)ことから、宿主樹種の違いが菌根菌群集の違いに影響していることが考えられる。

一方、相対攪乱強度との関連は、NMDSの結果から、傾向はあるものの有意な関連は見出せなかった。影響を及ぼす環境要因としてはC/N比が挙げられた。この理由としてアカマツ林(採取区 C,D)の土壌は山頂または尾根に位置し、他の採取区と比較して有機物の分解が遅いことが考えられる。また、採取区単位で菌根菌群集を見た場合、林分タイプに関わらず小規模に広がるジェネットが存在することでこの調査地全体の菌類多様性を高める働きがあることが階層クラスタリングの結果から示唆された。

里山林の外生菌根共生の主体となりうる菌根菌はベニタケ科、イボタケ科、テングタケ科などであることが分かった。また、各採取区に特徴的な菌根菌種が存在することも明らかになった。本研究における採取区は、150-250m<sup>2</sup>の小さな面積を単位にしているが、それぞれの菌根菌群集は異なる。このことから、人為が入った里山林においても、共生の主体となりうる菌根菌種は大きく変わらないこと、また一方で林分タイプや環境条件、攪乱の程度など、採取区ごとの特徴がこの調査地の菌類多様性を高めていることが分かった。さらに、採取区ごとの特徴については人為によってもたらされたものもあることから、ある程度の管理や攪乱が菌類多様性の維持に有効に寄与する可能性が示唆された。

### 3 地下生きのこの未知種・希少種探索

#### 3-1 目的

第1章および第2章の結果から、里山林には豊富な樹木共生菌類のリソースが存在することが明らかになった。また、採取区単位で特徴的な菌類が存在することも分かった。この中にはまだ世間にその存在を知られていない未知種や生物学的・資源的に希少な種もあると思われるが、群集ベースの解析では詳細は分からない。

外生菌根菌種の中でも特に地下部にきのこを形成する、いわゆる地下生菌については、近年発見例が増加しているが、学術的な分類研究は未だ多くない(折原 2018)。身近な里山における地下生菌の未知種・希少種にはどのようなものがあるのか、形態および孢子観察を行うと共に分子系統解析を行い明らかにする。また、得られた地下生菌を用いて、実験環境下にて宿主樹木実生への接種試験を行う。これにより、希少な地下生菌が菌根共生能力を持っているか、また共生による樹木への効果があるのかについても調べた。

#### 3-2 材料と方法

##### 3-2-1 サンプリングと形態・孢子観察

###### ・サンプリング

1-2-1 と同じ採取区及び調査ルートにて行った。コナラ及びアカマツの成木近傍を 5～10cm 程掘り返し、地下生菌の子実体を採取した。掘り返しは最小限にとどめ、必要以上の攪乱を起ささないよう心がけた。菌類相が豊富に見られる林分では集中的に探索を行った。

採取した子実体は持ち帰った後、形態と孢子観察による同定を行い、一部を接種試験用に取り分けた後、乾燥させ DNA 解析に用いるまで保存した。

###### ・形態・孢子観察

子実体に付着していた泥を落とした後、外皮 (peridium) の色・質感に加えて内部の構造 (グレバ) について実体顕微鏡を用いて観察を行った。孢子は断面から新鮮なグレバを取り出し、プレパラート上で光学顕微鏡を用いて観察した。マウント液にはシェアー液を用いた。

##### 3-2-2 DNA 解析

DNA 解析は 1-2-2 と同手順で行った。

##### 3-2-3 系統解析

###### ・セイヨウショウロ属 (*Tuber*)

Kinoshita *et al.* (2011) のデータセット (5.8S と ITS2) に採取サンプル (表-14) を加えて系統解析を行った。Unipro UGENE (Okonechnikov *et al.* 2012) 内で MAFFT ver. 7 を用いてデフォルト設定でマルチプルアライメントを行った。poorly-aligned sites は Gblocks 0.91b (Castresana 2000) を用いて排除した。パラメータは Allowed gap

positions=half とし、残りはデフォルトに設定した。なお、poorly-aligned sites が元の塩基配列長の半分を超える場合、Minimum length of a block=5 とした。得られた配列から MEGA 6 (Tamura *et al.* 2013) を用いて K2+G+I モデルに基づき最尤法により系統樹を作成した (図-21)。系統樹の各ノードの信頼性についてはブートストラップ解析を行った。試行回数は 1000 回とした。加えて、採取サンプルが含まれる系統群について Kinoshita *et al.* (2011) をもとに GenBank/NCBI データベースに公開されている塩基配列 (ITS1+5.8S+ITS2 領域) を用いてデータセットを作成し、同様の手法で系統解析を行った (図-22、図-23)。Puberulum グループは K2+G、Macrosporium グループは K2+I モデルを採用した。

- ・ツチダンゴ属 (*Elaphomyces*)

BLAST 検索の結果および Paz *et al.* (2017) をもとに GenBank/NCBI データベースに公開されている塩基配列 (ITS1+5.8S+ITS2 領域) を用いてデータセットを作成し、採取サンプル (表-15) を加えて系統解析を行った。アライメントから系統樹作成の手法は前述の方法に従い、系統樹は T92+G モデルに基づき最尤法により作成した。

- ・ショウロ属 (*Rhizopogon*)

BLAST 検索の結果をもとに GenBank/NCBI データベースに公開されている塩基配列 (ITS1+5.8S+ITS2 領域) を用いてデータセットを作成し、採取サンプル (表-16) を加えて系統解析を行った。アライメントから系統樹作成の手法は前述の方法に従い、系統樹は K2 モデルに基づき最尤法により作成した。

### 3-2-4 実生を用いた接種試験

- ・接種

地下生菌のうち、ショウロ属の子実体を用いて行った。サンプル T261 は、子実体 1 つを摩砕後、25ml 滅菌水に懸濁し、無菌的に発芽させたアカマツ実生 1 本 (50ml チューブ内、芝の目土:黒土:川砂=2:1:1 を滅菌した土壌) に対して 5ml ずつ接種した。サンプル T262 は子実体の大きさを考慮して、半分をそれぞれ同様に 25ml 滅菌水に懸濁し、4ml ずつ接種した。両処理区の繰り返し数は 5 とした。control には滅菌水を 5ml ずつ添加した。

室温で 13 か月間育成した後、実生あたりの菌根形成率を測定した。加えて、トリパンプルーを用いた染色法によりハルティヒネットの形成の有無を確認した。

- ・菌根の染色と観察

実生の根系を水道水で洗った後、菌根部分を摘出し、1ml の滅菌水中でボルテックスを用いて 1 分間振動洗浄を行った。この作業を 3 回繰り返して夾雑物を取り除き、80°C の温浴中で加熱した 10% 水酸化カリウム (300 $\mu$ l/根端) に菌根を浸して 1 時間静置した。5% 塩酸 (450 $\mu$ l/根端) で中和後、水洗し、30% 過酸化水素 (150 $\mu$ l/根端) に 15 分浸漬し、再度水洗した。1.5% トリパンプルー (滅菌水 150 $\mu$ l に対して 10-20 $\mu$ l が適当)



に5分程度浸し、肉眼で根の染色が確認されたものを光学顕微鏡下で観察した。

### 3-3 結果と考察

探索の結果、地下生菌として、セイヨウショウロ（トリュフ）(*Tuber*) 1個体、ツチダンゴ (*Elaphomyces*) 10個体以上、ショウロ (*Rhizopogon*) 2個体を採取した。また、これまで国内で3ヶ所からしか見つからない *Stephensia* sp. (ワタミノタケ属(新称)) に類似した子実体1個体も採取したが、種の確定には至らなかった。以下、各属について説明する。

#### ・セイヨウショウロ属 (*Tuber*)

5.8S と ITS2 の塩基配列を用い、前述の条件に基づいた処理の結果、426bp の内 91bp が排除された。335bp を解析に用いた系統樹を図-21 に示す。サンプル E360 は *Macrosporium* グループ、T15 および E229 は *Puberulum* グループに含まれた。これら二つのグループごとにさらに系統解析を行った結果を図-22 および図-23 に示す。サンプル E360 は *T. sp.2*、T15 および E229 は *T. sp.20* と同一のクレードを形成した。二つのクレード (*sp.2* および *sp.20*) は共に日本産であることから、本調査で得られたサンプルも日本もしくはアジア地域に分布域を持つ種である可能性が示唆された。

サンプル E360 が含まれた *T. sp.2* のクレードは高級食材である黒トリュフとして知られる種 (*T. macrosporium*) と近縁であり、可食の如何については不明であるが、定期的な人為攪乱が起こる都市公園においても希少価値の高い種が生息している可能性が考えられた。

本調査で唯一得られた子実体であるサンプル T15 はベージュ～薄茶色の peridium や、乳白色の大理石様グレバといった形態的特徴が *T. sp.20* と一致しており (図-20A)、同種である可能性が高い。本種については福島および群馬において子実体の発生が報告されており (Kinoshita *et al.* 2011)、東京都内における DNA ベースでの子実体の発生報告事例は恐らく初である。

表-14. 調査地から得られた *Tuber* 属一覧

| MOTU               | 標識番号  | 形態   | 日付         | 場所    | 宿主                | best mach acc. no. (ITS) | bp  | match(%) |
|--------------------|-------|------|------------|-------|-------------------|--------------------------|-----|----------|
| <i>Tuber</i> sp. 1 | T15*  | 子実体  | 2016 9/14  | 青梅の森  | 不明                | AB553510                 | 585 | 100      |
| <i>Tuber</i> sp. 1 | E229* | 外生菌根 | 2017 10/27 | 青梅の森  | <i>Q. serrata</i> | AB553510                 | 511 | 100      |
| <i>Tuber</i> sp. 1 | E302  | 外生菌根 | 2018 11/16 | 青梅の森  | <i>Q. serrata</i> | AB553510                 | 472 | 100      |
| <i>Tuber</i> sp. 2 | E360* | 外生菌根 | 2018 11/16 | 釜の淵公園 | <i>Q. serrata</i> | AB553367                 | 326 | 100      |
| Tuberaceae sp.     | E115  | 外生菌根 | 2017 6/29  | 青梅の森  | <i>Q. serrata</i> | AB218103                 | 403 | 94       |

\* 系統解析に使用

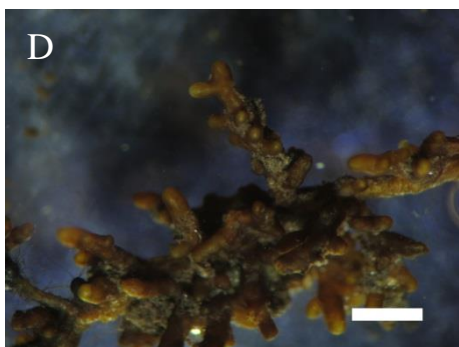
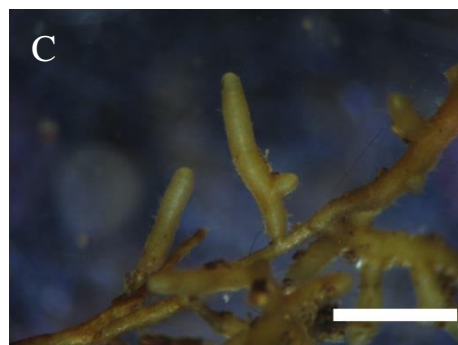
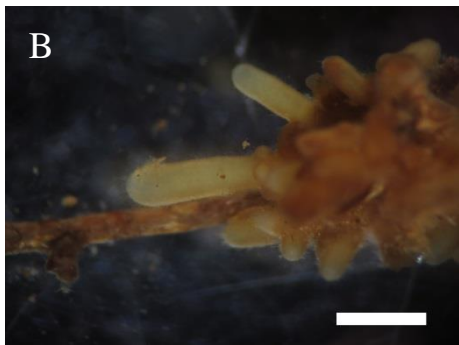


図-20. *Tuber* 属の子実体および菌根

A. *Tuber* sp.1 (T15), B. *Tuber* sp.1 (E229), C. *Tuber* sp.1 (E302), D. *Tuber* sp.2 (E360), E. *Tuberaceae* sp.1 (E115)  
スケールバーは 1mm を表す

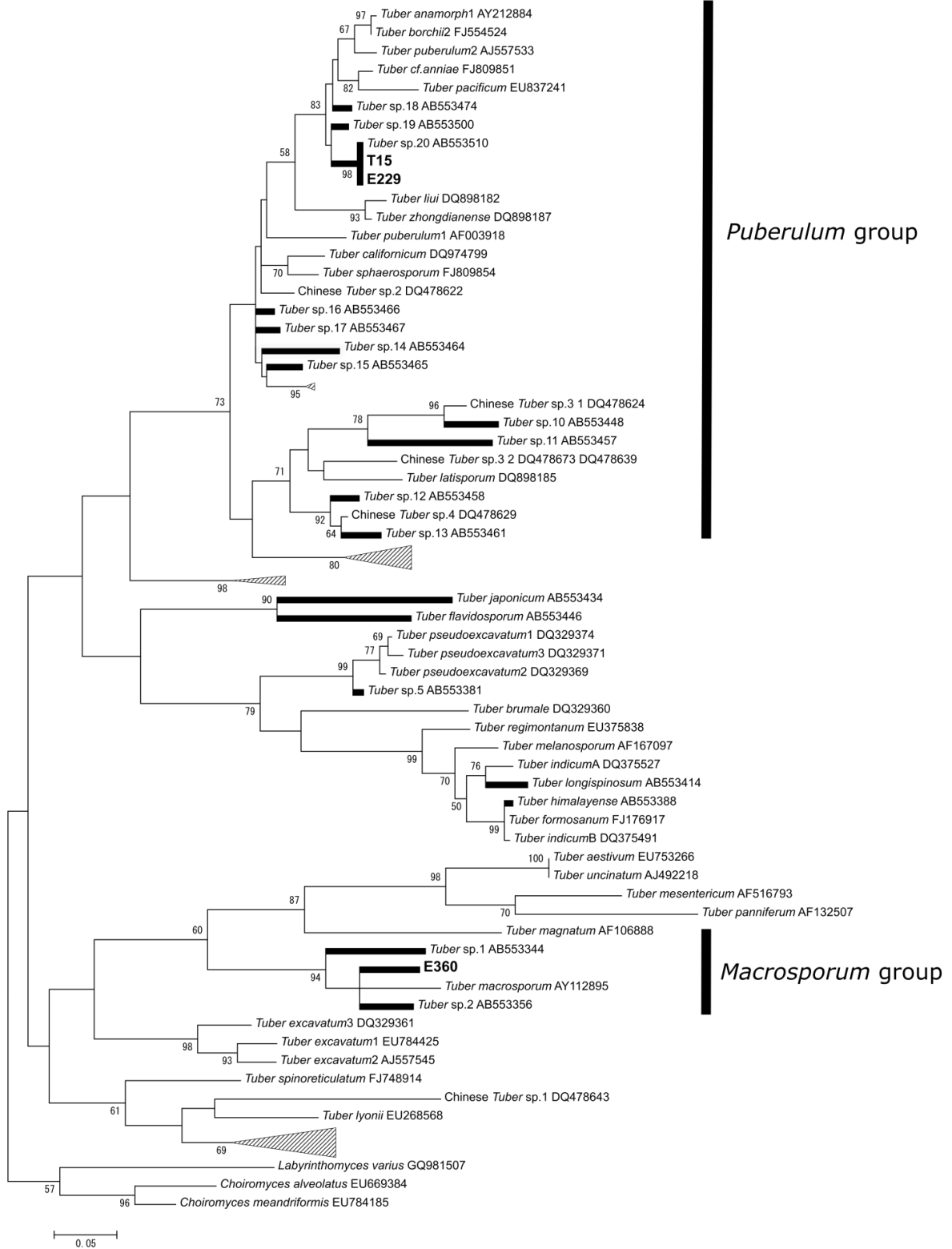


図-21. *Tuber* 属の ITS 領域 (5.8S+ITS2) に基づく最尤法による系統樹  
 各ノード上の数値はブートストラップ確率を表す (>50%を表示)  
 太い黒で示したノードは日本産、黒太字は本調査で採取したサンプルを示す

