

# 塩化ナトリウムがクロマツと外生菌根菌の生育に及ぼす影響

松田陽介・中西健一・伊藤進一郎（三重大生資）

塩化ナトリウムがクロマツおよび外生菌根菌の生育に与える影響を調査した。実生苗の地上部重、地下部重、T/R率は、いずれの処理区間でも有意な差は認められなかったが、50mM区の根端数は、0mM区のものに比べて有意に減少した。このことから、NaClがクロマツの生育に及ぼす影響はまず根端形成にあらわれるものと推察された。また、NaCl濃度の上昇に伴ってコブツタケやショウロの生育は増加傾向を示したが、ヌメリイグチや *Cenococcum geophilum* は減少傾向を示した。このことから、前者のグループは海岸地域におけるクロマツに対する接種菌として有効であると考えられた。

キーワード：NaCl, 外生菌根菌, クロマツ, 根端数

## I はじめに

日本のマツ林は、おもにマツ材線虫病被害によりその衰退が問題となっている。平成12年度におけるこの被害は84万 $m^3$ とピーク時（昭和54年度の243万 $m^3$ ）の3割にまで減少しているが、夏季の高温少雨の影響により平成11年度からは増加傾向に転じている（10）。海岸マツ林も例外ではなく、マツ材線虫病により枯損、荒廃がすすんでいる。しかしながら、防潮防風林としての機能や景観、保養といった視点から今後保全すべきマツ林の一つである（7）。

マツ材線虫病の被害は、一般に夏季の激しい乾燥によって甚大になるといわれている。海岸マツ林は乾燥に加えて、塩ストレスといった環境ストレスの厳しい地域である。そのため、マツ枯損の防除・防護対策として適用されてきた被害木の除去、薬剤散布、抵抗性マツの植栽などに加えて（5）、海岸地域に適した耐塩性マツを選抜することは重要である。また、海岸マツ林を構成するアカマツやクロマツの細根には、外生菌根菌と呼ばれる土壤菌類とともに外生菌根が形成される（4, 8, 9）。樹木は形成された外生菌根から土壤中に伸長する菌糸を通して、細根に形成される根毛以上に効率良く養水分を吸収すると考えられている（12）。海岸地域の土壌は養水分が少ないため、外生菌根の形成はマツの生残に寄与している可能性がある。これまでにマツの耐塩性に関する研究はいくつか行なわれてきたが（3, 13）、外生菌根菌に着目した研究は極めて少ない。さらに荒廃した海岸マツ林を回復させていくためには、枯損跡地への材線虫抵抗性マツの植栽とともに、マツと共生関係にある外生菌根菌の利用も視野に入れた海岸マツ林全体の効果的な活性化を図っていくことが重要であると考えられる。

そこで本研究では、海岸付近の塩ストレスの高い地域に適したマツ実生苗を作出するための基礎データを得るため、塩化ナトリウム（NaCl）がクロマツおよび外生菌根菌の生育に与える影響を調査した。

本論に先立ち、供試菌株の一部を分譲していただいた東京大学アジア生物資源環境研究センターの奈良一秀教官、クロマツ種子を分譲していただいた三重県科学技術振興

センターの島田博匡氏に感謝したい。また、本研究費の一部は、文部省科学研究費補助金（14760097）によった。

## II 材料と方法

植物材料は、三重県一志郡白山町の三重県科学技術振興センター林業研究部内に位置するクロマツ採種園から採取されたクロマツ種子を用いた。種子は30%過酸化水素水で5分間表面殺菌した後、滅菌水で2回洗浄してオートクレーブ済み（121℃, 15分間）の培地入り試験管（30×200mm）に静置した。試験管内の培地はパーミキュライト（50ml）、活性炭（1%（w/v））を基質として充填し、1/1000倍の液肥（N:P:K=5:10:5）と各NaCl処理（0mM, 20mM, 50mM, 100mM, 200mM区）を含む脱イオン水（12ml）で湿らせた。各処理区につき20本用意した。播種後、試験管は20℃下の室内に静置した。発芽率（発芽は幼根の発達に伴い、基質から胚部が持ち上がったことが視覚的に確認された時点とした）は、播種後20日までほぼ毎日観察した。64日間の育成後、実生苗の根端数を測定した。地上部と地下部に分けて乾燥させた後（105℃, 24時間）、乾重量の測定をした。

