

青森県と鹿児島県の海岸クロマツ林における *Cenococcum geophilum* の出現状況

松田陽介（三重大院生資）・木村ゆきな（三重大生資）・中村克典（森林総研東北）・伊藤進一郎（三重大院生資）

Cenococcum geophilum が海岸クロマツ林に優占して分布するかを検証するため、青森県と鹿児島県の海岸に生育するクロマツを対象に外生菌根の形成率、それに占める *C. geophilum* 菌根の出現割合と出現頻度を調べた。両調査地から 56 地点の土壌含水率を計測後、表層土壌を採取した。土壌中のクロマツ根端の顕微鏡観察により外生菌根と非菌根に分け、さらに外生菌根は *C. geophilum* 菌根とその他の菌根に大別した。青森県と鹿児島県の外生菌根の形成率はそれぞれ 100, 99.9% であり、青森県の *C. geophilum* 菌根の出現割合と出現頻度は 7.6%, 42.6%, 鹿児島県ではそれぞれ 57.8%, 100% であった。土壌含水率と *C. geophilum* 菌根の出現割合との間に明瞭な関係は認められなかった。以上より、*C. geophilum* は地域的に大きく離れたクロマツ林で出現頻度は異なったが優占種の一つと考えられた。

キーワード：外生菌根，菌根形成率，顕微鏡観察，出現頻度，土壌含水率

I はじめに

クロマツ (*Pinus thunbergii*) は海岸沿いに多く植栽され、景観、暴風、防砂、防潮といった様々な機能において重要な役割を果たしている (9)。しかし、海岸地域は、養水分不足、乾燥、塩害などの環境ストレスにさらされ、マツ材線虫病によるクロマツ林の衰退は依然、顕在しており、海岸林としての機能が低下している (2, 10)。そこで、海岸クロマツ林の維持と効率的な再生のために、樹木に定着する外生菌根菌 (以下、菌根菌) の働きが期待されている (6, 12)。

Cenococcum geophilum は不完全菌類に属し、メラニン化した剛毛状の黒色菌糸、休眠器官であり貯蔵器官でもある小球状の黒い菌核を作る (13)。本菌は多くの樹種の細根に感染、定着し外生菌根 (以下、菌根) を形成する菌根共生関係にあり、世界中の森林生態系において見出される遍在種である (4)。乾燥、貧栄養、塩に対する耐性は他の菌根菌種よりも高いことが知られており、環境条件の厳しい生態系で優占すると示唆されている (6)。

日本や韓国の海岸クロマツ林で *C. geophilum* 菌根が優占することが、林分単位の局所的 (7, 8, 11)、東海地方では地域的 (14) な範囲で示されている。日本ではクロマツは青森以南から九州地方の沿岸地域に広く分布することを考慮すれば (3)、本菌の優占性がクロマツの生息範囲の全域において見出されるのかどうかを明らかにする必要がある。

そこで本研究は、*C. geophilum* が海岸に生育するクロマツと優占的に菌根を形成するののかどうかを明らかにすることを目的とした。そのため、自然分布の北限の青森県と南限の鹿児島県の海岸クロマツ林から採取した菌根を調べた。*Cenococcum geophilum* は一般的に環境ストレスに耐性があるとされることから、両調査地および土壌を採取する局所的に土壌水分含量の低い場所で本種の菌

根が優占すると仮説を立て、土壌含水率と本種の菌根の出現との関係を解析した。

本研究の実施にあたり、調査地使用の申請において便宜をはかって頂いた鹿児島県森林技術総合センターの川口エリ子氏、鹿児島県森林管理署の花田孝文氏に深謝する。本研究費の一部は、日本学術振興会・科学研究費補助金 (19688008, 22688011) によった。

II 材料と方法

調査地は、青森県つがる市の屏風山海岸林 (北緯 40°51', 東経 140°17') と鹿児島県日置市の吹上浜海岸林 (北緯 31°27', 東経 130°18') の 2 箇所に設定した。各調査地に最近接の測候所における 2009 年の年間降水量、年平均気温は青森県で 1405.5 mm, 10.5 °C, 鹿児島県で 1818.5 mm, 18.1 °C であった。両調査地も海岸に面しており、汀線からの距離は 100~200 m の範囲であった。各調査地におけるクロマツ林の樹高、胸高直径、土壌 pH を表-1 に示した。青森県のクロマツの樹高と胸高直径は鹿児島県のものよりも大きく、土壌 pH は低い傾向にあった。林分内にはニセアカシアの幼木から成木に至る様々な樹齢の個体が散在するとともに、林床にはシダ類が部分的に繁殖していた。鹿児島県のクロマツ林は下枝が多く、林床には部分的にササ類が優占したが、ニセアカシアの生育は認められなかった。