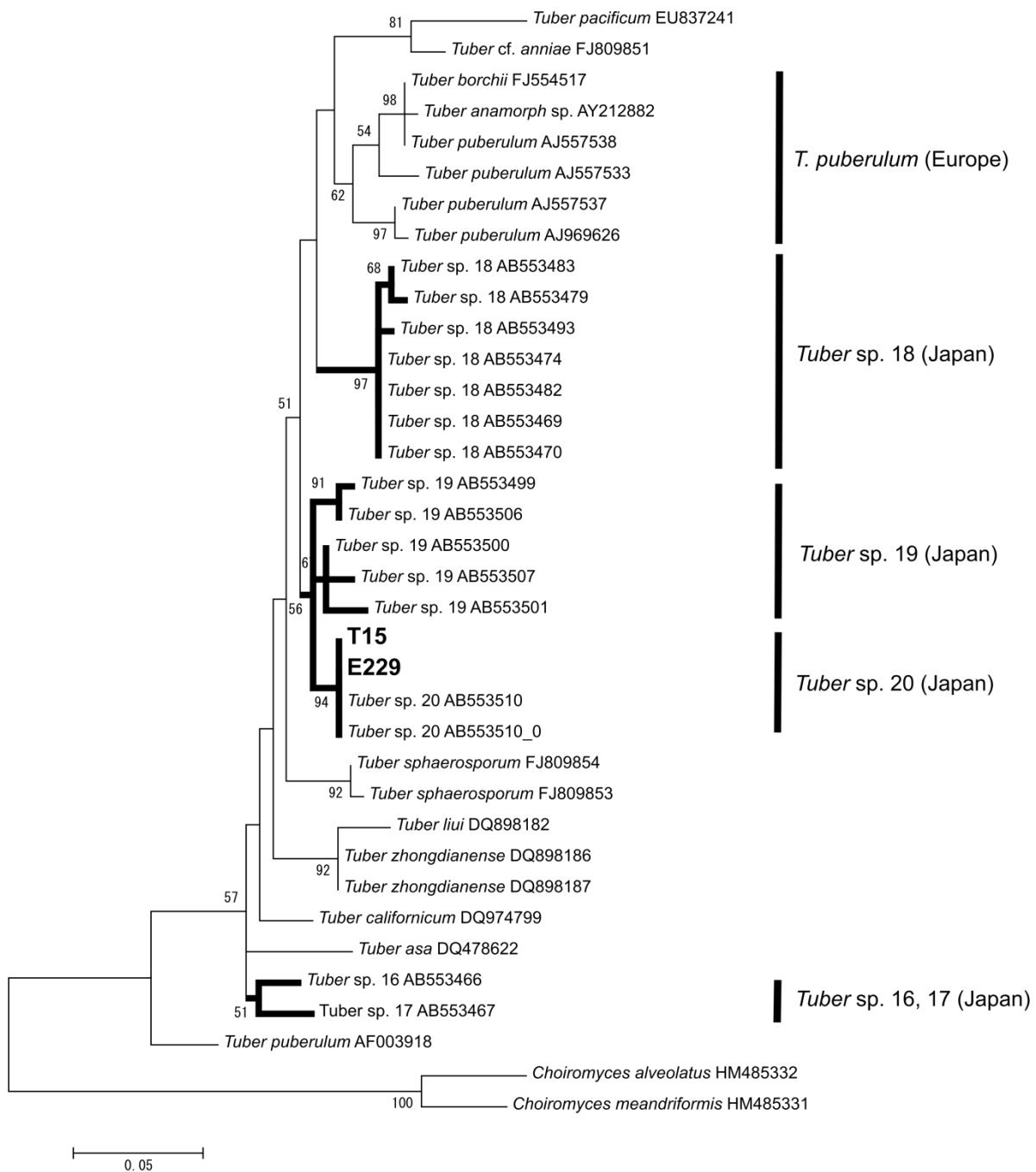


図-22. *Tuber* 属、*Puberulum* グループの ITS 領域 (ITS1+5.8S+ITS2) に基づく最尤法による系統樹  
 各ノード上の数値はブートストラップ確率を表す (>50%を表示)  
 太い黒で示したノードは日本産、黒太字は本調査で採取したサンプルを示す

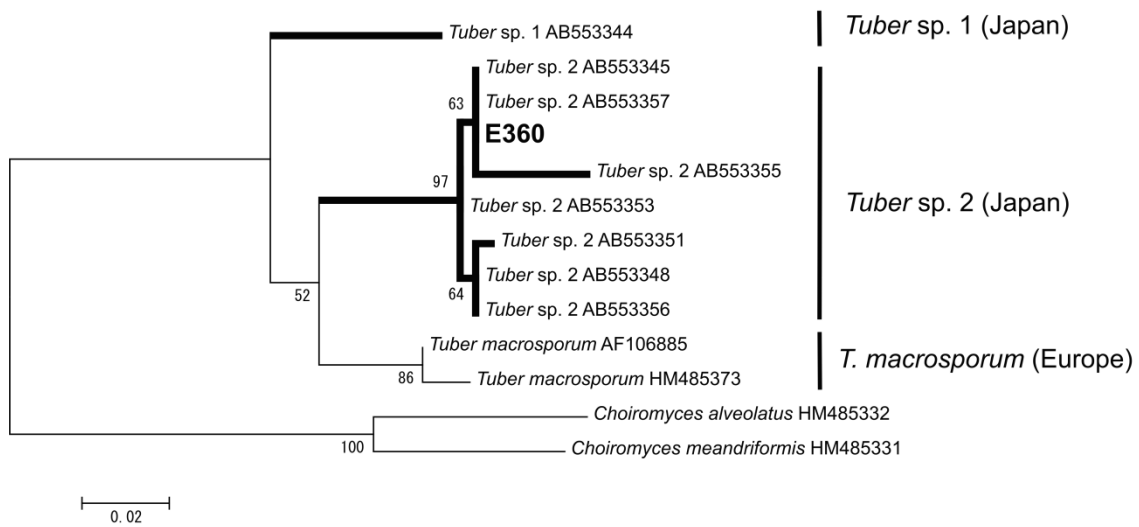


図-23. *Tuber* 属、*Macrosporium* グループの ITS 領域 (ITS1+5.8S+ITS2) に基づく最尤法による系統樹  
 各ノード上の数値はブートストラップ確率を表す (>50%を表示)  
 太い黒で示したノードは日本産、黒太字は本調査で採取したサンプルを示す

・ツチダンゴ属 (*Elaphomyces*)

採取子実体の形態的特徴について述べる (図-24)。

*Elaphomyces* sp.1 (図-24A-D)

子実体の大きさは直径 1-3cm 程度、球状～楕円状。peridium は 2 層に分かれ、外側 (outer peridium) は黄褐色～黄土色でいぼ状に細かくひび割れている。グレバを包括する内側 (inner peridium) は茶褐色の大理石模様を有し、グレバは淡い茶色～茶褐色の綿状の菌糸と粉状の胞子からなる。胞子は 10-20 $\mu$ m、赤褐色で表面に鋭い突起が見られる。子嚢は消失性であると考えられる。既知種では *E. muricatus* に類似している。菌根を含む全てのサンプルは同じアカマツ成木直下から発見されていることから、本種の宿主はアカマツであることが示唆された。

*Elaphomyces* sp.2 (図-24E-H)

子実体の大きさは直径 1-3cm 程度、球状～楕円状。outer peridium は黄褐色～黄土色でいぼ状に細かくひび割れている。inner peridium は白色で表皮との境に近づくほど黄色みを帯びる。グレバは黒色で粉状の胞子が詰まっている。胞子は 20-30 $\mu$ m、肉眼では黒色に見えるが顕微鏡下では暗赤褐色である。子嚢は消失性であると考えられる。既知種では *E. granulatus* に類似している。本種は子実体がコナラ成木直下で発見され、菌根状態でコナラとの共生が確認されていることからコナラを宿主としていることが推察された。

*Elaphomyces* 属は菌寄生菌である *Tolyocladium* 属に宿主として寄生されることが報告されているが (Imai 1934) 本調査で得られた両種においてはそれらの寄生および子実体の発生は確認されなかった。

・系統解析

649bp の内 273bp が排除され、376bp を解析に用いた。

最尤法による系統解析の結果、sp.1 は *E. muricatus* クレードと近縁であるものの、独立したクレードを形成した (図-25)。sp.2 についても、形態的類似が見られた *E. granulatus* とは異なるクレードを形成した。

したがって、本調査で得られた両種は共に未記載種である可能性が示唆された。

表-15. 調査地から得られた *Elaphomyces* 属一覧

| MOTU                     | 標識番号  | 形態  | 日付         | 場所   | 宿主                   | mach acc. no. ( | bp  | match(%) |
|--------------------------|-------|-----|------------|------|----------------------|-----------------|-----|----------|
| <i>Elaphomyces</i> sp. 1 | T89*  | 子実体 | 2016 11/22 | 青梅の森 | 不明                   | KX238841        | 511 | 92       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 1 | T91   | 子実体 | 2017 4/19  | 青梅の森 | 不明                   | KX238841        | 510 | 92       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 1 | T98*  | 子実体 | 2017 6/29  | 青梅の森 | 不明                   | KX238841        | 510 | 92       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 1 | T247* | 子実体 | 2017 9/19  | 青梅の森 | 不明                   | KX238841        | 510 | 92       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 1 | T468  | 子実体 | 2018 10/8  | 青梅の森 | 不明                   | KX238841        | 510 | 92       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 1 | E98*  | 菌根  | 2017 4/19  | 青梅の森 | <i>P. densiflora</i> | KX238841        | 510 | 92       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 2 | T64   | 子実体 | 2016 10/21 | 青梅の森 | 不明                   | MF352708        | 510 | 96       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 2 | T99   | 子実体 | 2017 6/29  | 青梅の森 | 不明                   | MF352708        | 510 | 96       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 2 | E146  | 菌根  | 2017 7/5   | 青梅の森 | <i>Q. serrata</i>    | MF352708        | 510 | 96       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 3 | T243  | 子実体 | 2017 9/19  | 青梅の森 | 不明                   | JQ991719        | 568 | 95       |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 4 | E286  | 菌根  | 2018 11/16 | 青梅の森 | 不明                   | JQ991719        | 402 | 99       |

\* 系統解析に使用

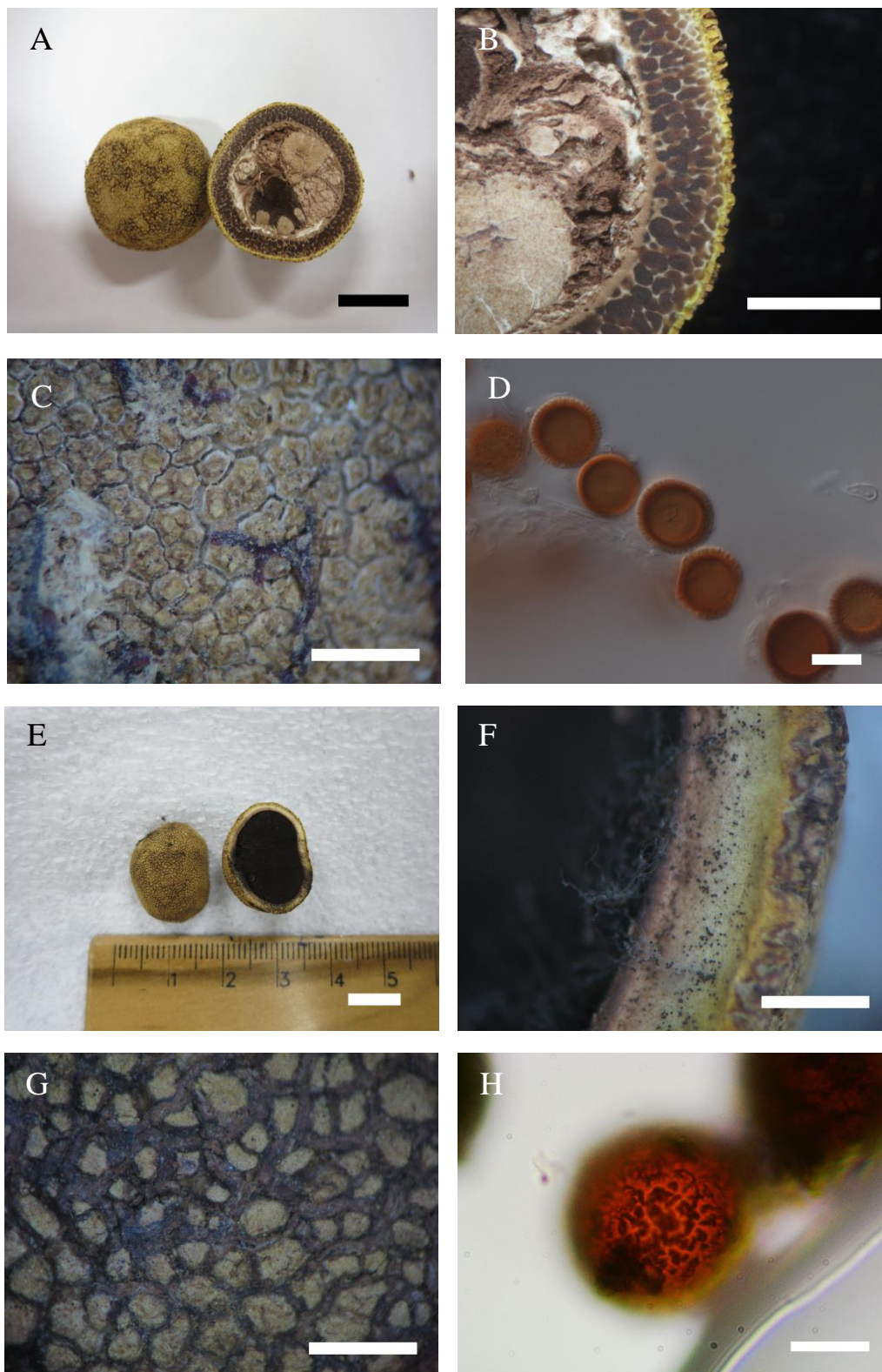


図-24. *Elaphomyces* 属の子実体

A-D. *Elaphomyces* sp.1 (T247), A. 全体像, B. peridium およびグレバ, C. outer peridium (拡大), D. 子嚢胞子  
 E-H. *Elaphomyces* sp.2 (T99), E. 全体像, F. peridium およびグレバ, G. outer peridium (拡大), H. 子嚢胞子  
 スケールバーは A, E = 1cm, B = 5mm, C, F, G = 1mm, D, H = 10µm を表す

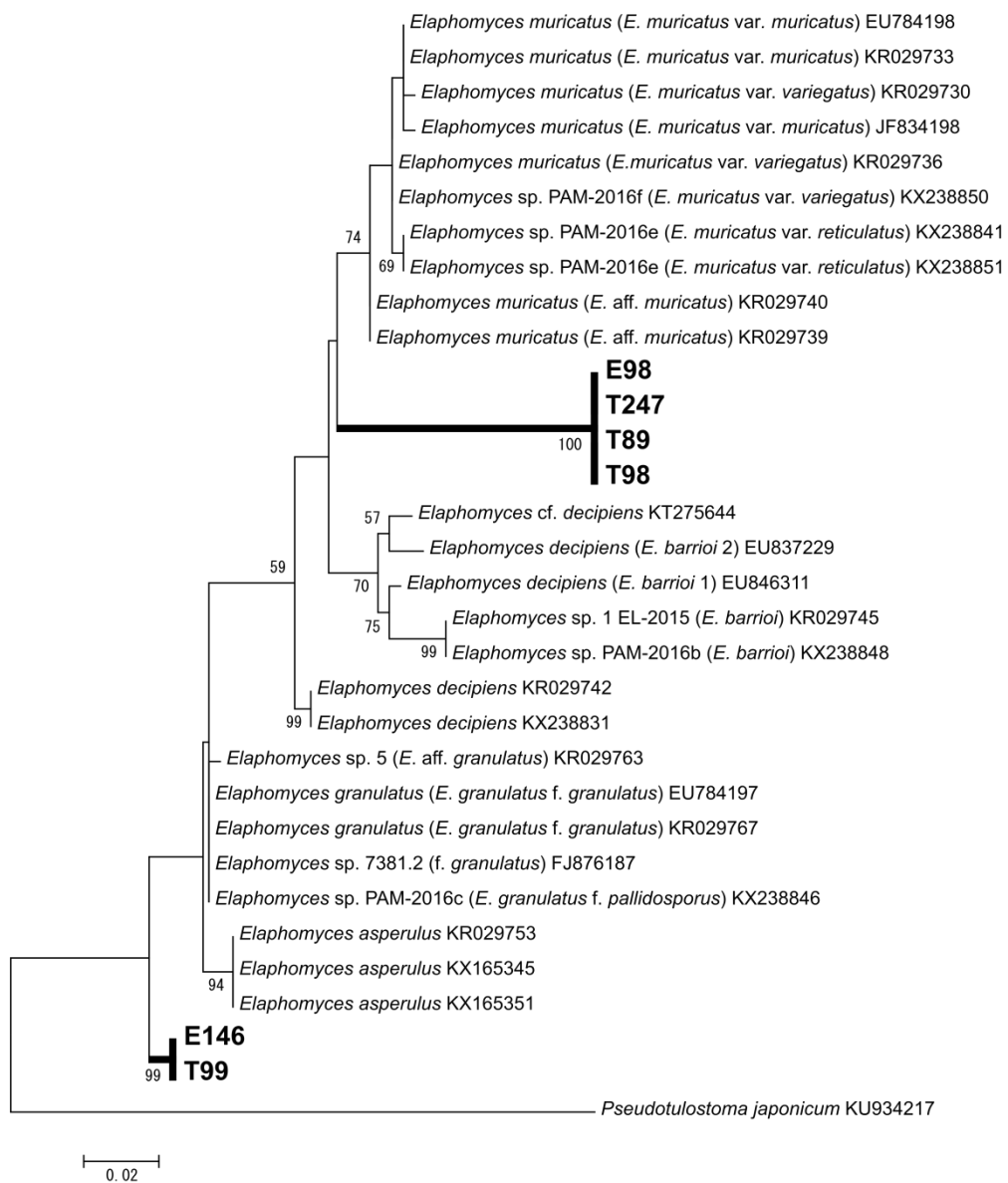


図-25. *Elaphomyces* 属の ITS 領域 (ITS+5.8S+ITS2) に基づく最尤法による系統樹  
 各ノード上の数値はブートストラップ確率を表す (>50%を表示)  
 太い黒で示したノードは日本産、黒太字は本調査で採取したサンプルを示す



・シヨウロ属 (*Rhizopogon*)

採取子実体の形態的特徴について述べる (図-26)。

*Rhizopogon* sp. (T261、図-26A-D)

子実体の大きさは直径 1.5-2.5cm 程度、球状～卵形で弾力がある。peridium は薄く、白色～ベージュ色で接触により赤変する。グレバは白色で、多孔質な迷路状構造を持つ。横断時に断面からほのかな果実臭が確認されたが、暫時静置後は揚げた芋に似た香りに変化した。胞子は透明な楕円～長楕円形で、大きさは 5-6×3-4μm である。