外生菌根菌4種6菌株（コブツタケ3菌株（三重県産2菌株、福島県産1菌株）、ショウロ、ヌメリイグチ、*Cenococcum geophilum* は各1菌株）を用いた。菌種は海洋深層水を含む基質上での生育結果に基づき、その一部を選定した（11）。培地は、液体MMN培地に各NaCl処理（0mM, 20mM, 50mM, 100mM, 200mM区）を加え、オートクレーブ後にpH値が5.0-5.4となるよう調整した。各菌株の菌叢の生育先端部をコルクボーラー（直径11mm）で打ち抜き、液体MMN培地20mlの入ったシャーレ（直径9cm）に静置した。繰り返しは各菌株、各処理区当り7シャーレとし、培養は室温で30日間とした。その後菌体を定量ろ紙（ADVANTEC No.5C）上で濾し、それらを105℃, 24時間乾燥させてから乾重量を測定した。

## III 結果

クロマツ種子の発芽開始日は、0mM区で6日目、20, 50, 100mM区で9日目、200mM区で16日目であった（図-1）。20日後の発芽率は、0mM区で90%、20, 50, 100mM区で70%、200mM区で10%であった。実生苗の地上部重、

Yosuke MATSUDA, Ken-ichi NAKANISHI, Sin-ichiro ITO (Fac. of Bioresources, Mie Univ., Tsu, Mie, 514-8507)

Effects of sodium chloride on the growth of *Pinus thunbergii* and ectomycorrhizal fungi

地下部重、さらに両者の割合である T/R 率は、いずれの処理区間でも有意な差は認められなかった (図-2)。50mM 区の根端数は、0mM 区のものに比べて有意に減少した (Kruskal-Wallis's test, 以下 K.W.T.,  $p < 0.05$ )。また、NaCl 濃度が上昇するにつれて、各処理区における根端数は減少傾向を示した。

ショウロの菌体重量は、一般に他種のものよりも多い傾向を示した (図-3)。コツブタケ 1 の菌体重量は、同一処理区の他のコツブタケ 2 菌株よりも多かった。また同一菌株の処理区間においては、コツブタケ 1 の 100mM 区の菌体重量は、0mM 区と 50mM 区のものより有意に多かった (K.W.T.,  $p < 0.05$ )。コツブタケ 2 の 100mM 区、200mM 区の菌体重量は、0mM 区、20mM 区のものより有意に多かった (K.W.T.,  $p < 0.05$ )。コツブタケ 3 の 100mM 区の菌体重量は、0mM 区と 20mM 区のものより有意に多かった (K.W.T.,  $p < 0.05$ )。ショウロの 20mM 区の菌体重量は、0mM 区より有意に多かった (K.W.T.,  $p < 0.05$ )。ヌメリイグチの 0mM 区の菌体重量は、50mM 以上の処理区のものより有意に多かった (K.W.T.,  $p < 0.05$ )。Cenococcum geophilum の 0mM 区の菌体重量は、200mM 区より有意に多かった (K.W.T.,  $p < 0.05$ )。

#### IV 考察

クロマツ種子の発芽開始日と観察終了時の発芽率は、NaCl 濃度の上昇とともにそれぞれ遅延し、低下した。クロマツの育成終了時の試験管内には十分な水分が確認されたこと、幼根がみられたが発芽と判断されなかった種子を素寒天上に静置すると主根の再生が確認されたことから (いずれもデータ示さず)、幼根の発達阻害は、NaCl 濃度上昇にともなう浸透圧によるものと考えられた。

実生苗の地上部重、地下部重、T/R 率は NaCl 処理による影響はみられなかった。しかしながら、根端数は NaCl 濃度の上昇とともに減少傾向にあった。またその減少は 20mM から 50mM の間で顕著であった (図-4)。阿部は様々な海岸砂丘における土壌中の NaCl 濃度を測定し、2.2mM から 147.6mM であることを示した (1)。塩類土壌は、一般に 40mM NaCl/L 以上の土壌であるといわれている (6)。したがって、本研究から得られた結果は、海岸地域の汀線から近く恒常的に塩類土壌化している場合や、汀線から遠くても潮風、高潮などの影響により土壌が一時的に塩類土壌化した場合、そこに生育するマツでは器官別のバイオマスよりも細根の形成阻害という機能単位にその影響が現れる可能性を示している。

供試した菌株の NaCl 濃度の上昇にともなう生育は、コツブタケやショウロのように増加傾向を示すグループとヌメリイグチや C. geophilum のように減少傾向を示すグループに大別された (図-4)。このため、前者のグループは海岸地域におけるクロマツに対する接種菌として有効であると考えられた。また、コツブタケは 3 菌株用いたがいずれも NaCl 濃度に対する反応は同じ傾向であった。CHEN らはコツブタケ属菌 18 菌株を用いた培地上におけ

