

クロマツ海岸林における真菌類菌糸の水平分布

瀬川あすか・北上雄大・松田陽介(三重大院生資)

Cenococcum geophilum は子囊菌門に属する外生菌根菌で、クロマツ海岸林で優占的に漆黒の菌根を形成する。本研究では、クロマツ海岸林における *C. geophilum* 菌糸の水平分布を明らかにするため、土壌中の菌糸長とその形態を観察した。三重県津市の海岸林の土壌に含まれる糸状菌の菌糸を抽出し、光学顕微鏡下で観察及び、菌糸長を測定した。その結果、各プロットにおいて黒系菌糸が優占し、その菌糸長は 5.8–18.8 cm であった。黒系菌糸は形態的特徴から *C. geophilum* と推定された。以上から、本種はクロマツ海岸林において広範に優占して分布していると考えられた。

キーワード：外生菌根菌，黒系菌糸，根外菌糸，*Cenococcum geophilum*，光学顕微鏡観察

I はじめに

クロマツ (*Pinus thunbergii*) は、海岸の砂丘未熟土からなる貧栄養土壌で生育できる数少ない樹木であり(10)、地下部の細根に関わる外生菌根菌が環境耐性付与に関与する(6)。外生菌根菌は樹木の細根に菌根という相利共生体を形成する真菌類である(12)。外生菌根菌は菌根から土壌中に伸長させた根外菌糸で養分を吸収して宿主へ供給し、一方で宿主植物から光合成産物を得る(11)。さらに、本菌の樹木細根への感染は、生物的・非生物的ストレスに対する宿主植物の耐性を向上させる(2)。これらのことから、外生菌根菌は、樹木にとって生育が厳しい環境下における森林の成立に必要な不可欠である(4)。クロマツ海岸林では、外生菌根菌の中でも子囊菌門に属する *Cenococcum geophilum* が優占して菌根を形成する(8)。本種は高い塩分耐性をもつことから(9)、クロマツ海岸林の成立に寄与していると考えられる。しかしながら、*C. geophilum* をはじめとする菌根菌が土壌に伸長する根外菌糸の分布は不明である。

そこで本研究では、クロマツ海岸林における菌根菌の根外菌糸の分布を明らかにするため、表層土壌に含まれる真菌類の菌糸を抽出し、形態観察による類別と菌糸長の測定を行った。

II 材料と方法

1. 調査地概要 調査地は、三重県津市の町屋海岸に植栽された約 5 ha のクロマツ海岸林である。林床には数 cm 程度のリターが堆積し、土壌は砂質未熟土であった。林内に 10 m × 10 m プロットを 6 ヶ所設定し、林分境界部 5 地点（海側からプロット外 1 m，林縁，プロット内 1 m，3 m，7 m）の表層土壌（5 cm × 5 cm × 5 cm）を 3 列から採取し（計 90 サンプル），研究室へ持ち帰った。その後、実験をするまで 4 °C で保管した。

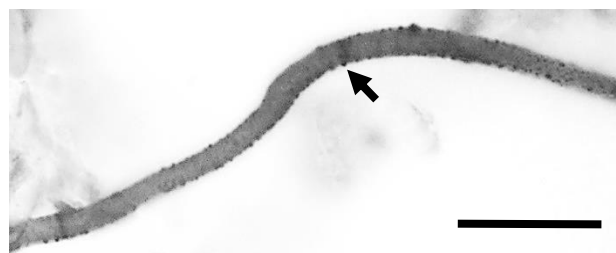
2. 菌糸長の類別と測定 採取土壌に含まれる菌糸はメンブレンフィルター法によって抽出した(5)。土壌 2 g に 100 mL の蒸留水と 12 mL のヘキサメタリン酸ナトリウ