表-1. 青森県と鹿児島県の海岸クロマツ林における樹高、胸高直径、土壌 pH

調査地	樹高 (m)	胸高直径 (cm)	土壌 pH
青森県	13.8±2.2	28.5±9.8	5.17±0.34
鹿児島県	5.7±1.2	13.0±4.9	5.67±0.21

各データは平均値±標準偏差で示した。ただし、樹高 ($n = 10$)、胸高直径 (青森県; $n = 47$, 鹿児島県; $n = 56$)、土壌 pH ($n = 5$) とした。

2010年7月に鹿児島県より、2010年8月に青森県より調査地内から土壌パイプを用いてクロマツ樹冠下の1箇所から表層土壌(直径3cm, 長さ30cm)を最低数m以上離れた別個体から、合計56サンプル採取した。同時にTDR 土壌水分計(TDR-341F, 藤原製作所, 東京)を用いて採取地点の20cm深における土壌含水率を計測した。青森県と鹿児島県における土壌採取範囲はともに約5haで、海岸線に沿った直線距離ではそれぞれ470m, 580mであった。採取した土壌は、クーラーボックスに入れて研究室に持ち帰り菌根形態類別に用いた。そのうちの5サンプルは、風乾細土として、pH(H₂O)計測を行った。菌根形態類別用サンプルは、クロマツ根系を採取するまで5°Cで保存した。菌根の形態類別では、まず採取した土壌を上から口径2mm, 1mmの篩に移して水道水で洗い流し、各篩に残った根系をトレイに移した。その後、最長15分間観察しクロマツ根系のみを丹念に取り出し、水を張ったガラスシャーレに静置した。取り出した根系は、実体顕微鏡下で生きた細根と枯死細根に識別後、前者は菌鞘や根毛の有無にもとづきそれぞれ菌根と非菌根に分けた(5)。さらに菌根は外観の色と性状で類別し、漆黒色で光学顕微鏡観察により菌鞘表面構造がNet synenchnyma状と判断されたものを*C. geophilum*菌根(図-1)と同定した(1)。

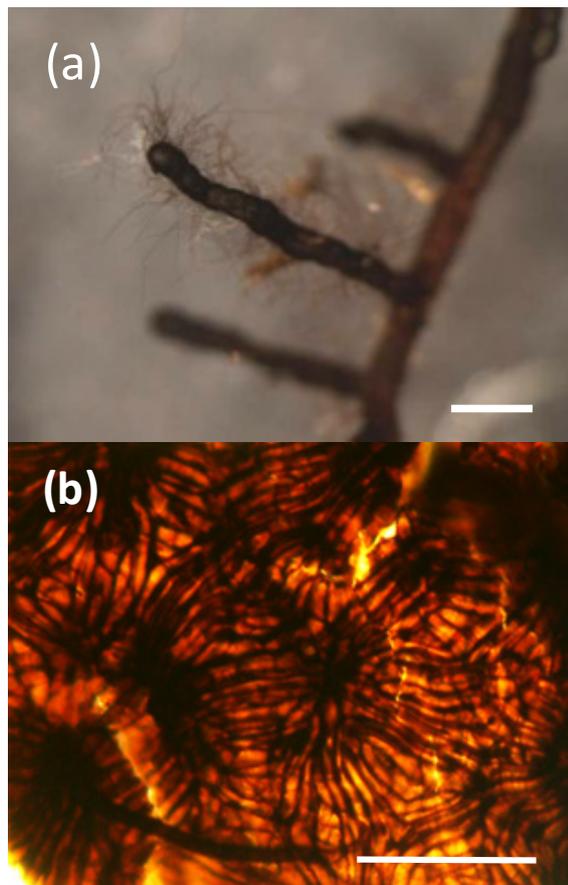


図-1. *Cenococcum geophilum*により形成された(a)クロマツ菌根の外観と(b)菌鞘表面で確認されたNet synenchnyma状の菌糸配列構造
a, bのバーはそれぞれ1mm, 50μmを示す。

これらの観察にもとづき、各土壌サンプルにおける菌根形成率=(菌根数)/(菌根数+非菌根数)×100(%), 各土壌サンプルにおける*C. geophilum*菌根の出現割合=(*C. geophilum*菌根数)/(菌根数)×100(%), *C. geophilum*菌根の出現頻度=(*C. geophilum*菌根の出現した土壌サンプル数)/(土壌サンプル数)×100(%)をそれぞれ算出した。採取地点の土壌含水率と*C. geophilum*菌根の出現割合との関係はPearsonの相関係数を、両調査地間の*C. geophilum*菌根の出現割合はt検定を、*C. geophilum*菌根の出現頻度はFisherの正確有意確率検定をそれぞれSPSS ver11.5を用いて行った。