*Rhizopogon* sp. (T262、図-26E-H)

形態的特徴および DNA シークエンスの結果からサンプル T261 と同種であると考えられるが、グレバに茶色～市紅茶色の変色が見られた。これは子実体の成熟または老化によるものであると推察される。

・系統解析

672bp の内 214bp が排除され、458bp を解析に用いた。

最尤法による系統解析の結果、T261 および T262 は同一のクレードを形成した(図-27)。BLAST 検索の結果で高い一致率を示したのが中国や日本産のサンプルであったことから本種はアジアに分布域を持つ種である可能性が示唆された。また、それらの多くは菌根形態での報告であり、DNA 情報を含む子実体の発見は本報告が初となる可能性が高い。

表-16. 調査地から得られた *Rhizopogon* 属一覧

| MOTU                       | 標識番号  | 形態  | 日付         | 場所   | 宿主                   | best mach acc. no. (ITS) | bp  | match(%) |
|----------------------------|-------|-----|------------|------|----------------------|--------------------------|-----|----------|
| <i>Rhizopogon luteolus</i> | E59   | 菌根  | 2016 6/10  | 青梅の森 | <i>P. densiflora</i> | KP893815                 | 511 | 98       |
| <i>Rhizopogon luteolus</i> | E68   | 菌根  | 2016 6/10  | 青梅の森 | <i>P. densiflora</i> | KP893815                 | 220 | 95       |
| <i>Rhizopogon luteolus</i> | E69   | 菌根  | 2016 6/10  | 青梅の森 | <i>P. densiflora</i> | KP893815                 | 248 | 96       |
| <i>Rhizopogon luteolus</i> | E70   | 菌根  | 2016 6/10  | 青梅の森 | <i>P. densiflora</i> | AB253521                 | 511 | 99       |
| <i>Rhizopogon luteolus</i> | E71   | 菌根  | 2016 9/14  | 青梅の森 | <i>P. densiflora</i> | KP893815                 | 511 | 98       |
| <i>Rhizopogon</i> sp.      | T261* | 子実体 | 2017 10/27 | 青梅の森 | 不明                   | AB839387                 | 511 | 99       |
| <i>Rhizopogon</i> sp.      | T262* | 子実体 | 2017 10/27 | 青梅の森 | 不明                   | AB839387                 | 511 | 99       |

\* 系統解析に使用

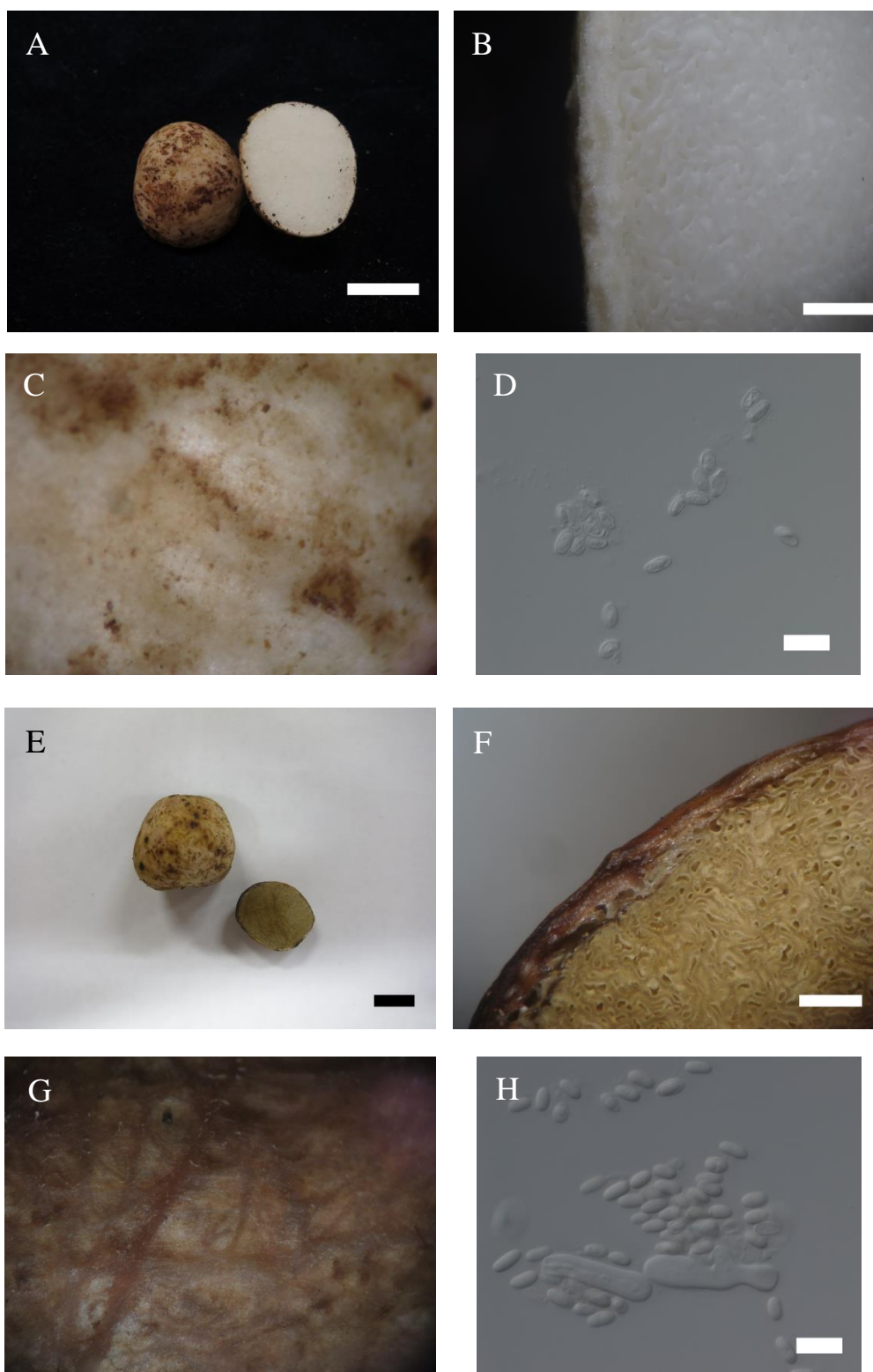


図-26. *Rhizopogon* 属の子実体

A-D. *Rhizopogon* sp. (T261), A. 全体像, B. peridium およびグレバ, C. peridium (拡大), D. 担子孢子  
 E-H. *Rhizopogon* sp. (T262), E. 全体像, F. peridium およびグレバ, G. peridium (拡大), H. 担子孢子  
 スケールバーは A, E = 1cm, B, F = 1mm, D, H = 10µm を表す

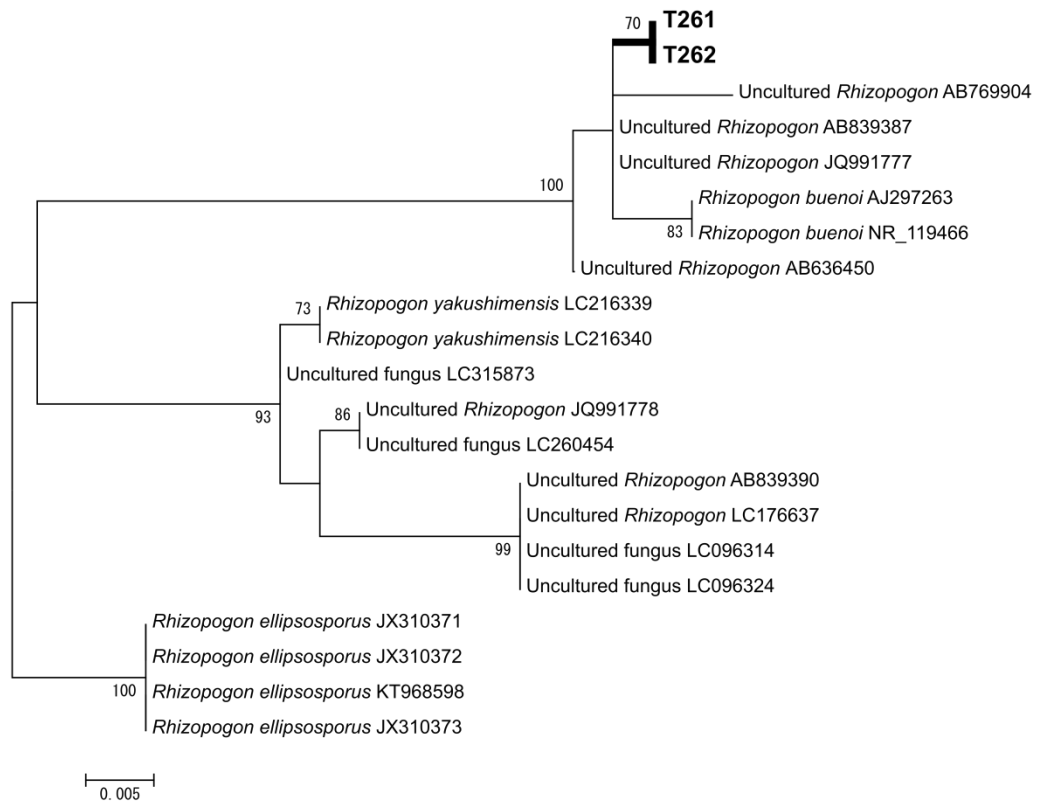


図-27. *Rhizopogon* 属の ITS 領域 (ITS+5.8S+ITS2) に基づく最尤法による系統樹  
 各ノード上の数値はブートストラップ確率を表す (>50%を表示)  
 太い黒で示したノードは日本産、黒太字は本調査で採取したサンプルを示す

・不明地下生菌 (Agaricaceae sp.)

形態的特徴として、大きさは直径 1×1.3cm 程度、楕円状。peridium はベージュ〜クリーム色で凹凸があり、ジャガイモに似ている。内部には白色で水分を含む繊維質なグレバが見られる。棒状または根棒状の子嚢に 1-3 個の孢子 (油滴?) を含む (図-28)。この地下生菌は、形態的特徴の類似から *Stephensia* 属 (子嚢菌) の近縁種である可能性が考えられたが、BLAST 検索は *Agaricus* 属 (担子菌) と高い相同性を示した。加えて、高い相同性を示したいずれの種とも形態的特徴の一致が見られなかったことから、本個体の種推定には至らなかった (便宜上 Agaricaceae sp. と表記)。また、本個体はアカマツ成木近傍の地下から採取されたため、菌根性子実体である可能性が推察されたが、種推定が不確定であること、BLAST 検索の結果から本研究では非菌根性子実体として扱った。

| MOTU            | 標識番号 | 形態  | 日付         | 場所   | 宿主 | best mach acc. no. (ITS) | bp  | match(%) |
|-----------------|------|-----|------------|------|----|--------------------------|-----|----------|
| Agaricaceae sp. | T286 | 子実体 | 2017 11/22 | 青梅の森 | 不明 | KX657035                 | 507 | 94       |

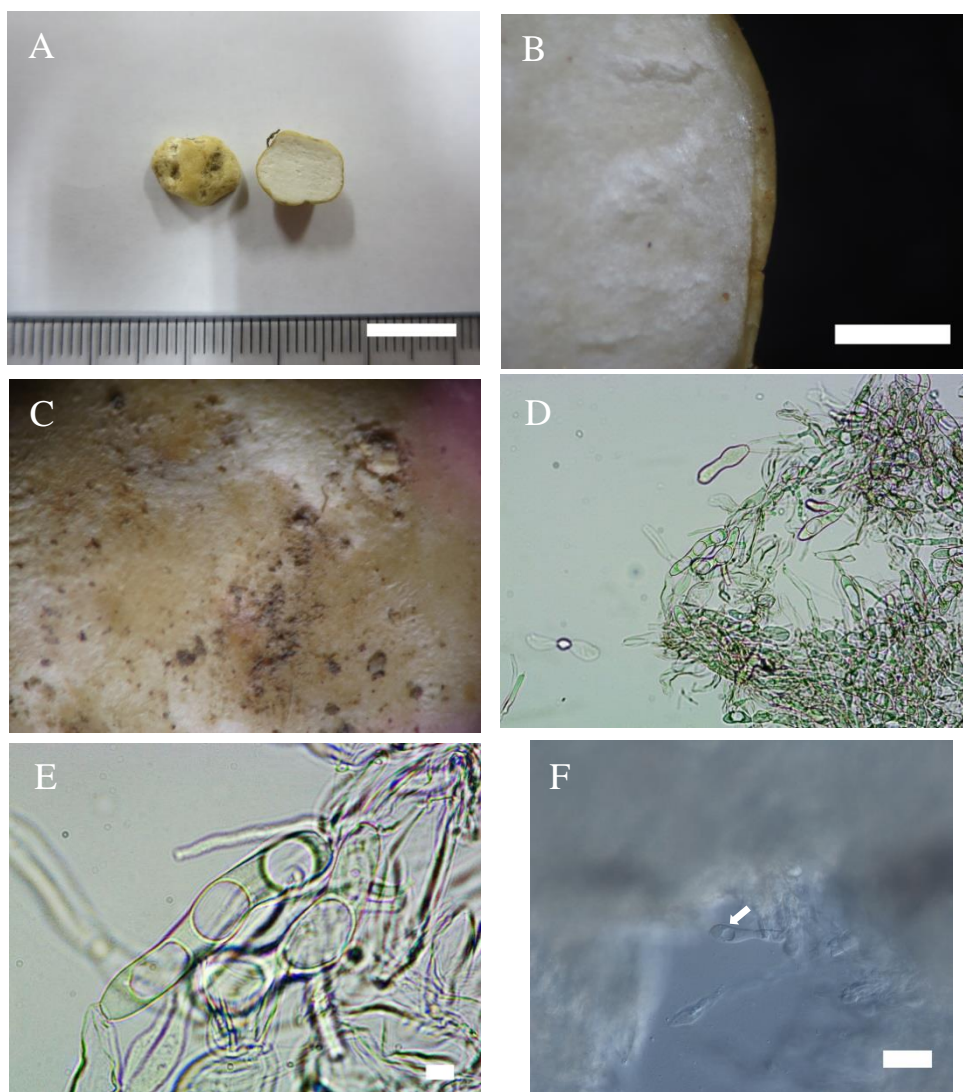


図-28. 不明地下生菌 (Agaricaceae sp.)

A. 子実体全体像, B. 外皮およびグレバ, C. 表皮 (拡大) D-F. 子嚢および孢子? スケールバーは A, B=1mm, E=10 $\mu$ m, F=50 $\mu$ m を表す

## ・接種試験

13 か月の生育期間終了までに control は全て枯死した一方で、T261 および T262 を接種した処理区は全て生存した (図-29A)。接種区の地下部は約半数以上が白色で光沢のある菌糸に覆われて菌根化しており、マツ科菌根に見られる、二又に分かれる構造が確認された (図-29B,C)。また、トリパンプルーによって染色した菌根においては、アカマツ根を覆う菌鞘と細胞間に伸びるハルティヒネットが確認された (図-29D,E)。

本種は両サンプルともアカマツ成木近傍で採取されたことから、アカマツを宿主とすることが予想されていたが、本試験により、アカマツに対して菌根形成能力を有し、宿主の生育に寄与することが示唆された。

採取した地下生菌について分子系統解析を行った結果、セイヨウショウロ (トリュフ) は、日本もしくはアジア地域にクレードを持つ *Tuber* sp.20 (種小名なし、和名なし) であることがわかった。また、ツチダンゴ 2 種はいずれも未記載種であったため、今後新種記載論文を準備し、新種登録を行う必要がある。ショウロについては、国内では初の子実体発見例となる可能性がある。さらにこのショウロは、接種試験によりアカマツ宿主への菌根共生に貢献することを確認した。

人間の生活空間のすぐ身近に存在する里山林に、これまでその存在を知られていなかった未知種、希少種が潜在することが改めて確認された。地下生菌は地上生の子実体とは異なり、胞子を風ではなく動物によって散布するタイプの菌類 (佐々木ら 2016) であるため、移動距離が比較的短い。そのため、これらの未知種、希少種は小さなジェネットとして存在している可能性が考えられる。さらにこのことは、地下生菌の未知種、希少種を調査地内に保持していくためには小面積単位、もしくは共生する宿主樹木について単木単位の管理方法が必要であることを示している。