ム (35 g L⁻¹) を加えて攪拌した。上澄みを 25 µm のふるいに通し、ふるい上の残渣をメスフラスコに流し入れ、蒸留水で 200 mL にメスアップした。上澄み 10 mL を孔径 1 µm のメンブレンフィルターでろ過し、菌糸を得た。メンブレンフィルターを 1 % 酸性フクシン溶液に浸漬して菌糸を染色後、ラクトフェノール溶液で固定し、光学顕微鏡 (BX53, Olympus) で菌糸の外観を観察した。検出された菌糸は呈色にもとづき黒、茶、白系菌糸に類別した。菌糸長は、CellSens Standard 1.6 (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH) のポリライン機能を使用して µm 単位で測定した後、土壌 1 g 当たりの長さ

(cm/g) で算出した。同一採取地点内における色別の菌糸長に差があるかを調べるために、Steel-Dwass の多重比較検定を行った (p < 0.05)。

III 結果と考察

供試した全土壌サンプルから黒・茶・白系の菌糸体が検出された。黒系菌糸は酸性フクシンによる染色の乏しい黒色から暗褐色を呈し、隔壁を有し、クランプコネクションが見られず、表面には部分的に“いぼ様”の構造が認められた (図—1)。



図—1. 採取土壌で観察された黒系菌糸

バーは 20 µm を示し、菌糸表面には部分的にいぼ様の構造 (矢印) が認められた。

茶系菌糸は黒系菌糸よりも明るい茶色で酸性フクシンによってやや赤色に染色され、隔壁を有する菌糸と隔壁のない菌糸が見られた。白系菌糸は白色から透明で酸性フクシンによって明瞭に赤色に染色され、隔壁を

SEGAWA Asuka*, KITAGAMI Yudai, MATSUDA Yosuke (Grad. School of Bioresources, Mie Univ. Tsu, Mie 514-8507) Horizontal distribution of fungal mycelia in a coastal Japanese black pine forest.

*author for correspondence: asgwa44@gmail.com

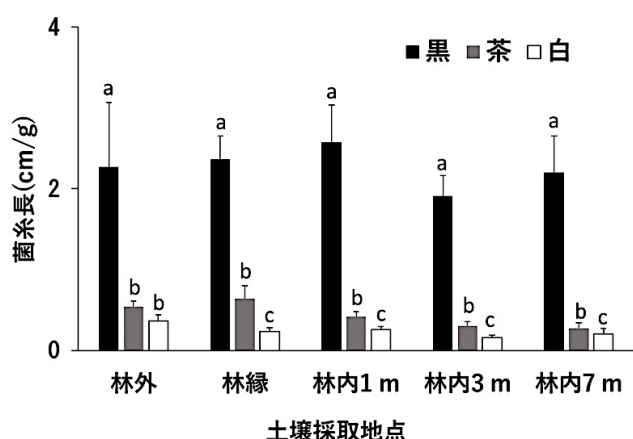
有していた。

黒系菌糸を形成し、外生菌根を形成する菌種は、イボタケ科の菌種 (*Tomentella ferruginea*, *Pseudotomentella humicola*) や *Cenococcum geophilum* が挙げられる(1)。これらの菌種のうちクランプコネクションが見られず、菌糸表面にいぼ様の構造特性を有するものは *C. geophilum* であった。このことから、本研究で観察された黒系菌糸は *C. geophilum* と推定された。茶系菌糸では有隔壁、無隔壁の2種類の菌糸が認められた。無隔壁の菌糸は、プロット内でアーバスキュラー菌根性の下層植生(例、コウボウムギ (*Carex kobomugi*)) が生育しており、菌糸の観察時にはアーバスキュラー菌根菌の胞子が観察されたことから、グロムス門に属すると考えられた(3)。そのため、茶系菌糸は有隔壁の担子菌門や子囊菌門と、無隔壁のグロムス門と考えられる。

色別の菌糸長は、林分境界部5地点の全ての採取地点で黒系菌糸が有意に多く見られた(図—2)。土壤に含まれる菌糸長は、黒系、茶系、白系の菌糸がそれぞれ 2.2 ± 1.9 cm/g (平均値±標準偏差)、 0.4 ± 0.01 cm/g、 0.2 ± 0.01 cm/g であり(図—2)、さらにプロット当たりの菌糸長に換算すると、それぞれ5.8–18.8 cm、1.6–3.1 cm、0.69–1.9 cm であった。