る耐塩性試験を行った (2)。コツブタケ属菌に耐塩性があるという点では本研究の結果と一致していたが、彼らを用いた菌株の NaCl 濃度の上昇に伴う反応は様々であった。したがって、コツブタケ属菌は耐塩性を有するものの、マツに接種するための菌株の選抜においてはさらに供試する菌株を増やす必要があると考えられた。後者のグループでは、C. geophilum は他種よりも乾燥耐性があると考えられている (12)。したがって、今後この菌については乾燥の違いに着目した生育試験を通して、接種菌としての有効性を検討する必要がある。

今回の研究では、クロマツと外生菌根菌のそれぞれについての NaCl 濃度に対する反応を調査した。クロマツの細根が有意に低下した状況下 (20-50mM) においても、外生菌根菌の中にはその重量が増加傾向を示すものもあった。このため、今後は外生菌根の形成によるクロマツの生育状況を明らかにする必要がある。

#### 引用文献

- (1) 阿部淳一 (1998) 海岸砂丘における VA 菌根菌に関する生態学的研究. 筑波農林学研 9 : 1-69.
- (2) CHEN DM, ELLUL S, HERDMAN K, CAIRNEY JWG. (2001) Influence of salinity on biomass production by Australian *Pisolithus* spp. Isolates. Mycorrhiza 11 : 231-236.
- (3) 堀江保夫 (1966) 植物の耐塩水性 (2) - 防潮林構成植物選定のための実験 - 林試研報 186 : 113-133.
- (4) 菊住 昇 (1979) 樹木根系図説. 誠文堂新光社, 東京, 1121p.
- (5) 真宮靖治 (1992) 松くい虫問題の現状と研究対応. 森林科学 6 : 11-17.
- (6) MARSHNER H. (1995) Mineral nutrition of higher plants, 2nd ed. Academic press, 912p.
- (7) 村井 宏・石川政幸・遠藤治郎・只木良也 (1992) 日本の海岸林 - 多面的な環境機能とその利用 -. ソフトサイエンス社, 東京, 513p.
- (8) 小川 眞 (1977) アカマツ林における菌根菌 - マツタケの微生物生態学的研究 IV. アカマツ林菌類社会におけるマツタケのシロ. 林試研報 298 : 59-104.
- (9) 小川 眞 (1979) 海岸砂丘のクロマツ林における微生物相. 林試研報 305 : 107-124.
- (10) 林野庁 (2002) 平成 13 年度森林・林業白書 (森林及び林業の動向に関する年次報告). 社団法人日本林業協会, 東京.
- (11) 齋 朋子・奥田章子・松田陽介・中西健一・伊藤進一郎 (2002) 海洋深層水を添加した基質における外生菌根菌 7 種の培養特性. 中森研 50 : 49-52.
- (12) SMITH SE, READ DJ. (1997) Mycorrhizal Symbiosis 2nd eds., Academic Press, New York, 605p.
- (13) 高橋啓二・堀江保夫 (1965) 植物の耐塩水性 (1) - 防潮林構成植物選定のための実験 -. 林試研報 183 : 131-151.

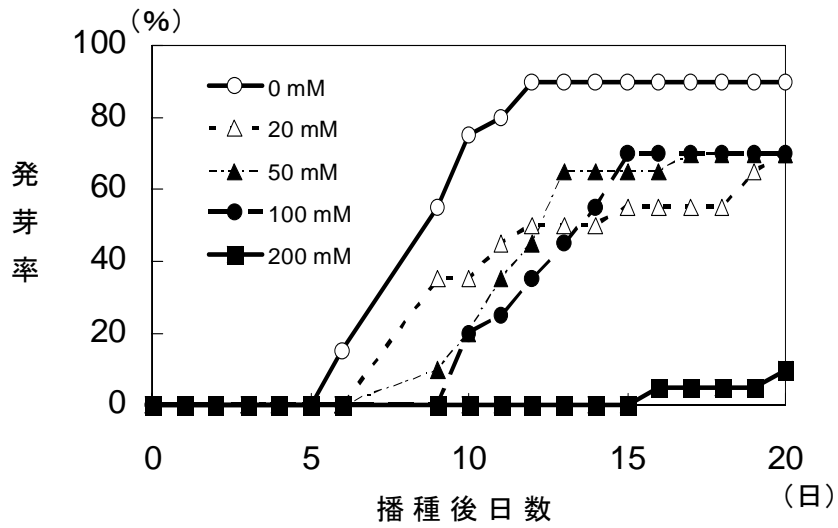


図-1. 異なるNaCl濃度におけるクロマツ種子の発芽率  
いずれの処理区もn=20.