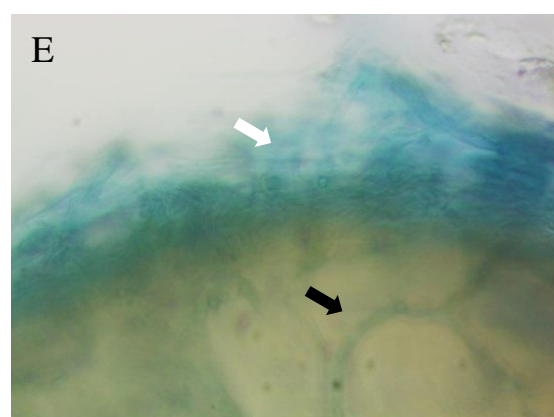
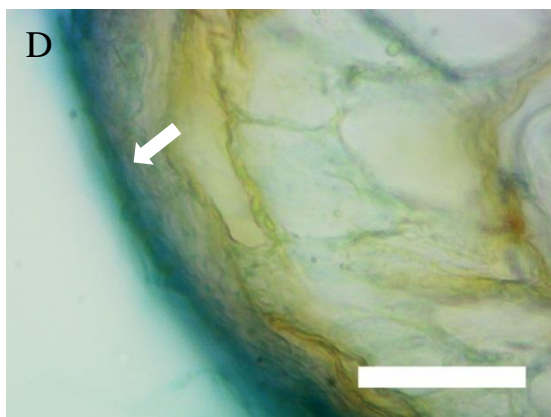
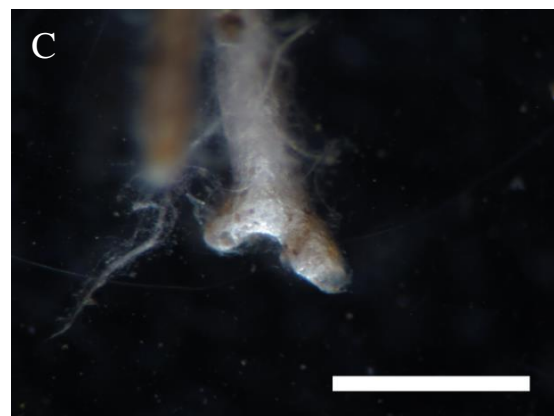
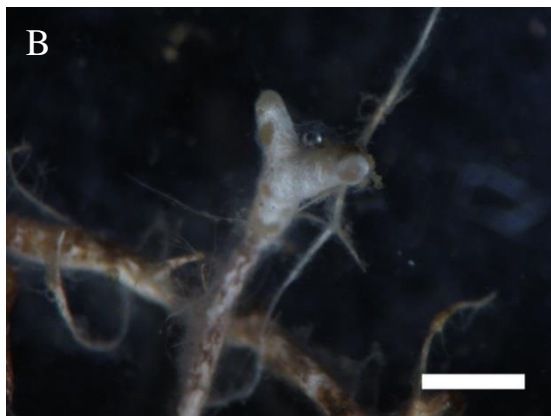


図-29. *Rhizopogon* 属の接種試験および菌根染色の結果

A. *Rhizopogon* sp. の接種効果 (左; control, 右; 接種区), B. 菌根 (T261), C. 菌根 (T262)  
 D-E. トリパンプルーにより染色した菌根横断面 白矢印は菌鞘、黒矢印はハルティヒネット  
 を示す スケールバーは B-C = 1mm, D = 100 $\mu$ m を表す

## まとめ

### ・菌類多様性から見た里山林の再評価

本研究では、複数の手法を用いて里山二次林に優占する樹木と共生する菌類のリソースをある程度明らかにすることができた。この結果をもとに、里山林における菌類多様性について考える。3 研究課題の結果から、本調査地における樹木共生性菌類の多様性は高いことが明らかになった。理由としては以下のようなことが考えられる。

- 1 様々な林分タイプが存在し、異なる宿主樹種が混生している
- 2 比較的小さな面積の林分がモザイク状に存在している
- 3 人為による攪乱や整備が種多様性を増加させる方向に働いている

調査地全体の菌根菌リソースは 27 科 41 属 187 種 (MOTU) にわたり、人為の入った狭い面積の里山林においても、菌根菌種の多様性は比較的高く保たれていることが分かった。この里山林の外生菌根共生の主体となりうる菌根菌はベニタケ科、イボタケ科、テングタケ科などであること、一方で、各採取区に特徴的な菌根菌種が存在し、林分タイプによって菌類の群集構造に違いがあることも分かった。里山二次林の特徴である、複雑な林分タイプが小面積でモザイク状に (結果的に) 配置されていることが共生菌類の種多様性を押し上げる要因になっている可能性がある。また、採取区ごとの特徴については人為によってもたらされたものが多い。生態学における中規模攪乱仮説 (ある程度 (中規模) の攪乱があるときに種多様性が最大化する) は里山のような場所にも成り立つ可能性がある (富田 2015) ことから、人の手による管理や攪乱が菌類多様性の維持に有効に寄与してきたことが示唆された。

調査対象を子実体に限ると本研究の全採取区 (1,700m<sup>2</sup>) で得られた子実体は 88 種 (MOTU) であり、この中にこれまで発見されてこなかった未知種・希少種が潜在することが確認された。このことから、菌類多様性を調査する際に、評価指標として子実体を採取することには一定の効果があり、特に動態のモニタリングのために子実体を指標とすることの有効性が示された。

里山を構成する高木樹種、及びそれに連関する生物種を支える存在として、この菌類多様性は極めて重要な存在である。また、小規模な里山二次林の特徴こそが菌類多様性の維持に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

再評価にあたっては、菌類多様性をどのように把握するのか、特に手法の違いや対象樹種の違いを考慮に入れた上で調査を行うことの重要性が改めて示された。特に樹種の違いでは、共通菌種が存在する (図-30) ことを考慮にいれ、複数の手法 (図-31, 子実体+菌根+コア土壌など) を組み合わせることが全体の把握においては重要になる。さらに今後の展開としては、調査手法を洗練化する手法として、サイト占有モデルなどによる推測を用いることにより、観測誤差を考慮した調査地における菌類群集の占

有状態をより詳細に調べる必要がある。

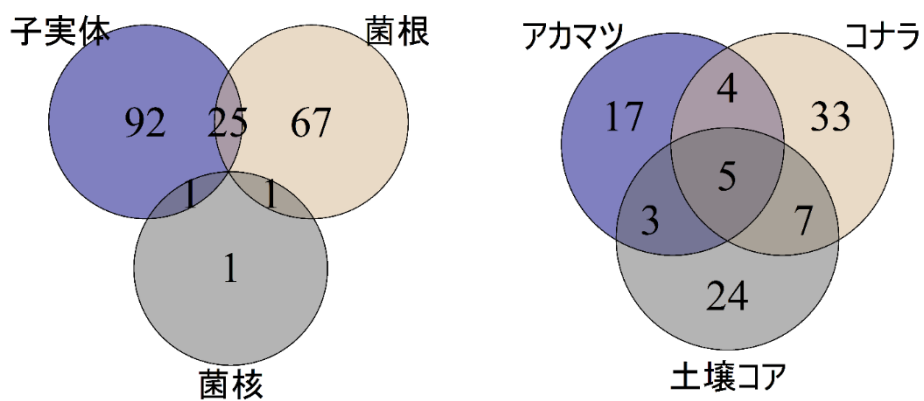


図-30. 本研究で得られた MOTU の共通菌種数

左. 採取形態別の共通菌種 (子実体・菌根・菌核)

右. 宿主樹種別の共通菌種 (アカマツ・コナラ・土壌コア (樹種不明))

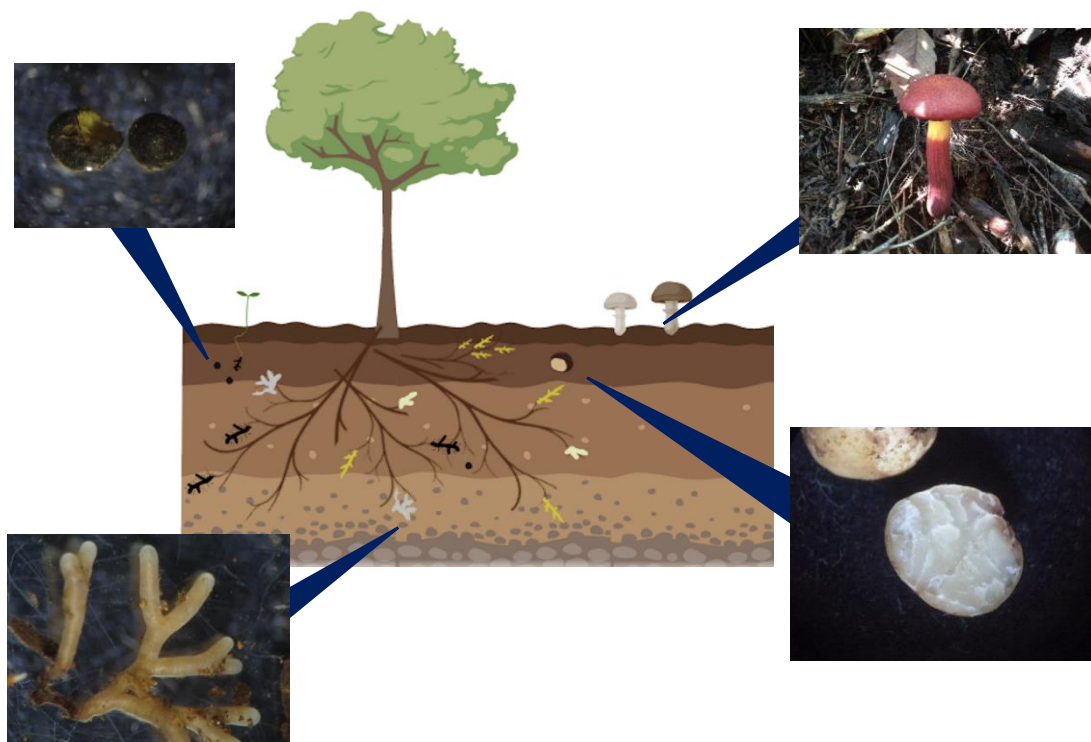


図-31. 樹木共生菌類の調査する際のサンプル採取例

地上生子実体、地下生子実体、菌根、菌核など、採取形態を複数考慮するとよい



### ・里山林における共生菌の保全について

里山の管理には大きく分けて森林を回復し、大きく育てるための造林・育林管理と森林を良好に保持し、利用するための保続管理とがある（重松 1999）。このうち、一般的な里山で行われてきた「管理」とは、主に後者にあたる、柴刈りや定期的な伐採などのゆるやかな管理である。これは同じように人為の入った森林でも用材生産のためにスギやヒノキで造成された、いわゆる針葉樹人工林における管理とは根本的に異なる点である（富田 2015）。

樹木共生菌の保全には小規模二次林としての里山を生かす、このゆるやかな管理を継続的に行うことが求められる。さらに全体に一面的な管理を行うのではなく、小面積単位、林分タイプ単位で定期的に異なる人為を入れることが重要である。同時に、共生菌類の宿主となりうる樹木の保護も菌類の種多様性を保つために必要である。具体的には宿主樹木の種類を減らさないこと、さらに下層に侵入する常緑広葉樹を適切に管理することが重要になってくる。宿主樹種のうち、特にアカマツについては、マツ枯れやマツ葉の持ち出しなどの利用がされなくなってきたことから、遷移が進行し本数が減りつつあるが、共生菌類にとって大切な宿主樹種であるため、現存する立木本数を減らさないことが重要である。さらに林床植生についても適宜刈り込み、ヒサカキやアオキといった照葉樹やネザサ類が過剰に侵入しないように注意することが必要であると考えられる。

散布様式が極めて限られている地下生菌の未知種、希少種を保持していくためには、より小面積単位、もしくは共生する宿主樹木について単木単位、ジェネット単位の細やかな管理方法が必要である。これらの子実体の出現場所は採取区の複数にまたがることから、特に本調査地においてはまず林分全体を保全の対象とすることを前提とし、さらに宿主樹木と特定された単木（多くはアカマツ）については伐採を行わず、適切に維持管理する、すなわち林分全体をモザイク状に管理することにより、これらの希少種を速やかに保全することが何よりも重要である。

里山林は樹木共生性菌類にとって非常に重要な種多様性の受け皿となりうる存在であることが示された。人間の生活空間のすぐ身近に存在する里山林に、これまでその存在を知られていなかった未知種、希少種がある、ということは地域の自然環境を今後どのようにしていくか、これからの保全管理を考えていく上での重要な知見となりうるだろう。

## 謝辞

本研究の遂行にあたっては沢山の方々のご協力をいただきました。ありがとうございました。

東京農業大学大学院農学研究科・東京農業大学地域環境科学部/国際食料情報学部：瀬山智子さん、渋谷英司さん、萬佳奈子さん、本橋慶一さん、後藤友美さん、服部友香子さん、石川溪太さん、大森康寛さん、小林悠人さん、本間耕太郎さん、渡邊啓太さん、渡辺裕太さん、後藤花織さん、芳井明子さん、青木萌さん、千葉紗登子さん、正木達也さん、山岡野枝さん、山田栞那さん（現地調査・実験協力）

東京大学大学院新領域創成科学研究科：村田政穂さん、小泉敬彦さん（シークエンサー機器利用）

青梅市役所環境部公園緑地課：小塩勝彦さん（調査許可）  
（順不同・敬称略）

## 引用文献

Bahram, M., Polme, S., Koljalg, U., and Tedersoo, L. (2011) A single European aspen (*Populus tremula*) tree individual may potentially harbor dozens of *Cenococcum geophilum* ITS genotypes and hundreds of species of ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol. Ecol.* 75: 313-320.

Baptista, P., Reis, F., Pereira, E., Tavares, R. M., Santos, P. M., Richard, F., Selosse, M.-A., and Lino-Neto, T. (2015) Soil DNA pyrosequencing and fruitbody surveys reveal contrasting diversity for various fungal ecological guilds in chestnut orchards. *Environ. Microbiol. Rep.* 7(6): 946-954.

Bruns, T. D., Bidartondo, M. I., and Taylor, D. L. (2002) Host Specificity in Ectomycorrhizal Communities: What Do the Exceptions Tell Us? *Integ. and Comp. Biol.* 42(2): 352–359.

Castresana, J. (2000) Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol Biol Evol.* 17: 540-552.

Frøslev, T. G., Kjølner, R., Bruun, H. H., Ejrnæs, R., Hansen A. J., Læssøe, T., and Heilmann-Clausen, J. (2019) Man against machine: Do fungal fruitbodies and eDNA give similar biodiversity assessments across broad environmental gradients? *Biological Conservation.* 233: 201-212.

- Imai, S. (1934) On a New Species of *Cordyceps* parasitic on *Elaphomyces* in Japan. Proceedings of the Imperial Academy. 10(10): 677-679.
- Ishida, T. A., Nara, K., and Hogetsu, T. (2007) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. New Phytol. 174(2): 430-440.
- Kinoshita, A., Sasaki, H., and Nara, K. (2011) Phylogeny and diversity of Japanese truffles (*Tuber* spp.) inferred from sequences of four nuclear loci. Mycologia. 103(4): 779-794.
- Miyamoto, Y., Sakai, A., Hattori, M., and Nara, K. (2015) Strong effect of climate on ectomycorrhizal fungal composition: evidence from range overlap between two mountains. ISME J. 9: 1870-1879.
- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M. and the UGENE team. (2012) Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. Bioinformatics. 28(8): 1166-1167.
- Paz, A., Bellanger, J. M., Lavoise, C., Molia, A., Ławrynowicz, M., Larsson, E., Ibarguren, I. O., Jeppson, M., Læssøe, T., Sauve, M., Richard, F., and Moreau, P. A. (2017) The genus *Elaphomyces* (Ascomycota, Eurotiales): a ribosomal DNA-based phylogeny and revised systematics of European 'deer truffles'. Persoonia. 38: 197-239.
- Rasmussen, A. L., Busby, R. R., and Hoeksema, J. D. (2018) Host preference of ectomycorrhizal fungi in mixed pine-oak woodlands. Can. J. For. Res. 48: 153-159.
- Saari, S. K., Campbell, C. D., Russell, J., Alexander, I.J., and Anderson, I. C. (2005) Pine microsatellite markers allow roots and ectomycorrhizas to be linked to individual trees. New Phytol. 165: 295-304.
- Smith, S. E. & Read, D. J. (2008) Mycorrhizal Symbiosis 3<sup>rd</sup> Ed. Academic Press
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol Biol Evol. 30(12): 2725-2729.

Tedersoo, L., 他 56 名 (2014) Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346: 6213.

Trocha, L. K., Kalucka, I., Stasińska, M., Nowak, W., Dabert, M., Leski, T., Rudawska, M., and Oleksyn, J. (2012) Ectomycorrhizal fungal communities of native and non-native *Pinus* and *Quercus* species in a common garden of 35-year-old trees. *Mycorrhiza*. 22: 121-134.

Wang, X., Liu, J., Long, D., Han, Q., and Huang, J. (2017) The ectomycorrhizal fungal communities associated with *Quercus liaotungensis* in different habitats across northern China. *Mycorrhiza*. 27(5): 441-449.

Wu, B., Nara, K., and Hogetsu, T. (2001) Can <sup>14</sup>C-labeled photosynthetic products move between *Pinus densiflora* seedlings linked by ectomycorrhizal mycelia? *New Phytol.* 149(1): 137-146.

Yamada, A. & Katsuya, K. (2001) The disparity between the number of ectomycorrhizal fungi and those producing fruit bodies in a *Pinus densiflora* stand. *Mycol. Res.* 105: 957-965.

井手下晃・鶴川信・鈴木和夫 (2008) 都市公園における外生菌根菌とその分布. *樹木医学研究* 12: 181-186.

今関六也・大谷吉雄・本郷次雄 編 (2011) 山溪カラー名鑑 日本のきのこ. 山と溪谷社

植田明浩・小野寺浩 (2004) 里地里山と生物多様性. *農村研究* 98: 25-33.

青梅市 編 (2010) 青梅の森事業計画.

折原貴道 (2018) 日本地下生菌研究会の設立、および日本地下生菌研究会会報 “Truffology” 発刊を記念して-日本の地下生菌研究のこれまでとこれから-. *Truffology* 1(1): 2-4.

佐々木廣海・木下晃彦・奈良一秀 (2016) 地下生菌識別図鑑. 誠文堂新光社

重松敏則 (1999) 新しい里山再生法 市民参加型の提案. 全国林業改良普及協会

富田啓介 (2015) 里山の「人の気配」を追って. 花伝社

中島淳志・吹春俊光 (2017) しっかり見わけ観察を楽しむきのこ図鑑. ナツメ社

吹春俊光・腰野文男・服部力 (2017) 東京大学千葉演習林の大型菌類相. 千葉中央博自然誌研究報告特別号 10: 393-410, liii-lvi.

松田陽介 (1999) モミ根系における外生菌根菌の群集生態学的研究. 名古屋大学森林科学研究 18: 83-141.