海岸のクロマツの根系には、*C. geophilum* が高頻度で菌根を形成する(7)。さらに、本種に推定された黒系菌糸がクロマツ海岸林外でも多く見られた。外生菌根菌は、根外菌糸を介して土壤中の養水分を獲得する(11)。このことから、*C. geophilum* は、菌根だけではなく、土壤中では広範に根外菌糸を伸長させることで、養水分の獲得に寄与し、海岸でのクロマツの生育に関わっているのかもしれない。

以上より、クロマツ海岸林の表層土壤には黒系菌糸が優占的に分布することを示した。今後は、分子生物学的手法を用いてこれらの菌糸の種同定を行う必要がある。



図—2. クロマツ海岸林において海側から順に異なる地点で採取した土壤に含まれる菌糸長

棒グラフは平均値 (n=18) を、エラーバーは標準偏差を示す。異なるアルファベットは同一採取地点内における色別の菌糸長に有意差があることを示す (Steel-Dwass 法, $p < 0.05$)。

謝辞

本研究の遂行に際して、研究費の一部は科研費 (21H02232) による。

引用文献

- (1) Agerer R (1987–2008) Colour atlas of ectomycorrhizae, 1st–14th del., Einhorn-Verlag
- (2) Guerrero-Galán C, Calvo-Polanco M, Zimmermann SD (2019) Ectomycorrhizal symbiosis helps plants to challenge salt stress conditions. *Mycorrhiza* 29: 291–301
- (3) Johnson NC, Gehring CA (2007) Mycorrhizas: Symbiotic Mediators of Rhizosphere and Ecosystem Processes. In Cardon ZG, Whitbeck JL (eds.) *The Rhizosphere*, Academic Press: 73–100
- (4) Jourand P, Hannibal L, Majorel C, Mengant S, Ducousso M, Lebrun M (2014) Ectomycorrhizal *Pisolithus albus* inoculation of *Acacia spirorbis* and *Eucalyptus globulus* grown in ultramafic topsoil enhances plant growth and mineral nutrition while limits metal uptake. *J Plant Physiol* 171: 164–172
- (5) Kitagami Y, Matsuda Y (2020) Temperature changes affect multi-trophic interactions among pines, mycorrhizal fungi, and soil nematodes in a microcosm experiment. *Pedobiologia* 78: 150595
- (6) Matsuda Y, Sugiyama F, Nakanishi K, Ito S (2006) Effects of sodium chloride on growth of ectomycorrhizal fungal isolates in culture. *Mycoscience* 47: 212–217
- (7) Matsuda Y, Hayakawa N, Ito S (2009) Local and microscale distributions of *Cenococcum geophilum* in soils of coastal pine forests. *Fungal Ecol* 2: 31–35
- (8) Matsuda Y, Noguchi Y, Ito S (2009) Ectomycorrhizal fungal community of naturally regenerated *Pinus thunbergii* seedlings in a coastal pine forest. *J For Res* 14: 335–341
- (9) Matsuda Y, Yamakawa M, Inaba T, Obase K, Ito S (2017) Intraspecific variation in mycelial growth of *Cenococcum geophilum* isolates in response to salinity gradients. *Mycoscience* 58: 369–377
- (10) Obase K, Cha JY, Lee JK, Lee SY, Lee JH, Chun KW (2009) Ectomycorrhizal fungal communities associated with *Pinus thunbergii* in the eastern coastal pine forests of Korea. *Mycorrhiza* 20: 39–49
- (11) Smith S, Read D (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, Academic Press
- (12) Tedersoo L, Sadam A, Zambrano M, Valencia R, Bahram M (2010) Low diversity and high host preference of ectomycorrhizal fungi in western Amazonia, a neotropical biodiversity hotspot. *ISME J* 4: 465–471