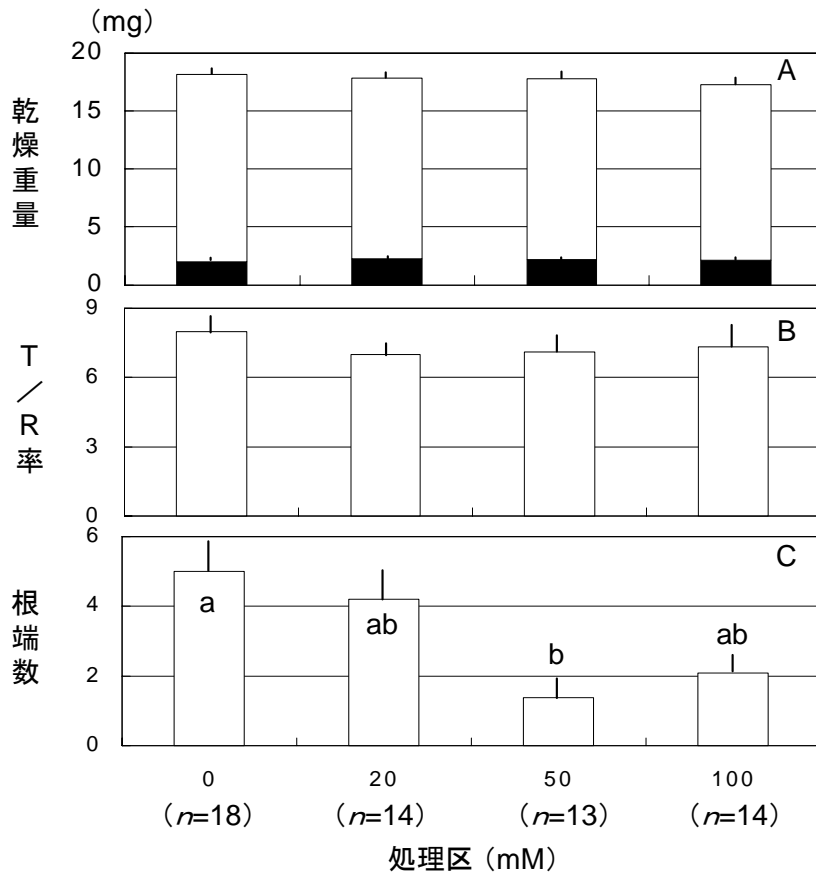


図-2. 異なるNaClで生育させたクロマツ実生苗の(A)地上部重(□), 地下部重(■),  
(B)T/R率, (C)根端数

200mM区は発芽後の生育がみられなかったため、解析から除外した。測定項目の値は各処理区  
個体数の平均値を、縦線は標準誤差をそれぞれ示す。異なる英字を付した平均根端数の間には、  
Kruskal-Wallis's testによる有意差があることを示す( $p < 0.05$ )。