山崎寛・青木京子・服部保・武田義明 (2000) 里山の植生管理による種多様性の増加. ランドスケープ研究 63(5): 481-484.

林野庁 編 平成 27 年度森林・林業白書.

付表

総出現種リスト (外生菌根菌) 1/5 +:出現あり

| MOTU                            | 和名         | 子実体 | 菌根   |     |      | 菌核 |
|---------------------------------|------------|-----|------|-----|------|----|
|                                 |            |     | アカマツ | コナラ | 土壌コア |    |
| Agaricales sp. 1                |            |     |      | +   |      |    |
| Agaricales sp. 2                |            | +   |      |     |      |    |
| Agaricales sp. 3                |            | +   |      |     |      |    |
| Agaricales sp. 4                |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita brunnescens</i>      | 和名なし       | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita caesareoides</i>     | タマゴタケ      | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita flavipes</i>         | コガネテングタケ   |     |      | +   |      |    |
| <i>Amanita fritillaria</i>      | 和名なし       | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita imazekii</i>         | ミヤマタマゴタケ   | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita longistriata</i>     | タマゴテングタケ   | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita manginiana</i>       | 和名なし       | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita orientifulva</i>     | 和名なし       | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita pantherina</i>       | テングタケ      | +   |      | +   |      |    |
| <i>Amanita rimosa</i>           | 和名なし       | +   |      | +   |      |    |
| <i>Amanita volvata</i>          | フクロツルタケ    | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita</i> sp. 1            |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita</i> sp. 2            |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita</i> sp. 3            |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Amanita</i> sp. 4            |            | +   |      |     |      |    |
| Amanitaceae sp. 1               |            | +   |      |     |      |    |
| Amanitaceae sp. 2               |            | +   |      |     |      |    |
| Amanitaceae sp. 3               |            | +   |      |     |      |    |
| Amanitaceae sp. 4               |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Astraeus hygrometricus</i>   | ツチグリ       | +   |      |     |      |    |
| Atheliaceae sp.                 |            |     |      | +   |      |    |
| <i>Aureoboletus</i> sp.         |            | +   |      | +   |      |    |
| <i>Baorangia</i> sp.            |            | +   |      |     |      |    |
| Boletaceae sp. 1                |            | +   |      |     |      | +  |
| Boletaceae sp. 2                |            | +   |      |     |      |    |
| Boletaceae sp. 3                |            | +   |      |     |      |    |
| Boletaceae sp. 4                |            | +   |      |     |      |    |
| Boletaceae sp. 5                |            | +   |      |     |      |    |
| Boletaceae sp. 6                |            | +   |      |     |      |    |
| Boletaceae sp. 7                |            | +   |      |     |      |    |
| Boletales sp. 1                 |            | +   |      |     |      |    |
| Boletales sp. 2                 |            | +   |      |     |      |    |
| Boletales sp. 3                 |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Boletellus aurocontextus</i> | コガネキクバナイグチ | +   |      |     |      |    |
| <i>Boletellus emodensis</i>     | キクバナイグチ    | +   |      |     |      |    |
| <i>Boletus</i> sp.              |            | +   | +    | +   | +    |    |
| <i>Cenococcum geophilum</i> 1   | 和名なし       |     | +    | +   | +    | +  |
| <i>Cenococcum geophilum</i> 2   | 和名なし       |     |      | +   | +    |    |
| <i>Cenococcum geophilum</i> 3   | 和名なし       |     |      | +   |      |    |
| <i>Cenococcum geophilum</i> 4   | 和名なし       |     |      |     |      | +  |
| <i>Ceratobasidium</i> sp.       |            |     |      |     | +    |    |

総出現種リスト（外生菌根菌）2/5 +:出現あり

| MOTU   | 和名         | 子実体 | 菌根   |     |      | 菌核 |
|--|------------|-----|------|-----|------|----|
|  |            |     | アカマツ | コナラ | 土壌コア |    |
| <i>Clavulina</i> sp. 1                           |            |     |      | +   | +    |    |
| <i>Clavulina</i> sp. 2                           |            |     |      | +   |      |    |
| <i>Clavulina</i> sp. 3                           |            |     |      | +   |      |    |
| <i>Clavulina</i> sp. 4                           |            |     |      |     | +    |    |
| <i>Clitopilus prunulus</i>                       | ヒカゲウラベニタケ  | +   |      |     |      |    |
| <i>Clitopilus</i> sp.                            |            |     | +    |     |      |    |
| Cortinariaceae sp. 1                             |            | +   |      |     |      |    |
| Cortinariaceae sp. 2                             |            |     | +    |     |      |    |
| <i>Cortinarius purpurascens</i>                  | カワムラフウセンタケ | +   |      |     |      |    |
| <i>Cortinarius tenuipes</i>                      | クリフウセンタケ   | +   |      |     |      |    |
| <i>Cortinarius</i> sp. 1                         |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Cortinarius</i> sp. 2                         |            | +   |      | +   |      |    |
| <i>Cortinarius</i> sp. 3                         |            |     |      | +   |      |    |
| <i>Cortinarius</i> sp. 4                         |            |     |      | +   |      |    |
| <i>Cortinarius</i> sp. 5                         |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Craterellus fallax</i>                        | 和名なし       |     |      |     | +    |    |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 1                         |            | +   | +    |     |      |    |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 2                         |            | +   |      | +   |      |    |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 3                         |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Elaphomyces</i> sp. 4                         |            |     |      |     | +    |    |
| <i>Entoloma rhodocylix</i>                       | 和名なし       |     |      | +   |      |    |
| <i>Entoloma rhodopolium</i> 1                    | クサウラベニタケ   | +   |      |     |      |    |
| <i>Entoloma rhodopolium</i> 2                    | クサウラベニタケ   |     | +    | +   | +    |    |
| <i>Entoloma</i> sp. 1                            |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Entoloma</i> sp. 2                            |            |     |      | +   |      |    |
| Entolomataceae sp. 1                             |            | +   |      |     |      |    |
| Entolomataceae sp. 2                             |            | +   |      |     | +    |    |
| Gomphaceae sp.                                   |            | +   |      |     |      |    |
| Gyroporaceae sp.                                 |            |     |      | +   |      |    |
| Gyroporus sp.                                    |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Harrya chromapes</i>                          | アケボノアワタケ   | +   | +    |     |      |    |
| <i>Hebeloma vinosophyllum</i>                    | アカヒダワカフサタケ | +   |      |     |      |    |
| Hydnaceae sp.                                    |            |     | +    |     |      |    |
| <i>Hydnum albomagnum</i>                         | 和名なし       | +   |      |     |      |    |
| <i>Hydnum repandum</i>                           | シロカノシタ     | +   |      |     |      |    |
| <i>Hydnum</i> sp.                                |            | +   |      |     |      |    |
| Hygrophorus sp.                                  |            | +   |      |     |      |    |
| Inocybaceae sp. 1                                |            | +   |      |     |      |    |
| Inocybaceae sp. 2                                |            | +   |      |     |      |    |
| <i>Inocybe</i> sp.                               |            |     |      |     | +    |    |
| <i>Laccaria japonica</i>                         | 和名なし       |     |      | +   |      |    |
| <i>Laccaria vinaceoavellanea</i>                 | カレバキツネタケ   | +   |      |     |      |    |
| <i>Lactarius deliciosus</i> f. <i>laeticolor</i> | アカハツタケ     | +   |      | +   |      |    |
| <i>Lactarius hatsudake</i>                       | ハツタケ       |     | +    |     |      |    |
| <i>Lactarius hygrophoroides</i>                  | ヒロハチチタケ    | +   |      |     |      |    |

総出現種リスト（外生菌根菌）3/5 +:出現あり

| MOTU                                   | 和名              | 子実体 | 菌根   |     |      | 菌核 |
|--|-----------------|-----|------|-----|------|----|
|  |                 |     | アカマツ | コナラ | 土壌コア |    |
| <i>Lactarius qinlingensis</i>          | 和名なし            | +   |      |     |      |    |
| <i>Lactarius uvidus</i>                | トビチャチチタケ        | +   |      |     |      |    |
| <i>Lactarius yazoensis</i>             | 和名なし            | +   |      |     | +    |    |
| <i>Lactarius</i> sp. 1                 |                 | +   | +    | +   | +    |    |
| <i>Lactarius</i> sp. 2                 |                 | +   |      | +   | +    |    |
| <i>Lactarius</i> sp. 3                 |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Lactifluus glaucescens</i>          | アオゾメツチカブリ       | +   |      |     |      |    |
| <i>Lactifluus</i> sp.                  |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Leccinum extremorientale</i>        | アカヤマドリ          |     |      |     | +    |    |
| <i>Mucilopilus castaneiceps</i>        | ヌメリニガイグチ        | +   |      |     |      |    |
| <i>Pseudotomentella vepallidospora</i> | 和名なし            |     | +    |     |      |    |
| <i>Pulveroboletus auriflammeus</i>     | ハナガサイグチ         | +   |      |     |      |    |
| <i>Pulveroboletus subrufus</i>         | 和名なし            | +   |      |     |      |    |
| <i>Retiboletus nigerrimus</i>          | モエギアミアシイグチ      | +   |      |     |      |    |
| <i>Retiboletus</i> sp.                 |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Rhizopogon</i> sp.                  |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Rhizopogon luteolus</i>             | ホンショウロ          |     | +    |     |      |    |
| <i>Russula ballouii</i>                | ウコンクサハツ (キナコハツ) | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula cascadiensis</i>            | 和名なし            |     | +    |     |      |    |
| <i>Russula catillus</i>                | 和名なし            | +   |      | +   | +    |    |
| <i>Russula cerolens</i>                | 和名なし            | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula densifolia</i>              | クロハツモドキ         | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula grisea</i>                  | 和名なし            | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula heterophylla</i>            | ウグイスハツ          | +   | +    |     |      |    |
| <i>Russula insignis</i>                | 和名なし            | +   |      | +   |      |    |
| <i>Russula lepida</i>                  | ヤブレベニタケ         | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula mariae</i>                  | 和名なし            | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 1                   |                 | +   |      | +   | +    |    |
| <i>Russula</i> sp. 2                   |                 | +   |      | +   |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 3                   |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 4                   |                 | +   |      | +   |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 5                   |                 |     | +    | +   |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 6                   |                 | +   | +    |     |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 7                   |                 |     |      | +   | +    |    |
| <i>Russula</i> sp. 8                   |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 9                   |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 10                  |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 11                  |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 12                  |                 | +   |      |     |      |    |
| <i>Russula</i> sp. 13                  |                 |     |      |     | +    |    |
| <i>Russula</i> sp. 14                  |                 | +   |      |     |      |    |
| Russulaceae sp. 1                      |                 | +   |      |     |      |    |
| Russulaceae sp. 2                      |                 | +   | +    | +   |      |    |
| Russulaceae sp. 3                      |                 | +   |      |     |      |    |
| Russulaceae sp. 4                      |                 | +   |      |     |      |    |



総出現種リスト（外生菌根菌）4/5 +:出現あり

| MOTU                               | 和名       | 子実体 | 菌根   |     |      | 菌核 |
|------------------------------------|----------|-----|------|-----|------|----|
|                                    |          |     | アカマツ | コナラ | 土壌コア |    |
| Russulaceae sp. 5                  |          | +   |      |     |      |    |
| Russulaceae sp. 6                  |          | +   |      |     |      |    |
| Sarcodon sp.                       |          | +   |      |     |      |    |
| <i>Scleroderma areolatum</i>       | ヒメカタショウロ | +   |      |     |      |    |
| <i>Sebacina epigaea</i>            | 和名なし     |     | +    |     |      |    |
| <i>Sebacina</i> sp. 1              |          |     | +    | +   |      |    |
| <i>Sebacina</i> sp. 2              |          |     | +    |     |      |    |
| <i>Sebacina</i> sp. 3              |          |     |      | +   |      |    |
| <i>Sebacina</i> sp. 4              |          |     |      | +   |      |    |
| <i>Sebacina</i> sp. 5              |          |     |      | +   |      |    |
| <i>Sebacina</i> sp. 6              |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Sebacina</i> sp. 7              |          |     |      |     | +    |    |
| Sebacinaceae sp.                   |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Strobilomyces</i> sp.           |          | +   |      |     |      |    |
| <i>Suillus bovinus</i>             | アマタケ     |     | +    |     | +    |    |
| <i>Thelephora</i> sp. 1            |          | +   |      |     |      |    |
| <i>Thelephora</i> sp. 2            |          |     |      |     | +    |    |
| Thelephoraceae sp. 1               |          |     |      | +   |      |    |
| Thelephoraceae sp. 2               |          |     |      |     | +    |    |
| Thelephoraceae sp. 3               |          |     | +    |     |      |    |
| Thelephoraceae sp. 4               |          |     |      | +   |      |    |
| Thelephoraceae sp. 5               |          |     |      | +   |      |    |
| Thelephoraceae sp. 6               |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Tomentella cinerascens</i>      | 和名なし     |     | +    | +   |      |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 1            |          |     | +    |     |      |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 2            |          |     | +    | +   | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 3            |          |     | +    |     | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 4            |          |     |      | +   |      |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 5            |          |     |      | +   |      |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 6            |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 7            |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 8            |          |     | +    |     | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 9            |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 10           |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 11           |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 12           |          |     |      |     | +    |    |
| <i>Tomentella</i> sp. 13           |          |     |      | +   |      |    |
| <i>Tomentellopsis zygoesmoides</i> | 和名なし     |     | +    |     |      |    |
| <i>Tomentellopsis</i> sp.          |          |     |      |     | +    |    |
| Trechisporales sp.                 |          |     | +    |     |      |    |
| <i>Tricholoma forteflavescens</i>  | 和名なし     | +   |      |     |      |    |
| <i>Tricholoma ustaloides</i>       | ニガシメジ    | +   |      |     |      |    |
| <i>Tuber</i> sp. 1                 |          | +   |      | +   | +    |    |
| <i>Tuber</i> sp. 2                 |          |     |      |     | +    |    |
| Tuberaceae sp.                     |          |     |      | +   |      |    |

総出現種リスト（外生菌根菌）5/5 +:出現あり

| MOTU                            | 和名        | 子実体 | 菌根   |     |      | 菌核 |
|---------------------------------|-----------|-----|------|-----|------|----|
|                                 |           |     | アカマツ | コナラ | 土壌コア |    |
| <i>Tylopilus balloui</i>        | ヨゴレキニガイグチ | +   |      |     |      |    |
| <i>Tylopilus</i> sp. 1          |           | +   |      | +   |      |    |
| <i>Tylopilus</i> sp. 2          |           | +   |      |     |      |    |
| <i>Tylopilus</i> sp. 3          |           | +   |      |     |      |    |
| <i>Tylopilus vinosobrunneus</i> | ブドウニガイグチ  | +   |      |     | +    |    |
| <i>Xerocomus</i> sp. 1          |           | +   |      |     |      |    |
| <i>Xerocomus</i> sp. 2          |           | +   |      | +   |      |    |

※形態分類のみによる種推定

|                                  |            |   |
|----------------------------------|------------|---|
| <i>Amanita grandicarpa</i>       | オオオニテングタケ  | + |
| <i>Amanita virgineoides</i>      | シロオニタケ     | + |
| <i>Cantharellus cinnabarinus</i> | ベニウスタケ     | + |
| <i>Cortinarius violaceus</i>     | ムラサキフウセンタケ | + |
| <i>Entoloma virescens</i>        | ソライロタケ     | + |

総出現種リスト（腐生菌・根部内生菌） +:出現あり

| MOTU                            | 和名           | 子実体 | 菌根   |     |      | 菌核 |
|---------------------------------|--------------|-----|------|-----|------|----|
|                                 |              |     | アカマツ | コナラ | 土壌コア |    |
| Agaricaceae sp.                 |              | +   |      |     |      |    |
| <i>Agaricus abruptibulbus</i>   | ウスキモリノカサ     | +   |      |     |      |    |
| <i>Agaricus melanocapus</i>     | 和名なし         | +   |      |     |      |    |
| <i>Armillaria tabescens</i>     | ナラタケモドキ      | +   |      |     |      |    |
| <i>Calvatia craniiformis</i>    | ノウタケ         | +   |      |     |      |    |
| Geastraceae sp. 1               |              | +   |      |     |      |    |
| Geastraceae sp. 2               |              | +   |      |     |      |    |
| <i>Geastrum</i> sp. 1           |              | +   |      |     |      |    |
| <i>Geastrum</i> sp. 2           |              | +   |      |     |      |    |
| <i>Geastrum triplex</i>         | エリマキツチグリ     | +   |      |     |      |    |
| <i>Gerhardia borealis</i>       | 和名なし         | +   |      |     |      |    |
| <i>Glutinomyces vulgaris</i>    | 和名なし         |     |      | +   |      |    |
| <i>Gymnopus variicolor</i>      | 和名なし         | +   |      |     |      |    |
| Helotiales sp. 1                |              |     | +    |     |      |    |
| Helotiales sp. 2                |              |     |      | +   |      |    |
| Helotiales sp. 3                |              |     |      | +   |      |    |
| Hyaloscyphaceae sp.             |              |     |      | +   |      |    |
| Hygrocybe sp.                   |              | +   |      |     |      |    |
| <i>Hypholoma fasciculare</i>    | ニガクリタケ       | +   |      |     |      |    |
| <i>Lepista saeva</i>            | 和名なし         | +   |      |     |      |    |
| <i>Lycoperdon ericaeum</i>      | ヒタチノスナジホコリタケ | +   |      |     |      |    |
| <i>Lycoperdon perlatum</i> 1    | ホコリタケ        | +   |      |     |      |    |
| <i>Lycoperdon perlatum</i> 2    | ホコリタケ        | +   |      |     |      |    |
| <i>Marasmius brunneospermus</i> | アミガサホウライタケ   | +   |      |     |      |    |
| <i>Mycena</i> sp.               |              | +   |      |     |      |    |
| <i>Oidiodendron</i> sp.         |              |     | +    |     |      |    |
| <i>Oudemansiella radicata</i>   | ツエタケ         | +   |      |     |      |    |
| Pezizales sp.                   |              | +   |      |     |      |    |
| <i>Tyromyces kmetii</i>         | 和名なし         | +   |      |     |      |    |



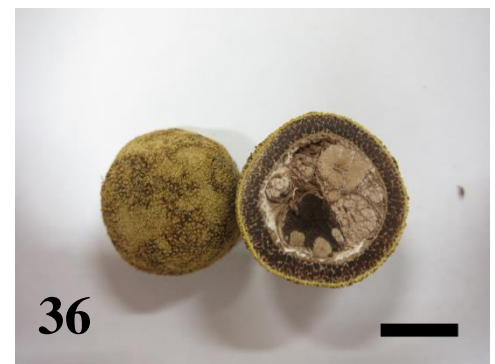
写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体

1. Agaricales sp.4, 2. *Amanita brunnescens*, 3. *Amanita caesareoides*, 4. *Amanita fritillaria*, 5. *Amanita imazekii*,  
6. *Amanita longistriata*, 7. *Amanita manginiana*, 8. *Amanita orientifulva*, 9. *Amanita pantherina*,  
10. *Amanita rimosa*, 11. *Amanita volvata*, 12. *Amanita* sp.1

スケールバーは 1cm を表す



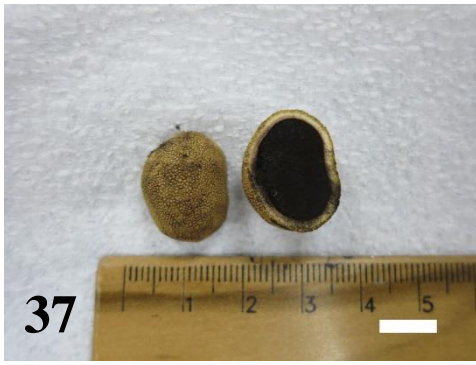
(続き) 写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体  
 13. *Amanita* sp.3, 14. *Amanita* sp.4, 15. *Amanitaceae* sp.1, 16. *Amanitaceae* sp.2, 17. *Amanitaceae* sp.4,  
 18. *Astraeus hygrometricus*, 19. *Aureoboletus* sp., 20. *Baorangia* sp., 21. *Boletaceae* sp.1,  
 22. *Boletaceae* sp.2, 23. *Boletaceae* sp.3, 24. *Boletaceae* sp.4  
 スケールバーは 1cm を表す



(続き) 写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体

25. Boletaceae sp.5, 26. Boletales sp.1, 27. Boletales sp.2, 28. Boletales sp.3, 29. *Boletellus aurocontextus*,  
30. *Boletellus emodensis*, 31. *Clitopilus prunulus*, 32. *Cortinarius purpurascens*, 33. *Cortinarius tenuipes*,  
34. *Cortinarius* sp.1, 35. *Cortinarius* sp.2, 36. *Elaphomyces* sp.1

スケールバーは1cmを表す



(続き) 写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体

37. *Elaphomyces* sp.2, 38. *Elaphomyces* sp.3, 39. *Entoloma rhodopolium* 1, 40. *Entoloma* sp.1,  
 41. *Entolomataceae* sp.1, 42. *Gomphaceae* sp., 43. *Gyroporus* sp., 44. *Harrya chromapes*,  
 45. *Hebeloma vinosophyllum*, 46. *Hydnum albomagnum*, 47. *Hydnum repandum*, 48. *Hydnum* sp.  
 スケールバーは 1cm を表す



(続き) 写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体

49. *Inocybaceae* sp.2, 50. *Laccaria vinaceoavellanea*, 51. *Lactarius hygrophoroides*, 52. *Lactarius qinlingensis*,  
53. *Lactarius uvidus*, 54. *Lactarius yazooensis*, 55. *Lactarius* sp.1, 56. *Lactarius* sp.2,  
57. *Lactarius* sp.3, 58. *Lactifluus* sp., 59. *Mucilopilus castaneiceps*, 60. *Pulveroboletus auriflammeus*  
スケールバーは 1cm を表す





(続き) 写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体  
 61. *Pulveroboletus subrufus*, 62. *Retiboletus nigerrimus*, 63. *Retiboletus* sp., 64. *Rhizopogon* sp.,  
 65. *Russula ballouii*, 66. *Russula cerolens*, 67. *Russula densifolia*, 68. *Russula heterophylla*,  
 69. *Russula insignis*, 70. *Russula lepida*, 71. *Russula mariae*, 72. *Russula* sp.1  
 スケールバーは1cmを表す



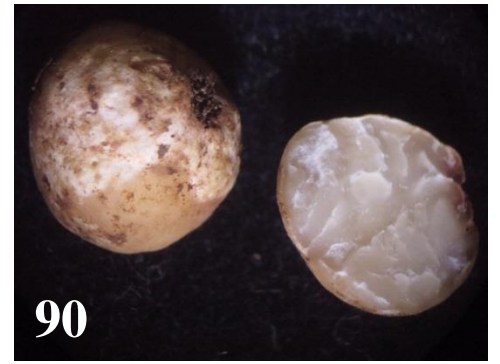
(続き) 写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体

73. *Russula* sp.2, 74. *Russula* sp.3, 75. *Russula* sp.4., 76. *Russula* sp.6,

77. *Russula* sp.11, 78. *Russula* sp.12, 79. *Russula* sp.14, 80. Russulaceae sp.1,

81. Russulaceae sp.2, 82. Russulaceae sp.3, 83. Russulaceae sp.4, 84. Russulaceae sp.6

スケールバーは1cmを表す



(続き) 写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体

85. *Sarcodon* sp., 86. *Scleroderma areolatum*, 87. *Strobilomyces* sp., 88. *Thelephora* sp.1,  
89. *Tricholoma ustaloides*, 90. *Tuber* sp.1, 91. *Tylopilus balloui*, 92. *Tylopilus* sp.1,  
93. *Tylopilus* sp.2, 94. *Tylopilus* sp. 3, 95. *Xerocomus* sp.1,  
スケールバーは1cmを表す



写真-1. 本調査で採取された菌根性子実体（形態分類のみによる種推定）  
A. *Amanita grandicarpa*, B. *Amanita virgineoides*, C. *Cantharellus cinnabarinus*,  
D. *Cortinarius violaceus*, E. *Entoloma virescens*  
スケールバーは 1cm を表す

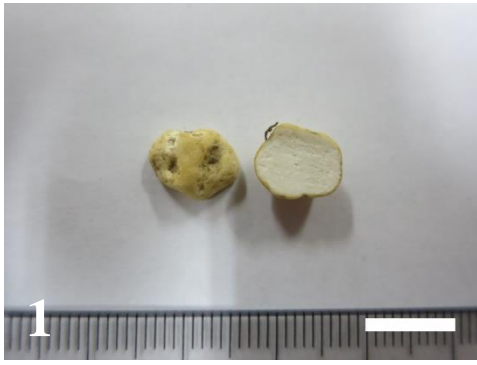
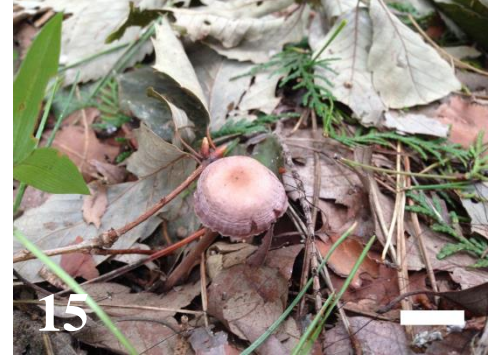


写真-1. 本調査で採取された非菌根性（腐生性）子実体  
 1. Agaricaceae sp., 2. *Agaricus abruptibulbus*, 3. *Agaricus melanocapus*,  
 4. *Armillaria tabescens*, 5. *Calvatia craniiformis*, 6. *Geastrum* sp.1,  
 7. *Geastrum* sp.2, 8. *Geastrum triplex*, 9. *Gymnopus variicolor*,  
 10. *Hypholoma fasciculare*, 11. *Lepista saeva*, 12. *Lycoperdon ericaeum*  
 スケールバーは 1cm を表す



(続き) 写真-1. 本調査で採取された非菌根性 (腐生性) 子実体  
13. *Lycoperdon perlatum* 1, 14. *Lycoperdon perlatum* 2, 15. *Mycena* sp.,  
16. *Pezizales* sp., 17. *Tyromyces kmetii*  
スケールバーは 1cm を表す

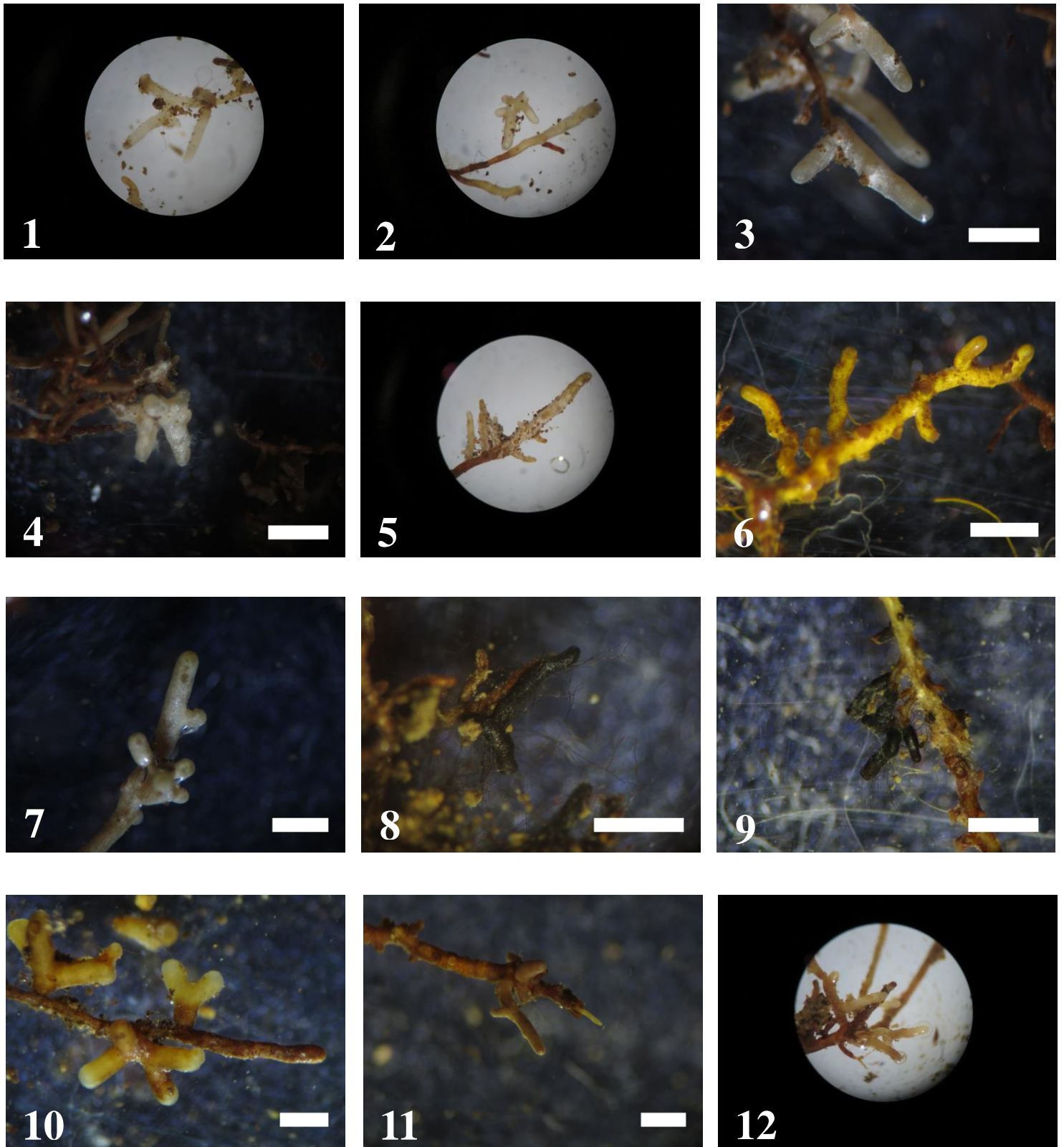
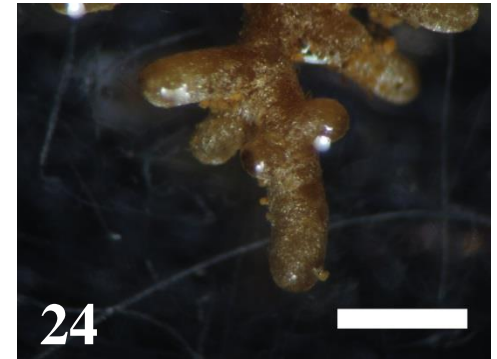
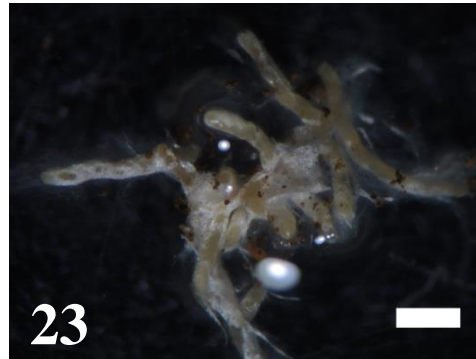
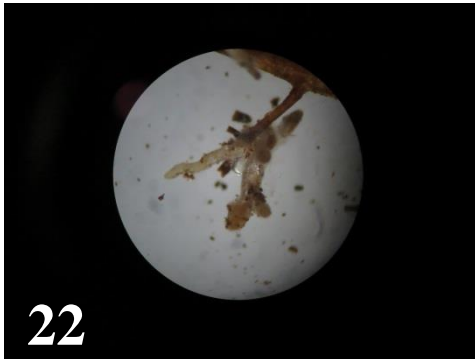
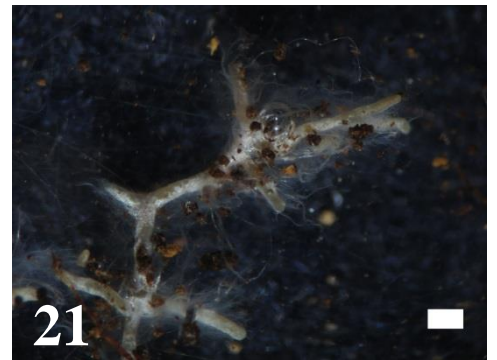
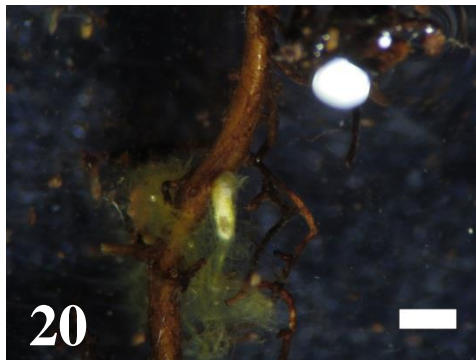
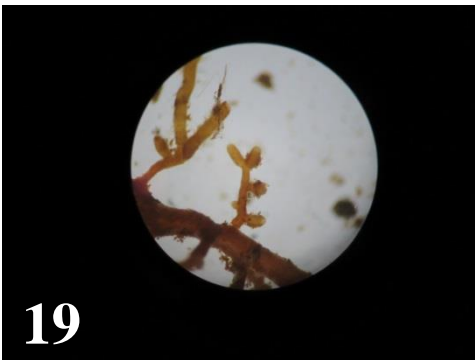
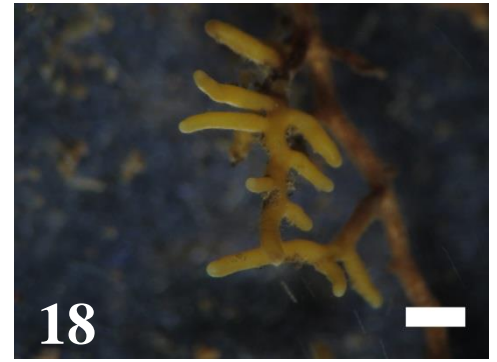
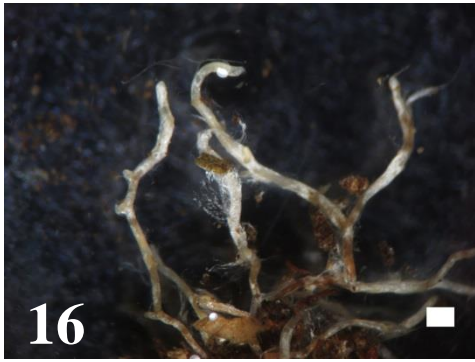
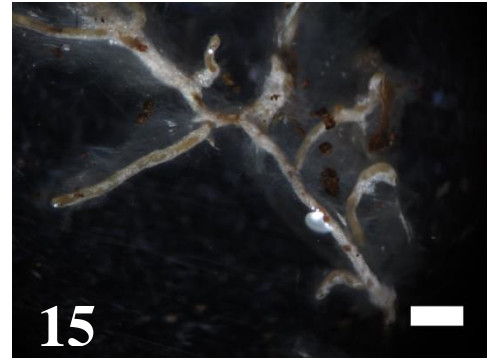
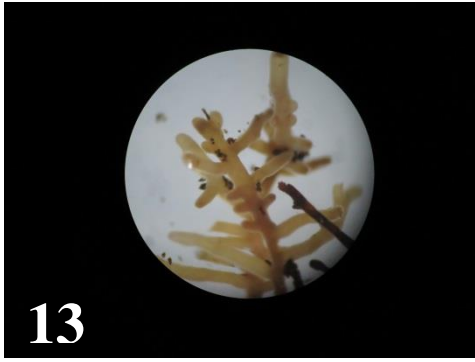