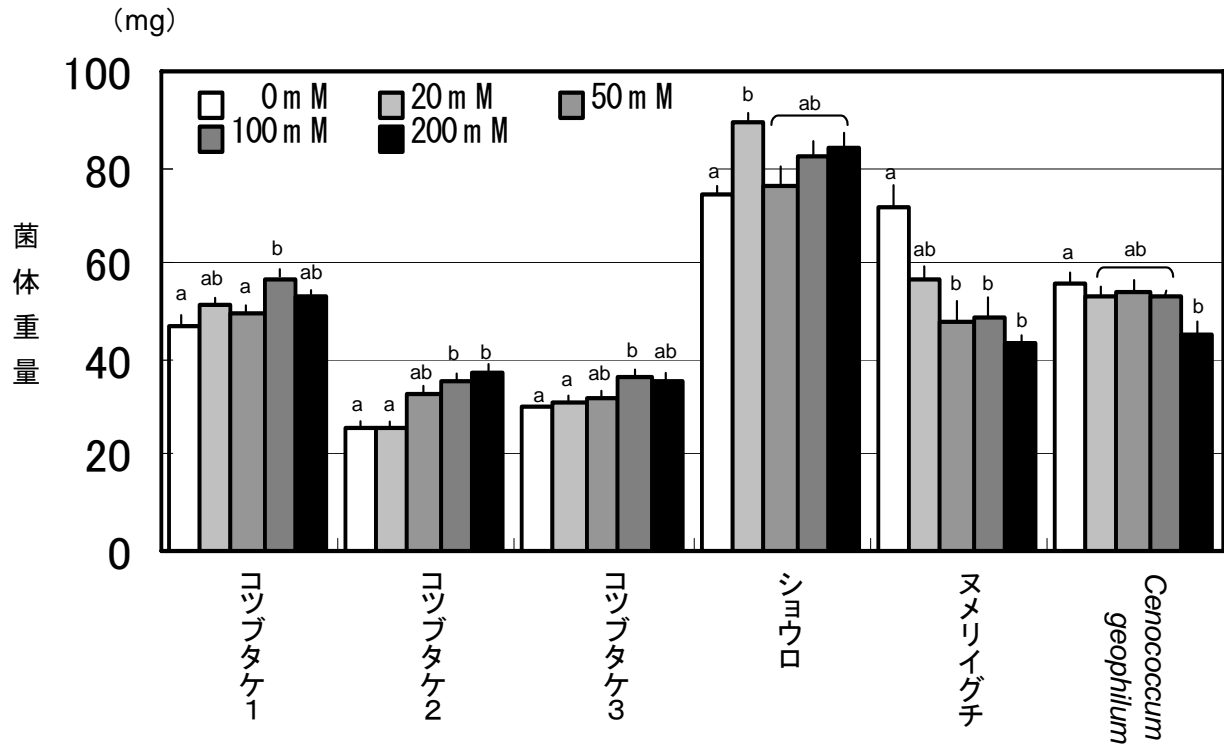


図-3. 異なるNaCl濃度における外生菌根菌の菌体重量  
 いずれの処理区も供試個体数 ( $n=7$ ) の平均値を、縦線は標準誤差をそれぞれ示す。異なる英字を付した同一菌株間の各処理区の平均菌体重量の間には、Kruskal-Wallis's testによる有意差があることを示す ( $p<0.05$ )。

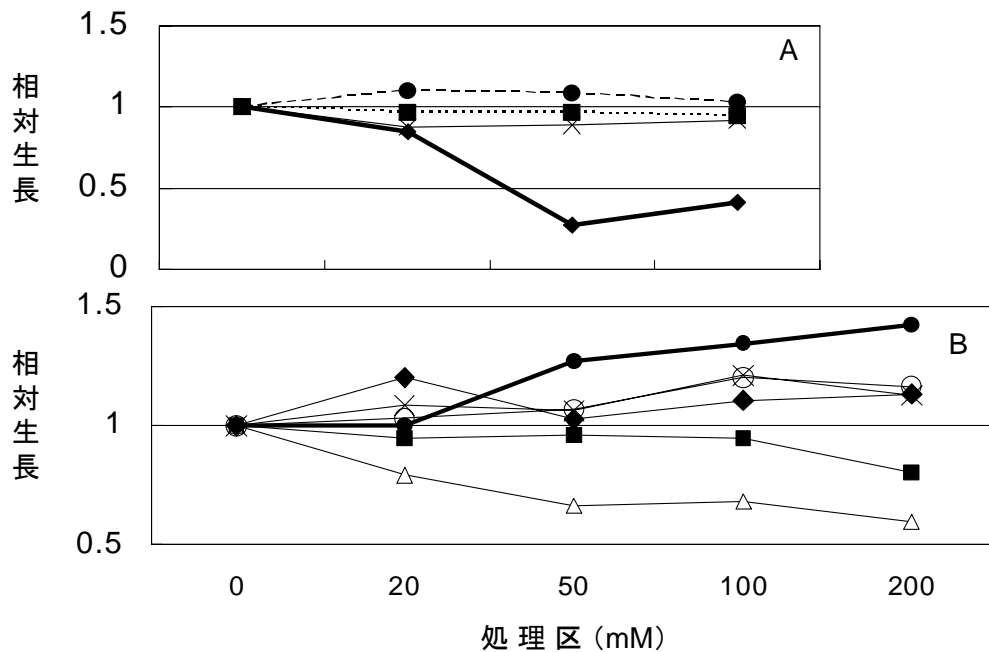


図-4. 異なるNaCl濃度で育成、培養した(A)クロマツ; 地上部重(■), 地下部重(●), T/R率(×), 根端数(◆)と(B)外生菌根菌の相対生長; コツブタケ1(×), コツブタケ2(●), コツブタケ3(○), ショウロ(◆), アメリイグチ(△), *Cenococcum geophilum*(■)