写真-2. 本調査で採取された外生菌根

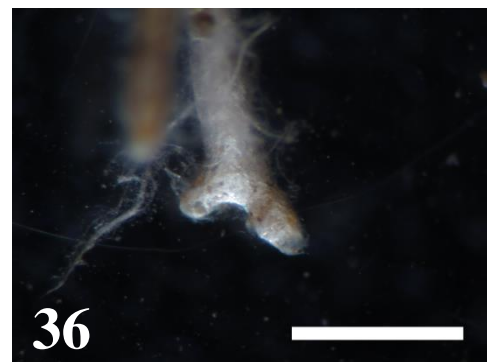
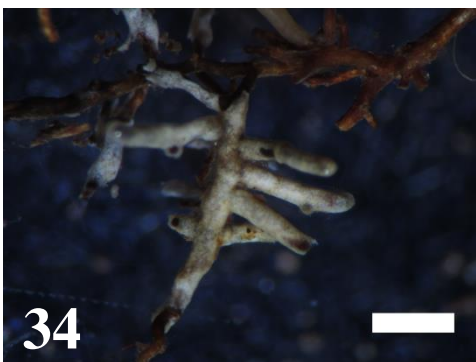
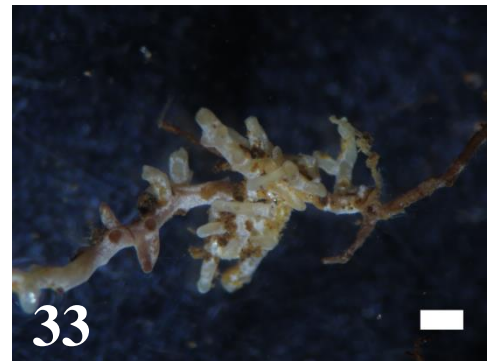
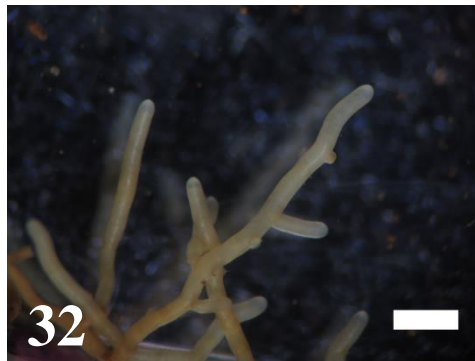
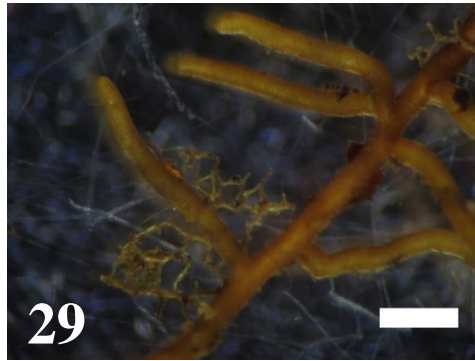
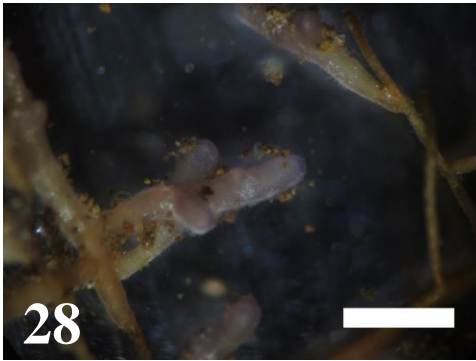
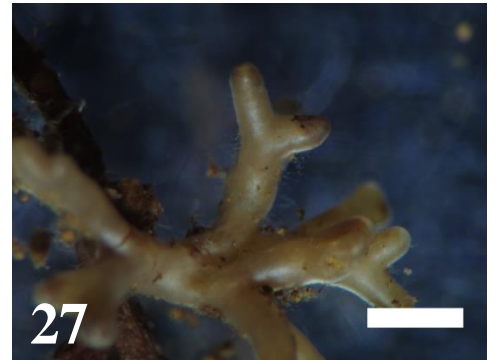
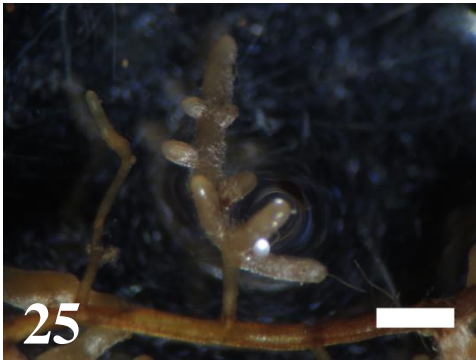
1. Agaricales sp.1, 2. *Amanita flavipes*, 3. *Amanita pantherina*, 4. *Amanita rimosa*,  
 5. Atheliaceae sp., 6. *Aureoboletus* sp., 7. *Boletus* sp., 8. *Cenococcum geophilum* 1,  
 9. *Cenococcum geophilum* 2, 10. *Ceratobasidium* sp., 11. *Clavulina* sp. 1, 12. *Clavulina* sp.2  
 スケールバーは1mmを表す



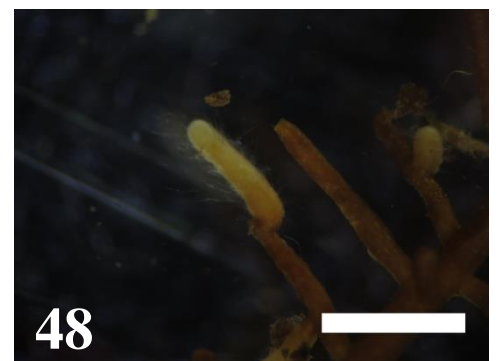
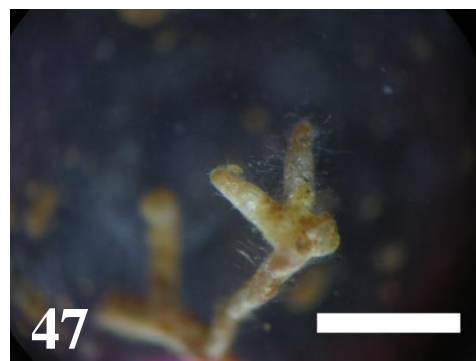
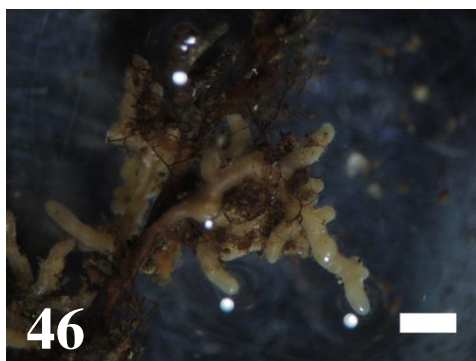
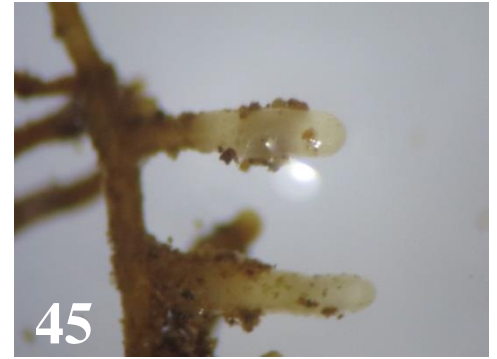
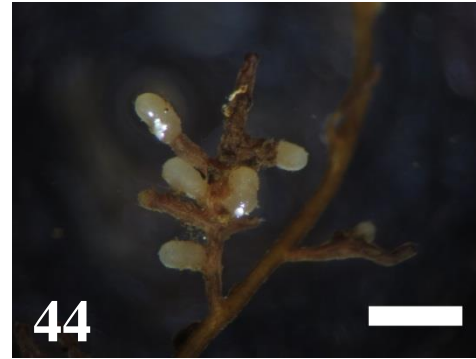
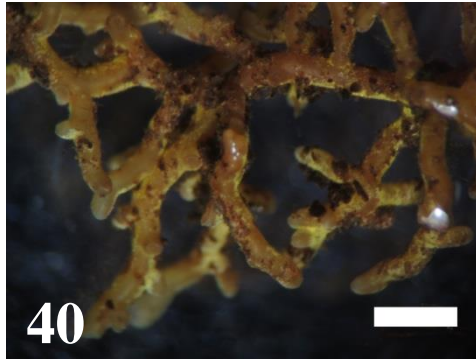
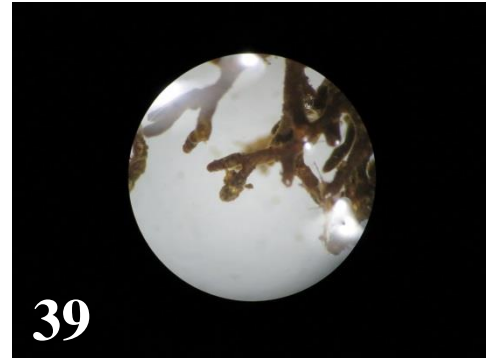
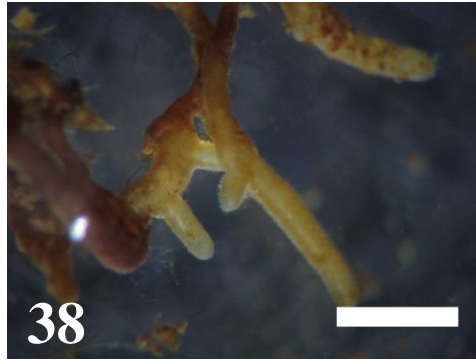
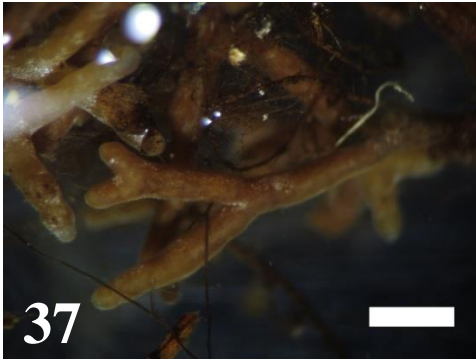
(続き) 写真-2. 本調査で採取された外生菌根

13. *Clavulina* sp.3, 14. *Clavulina* sp.4, 15. *Cortinariaceae* sp.2, 16. *Cortinarius* sp.2,  
 17. *Cortinarius* sp.3, 18. *Craterellus fallax*, 19. *Elaphomyces* sp. 1, 20. *Elaphomyces* sp.4,  
 21. *Entoloma rhodopolium* 2, 22. *Entoloma* sp.2, 23. *Entolomataceae* sp. 2, 24. *Gyroporaceae* sp.  
 スケールバーは 1mm を表す

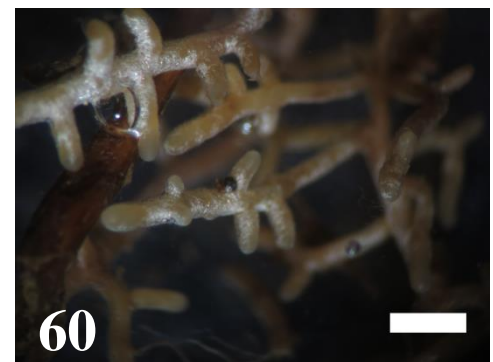
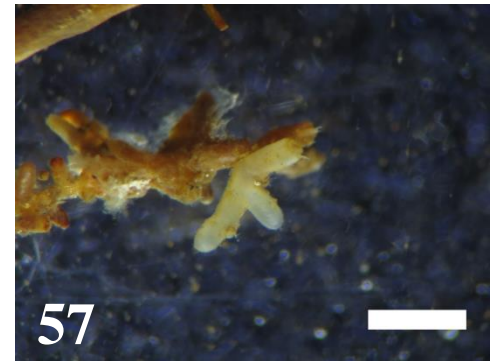
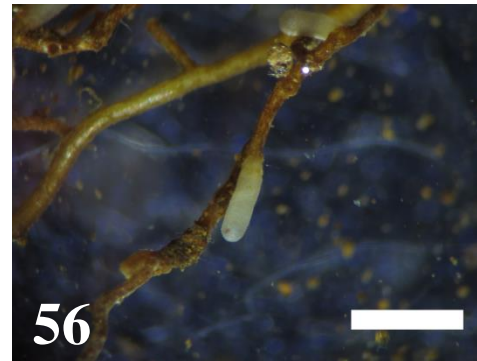
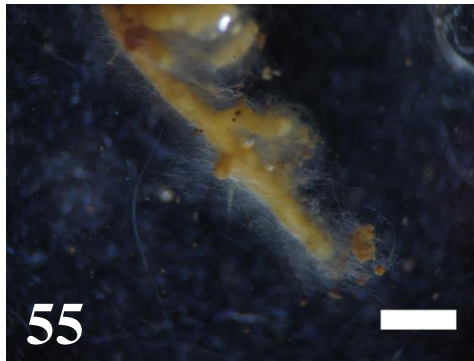
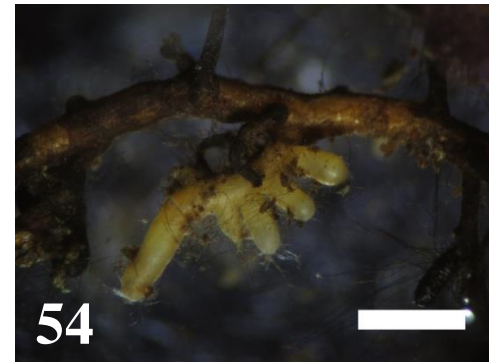
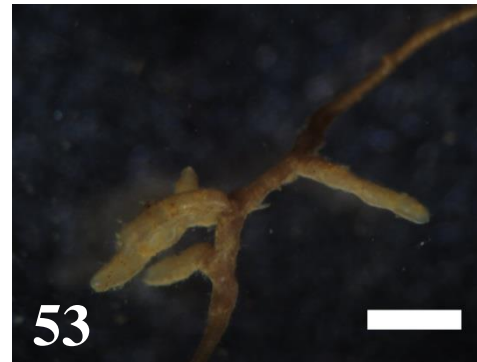
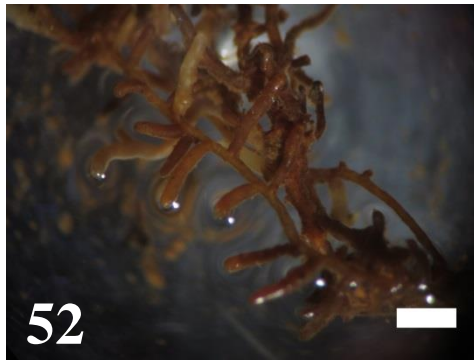
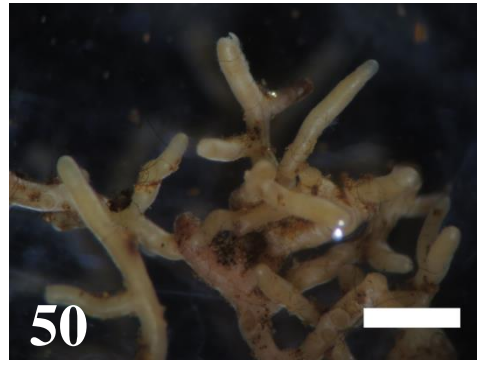
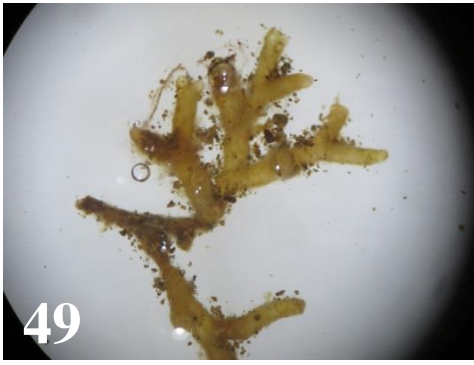




(続き) 写真-2. 本調査で採取された外生菌根  
 25. *Harrya chromapes*, 26. *Hydnaceae* sp., 27. *Inocybe* sp., 28. *Laccaria japonica*,  
 29. *Lactarius deliciosus* f. *laeticolor*, 30. *Lactarius hatsudake*, 31. *Lactarius yazooensis*,  
 32. *Lactarius* sp.1, 33. *Lactarius* sp.2, 34. *Leccinum extremiorientale*,  
 35. *Pseudotomentella vepallidospora*, 36. *Rhizopogon* sp.  
 スケールバーは 1mm を表す



(続き) 写真-2. 本調査で採取された外生菌根  
37. *Russula cascadenis*, 38. *Russula catillus*, 39. *Russula heterophylla*, 40. *Russula insignis*,  
41. *Russula* sp.1, 42. *Russula* sp.2, 43. *Russula* sp.4, 44. *Russula* sp.5,  
45. *Russula* sp.6, 46. *Russula* sp.7, 47. *Russula* sp.13, 48. *Russulaceae* sp.2  
スケールバーは 1mm を表す



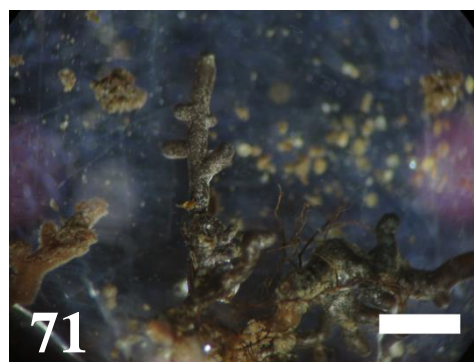
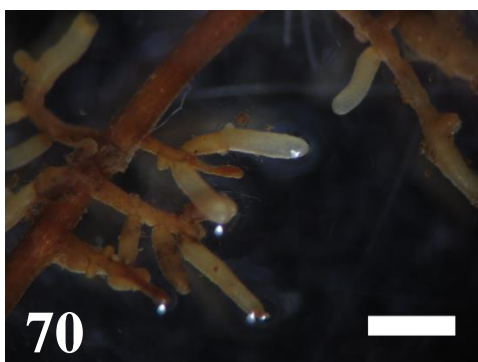
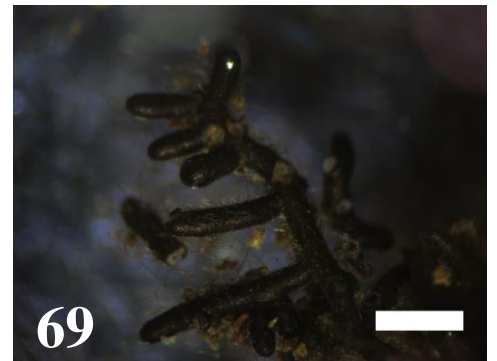
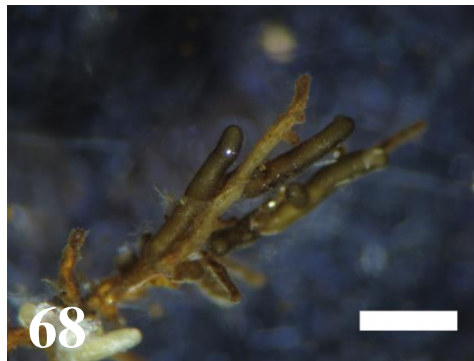
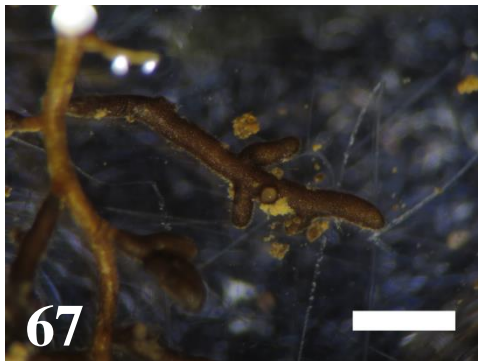
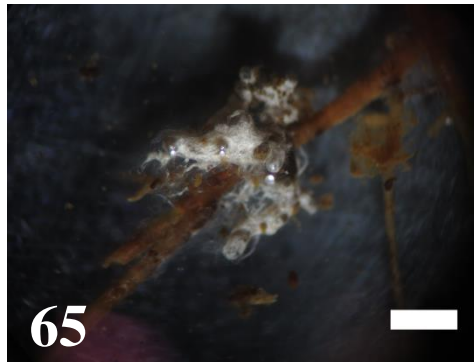
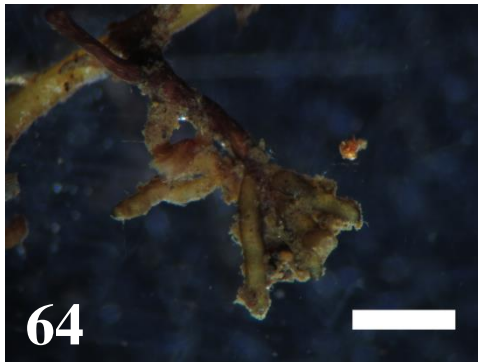
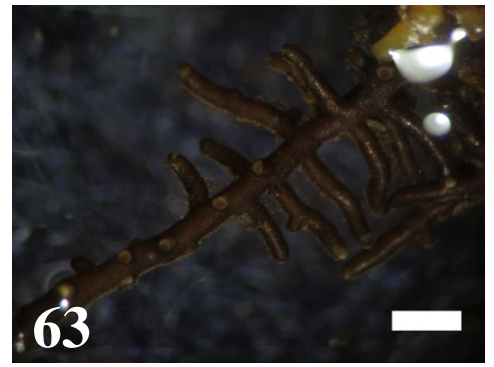
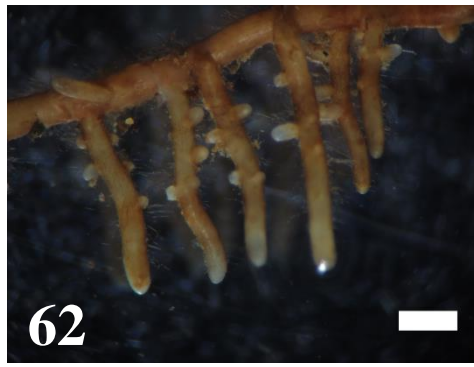
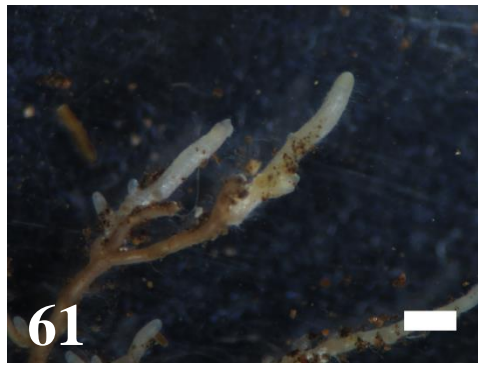
(続き) 写真-2. 本調査で採取された外生菌根

49. *Sebacina epigaea*, 50. *Sebacina* sp.1, 51. *Sebacina* sp.2, 52. *Sebacina* sp.3,

53. *Sebacina* sp.4, 54. *Sebacina* sp.5, 55. *Sebacina* sp.6, 56. *Sebacina* sp.7,

57. *Sebacinaceae* sp., 58. *Suillus bovinus*, 59. *Thelephora* sp.2, 60. *Thelephoraceae* sp.1

スケールバーは 1mm を表す



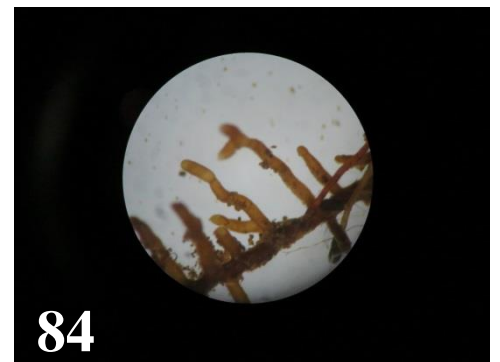
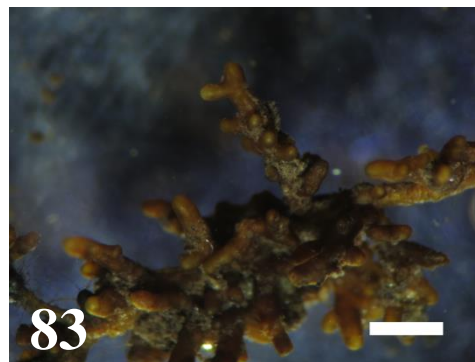
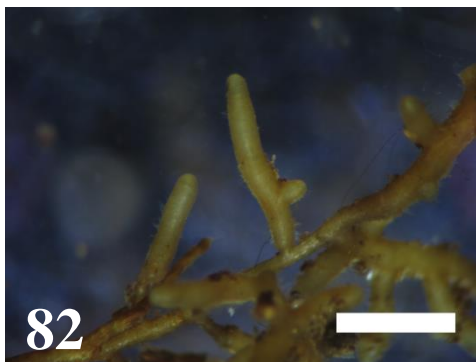
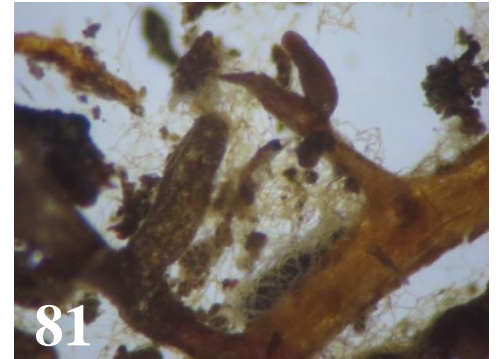
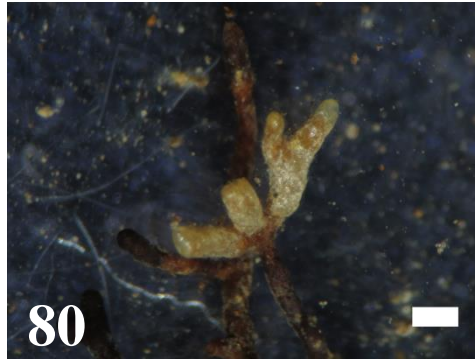
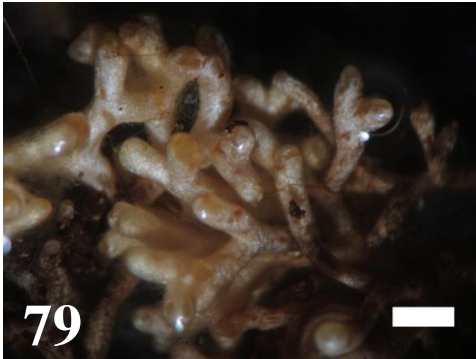
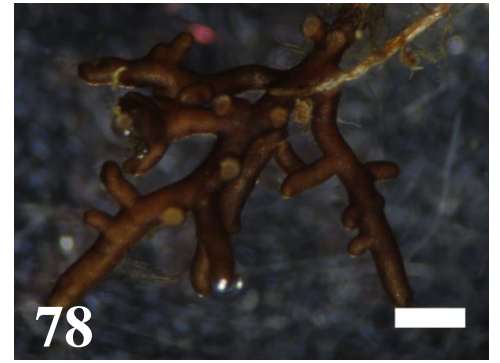
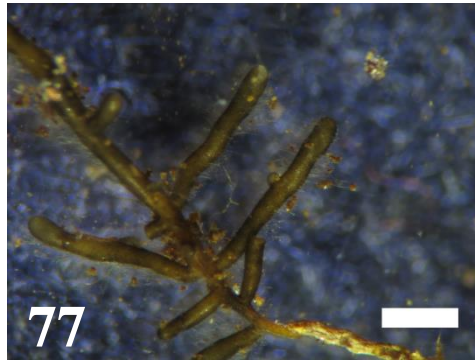
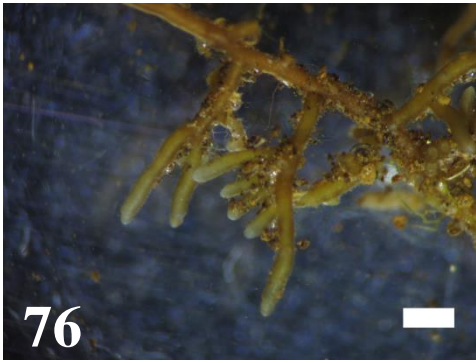
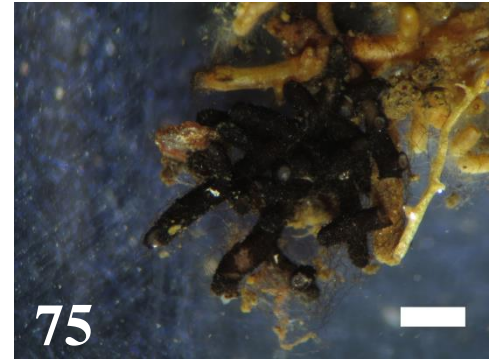
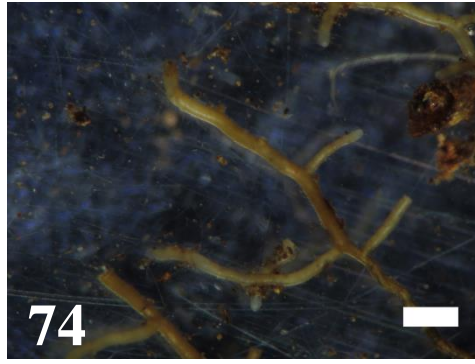
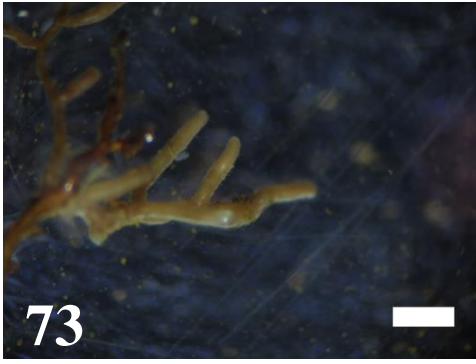
(続き) 写真-2. 本調査で採取された外生菌根

61. Theleporaceae sp.2, 62. Theleporaceae sp.3, 63. Theleporaceae sp.5, 64. Theleporaceae sp.6,

65. *Tomentella cinerascens*, 66. *Tomentella* sp.1, 67. *Tomentella* sp.2, 68. *Tomentella* sp.3,

69. *Tomentella* sp.4, 70. *Tomentella* sp.5, 71. *Tomentella* sp.6, 72. *Tomentella* sp.7

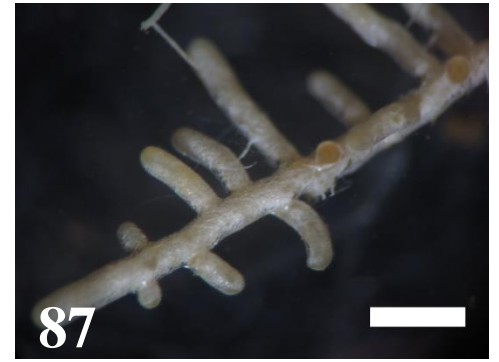
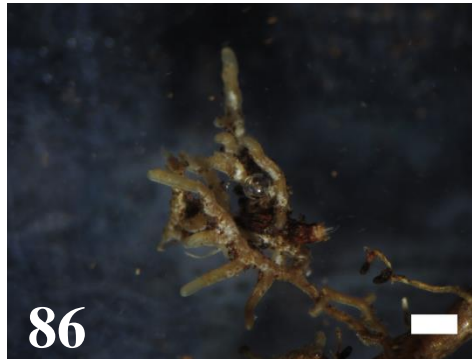
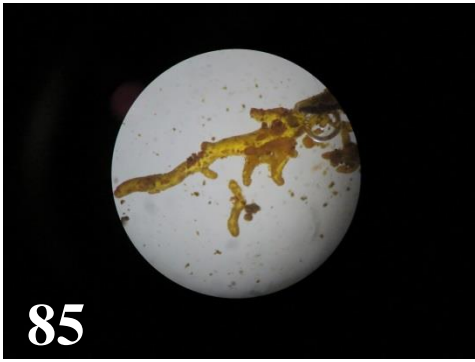
スケールバーは 1mm を表す



(続き) 写真-2. 本調査で採取された外生菌根

73. *Tomentella* sp.8, 74. *Tomentella* sp.9, 75. *Tomentella* sp.10, 76. *Tomentella* sp.11,  
77. *Tomentella* sp.12, 78. *Tomentella* sp.13, 79. *Tomentellopsis zygodesmoides*, 80. *Tomentellopsis* sp.,  
81. Trechisporales sp., 82. *Tuber* sp.1, 83. *Tuber* sp.2, 84. Tuberales sp.

スケールバーは 1mm を表す



(続き) 写真-2. 本調査で採取された外生菌根

85. *Tylopilus* sp.1, 86. *Tylopilus vinosobrunneus*, 87. *Xerocomus* sp.2

スケールバーは 1mm を表す

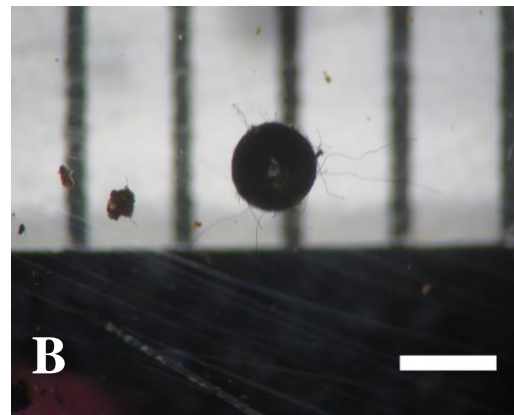
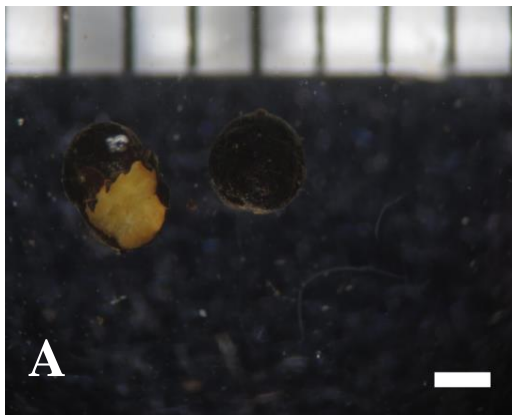


写真-3. 本調査で採取された菌核

A. *Boletaceae* sp.1, B. *Cenococcum geophilum* 1

スケールバーは 1mm を表す

多摩川上流部の里山林における菌類多様性評価  
—里山林は樹木共生性きのこの種多様性の受け皿となりうるか—  
(研究助成・学術研究 VOL. 48—NO. 342)

著 者 田中 恵  
発行日 2019年12月  
発行者 公益財団法人 東急財団  
〒 150-8511  
東京都渋谷区南平台町5番6号  
TEL (03) 3477-6301  
FAX (03) 3496-2965  
<http://foundation.tokyu.co.jp>