III 結果

青森県、鹿児島県の海岸クロマツ林において、5209根端、10409根端を観察したところ、菌根形成率はそれぞれ100%と99.9%であり(表-2)、両調査地において*C. geophilum*菌根は確認された(図-1)。青森県における*C. geophilum*菌根の出現頻度は42.6%($n=47$, 9サンプルは細根が含まれていなかったためデータから除外)であり、調査地内の出現位置は全域におよび、隣接する土壌サンプルであっても*C. geophilum*菌根が検出されるものとそうでないものが認められた(図-2)。鹿児島県では、すべての土壌サンプルから*C. geophilum*菌根が検出された($n=56$)。両調査における*C. geophilum*菌根の出現頻度には有意差が認められた($\chi^2=43.60$, $d.f.=1$, $p<0.01$)。青森県の*C. geophilum*菌根の出現割合は7.6%であり、鹿児島県の57.8%より有意に低かった($p<0.01$)。

青森県の土壌含水率は4.7~16.8%, 平均は9.4%であり、含水率と*C. geophilum*菌根の出現割合との間に明瞭な関係は認められなかった($r=-0.088$, $n=47$, $p>0.05$) (図-3)。鹿児島県の土壌含水率は1箇所のみ高く31.8%を示したが、それ以外は2.6~9.4%, 平均で4.6%であった(図-3)。土壌含水率と*C. geophilum*菌根の出現割合には有意な負の相関が認められたが($r=-0.317$, $n=56$, $p<0.05$), 最大値31.8%を除くと明瞭な関係は認められなかった($r=-0.056$, $n=55$, $p>0.05$)。

IV 考察

調査を行った青森県と鹿児島県の海岸クロマツ林では、ほぼすべての細根において菌根形成が認められた。東海地方で行われた海岸クロマツ林の調査においても、細根の98%以上が外生菌根であった(14)。このことは、海岸に分布するクロマツの根端はほとんどすべてが菌根化していることを示唆している。*Cenococcum geophilum*菌根は、鹿児島県ではすべての土壌サンプルから検出され、その出現頻度の低かった青森県でも4割程度見出された。両調査地とも土壌サンプルは約5haから採取されており、青森県の調査地では*C. geophilum*菌根の出現は採取地全体に及んでいた(図-2)。したがって*C. geophilum*は、クロマツの生育する海岸地域に普遍的に生息するも

のと推察された (7)。

Cenococcum geophilum 菌根の出現割合は、両調査地とも分散が大きく (表-2)、隣接する土壌サンプル間で本種の菌根が検出される場合とされない場合も確認された (図-2)。そのため、*C. geophilum* 自体は調査地に広く分布するものの、その優占性は場所ごとの微細環境によって制御されているのかもしれない。本研究では微細環境の要因として土壌水分に着目し、含水率の低い水ストレスの厳しいと考えられるところで *C. geophilum* 菌根の割合が高くなると仮説を立てた。しかしながら、青森県ではその仮説は支持されず、鹿児島県では有意な負の相関が検出されたが、土壌含水率の最も高かった値を除くと有意性は認められなかった。したがってこの仮説を検証していくためには、海岸地域で水分傾度のある場所に着目した土壌採取を通じた菌根観察や散水処理などによる操作実験を行っていく必要がある。

両調査地ともクロマツの細根は、ほとんどすべてが菌根であったが、青森県における *C. geophilum* 菌根の出現割合とその頻度は、鹿児島県のものに比べて有意に低く、東海地方の海岸クロマツ林における調査に比べても低い傾向にあった (7, 14)。青森県のクロマツ林にはニセアカシアが散在しており、本樹種は根粒菌により空中窒素固定を行う樹種である。海岸クロマツ林でニセアカシアの立木密度が連続的に異なる林分において、ニセアカシアが多く生育し土壌中の窒素含量の高い林分で、クロマツ実生に形成された *C. geophilum* 菌根の出現割合は減少傾向を示したとする報告がある (15)。もし青森県の調査地内におけるニセアカシアの生育に伴う土壌中の窒素増加が生じているとすれば、*C. geophilum* 菌根の出現が他の調査地に比べて低かった原因として土壌の富栄養化があるのかもしれない。このように青森県で認められた *C. geophilum* 菌根の出現割合 (7.6%) は他の海岸調査と比較すると低かった。しかしながら、菌根群集において数%以上の相対出現割合を占める種は当該調査地の総種数の上位 10%に入る (16)。そのため、青森県のクロマツ林においても *C. geophilum* は菌根菌の中でも優占種の 1つと考えられた。

本研究では青森県と鹿児島県の海岸クロマツ林における *C. geophilum* 菌根の出現状況を調べた。その結果、この菌根は林分内に広く分布しており、クロマツ菌根群集内において優占する 1種と考えられた。さらに東海地方の海岸クロマツ林においても *C. geophilum* の優占性が示唆されていることから、本種は日本の地理的に広い範囲の海岸林において分布するものと考えられた。今後は、本種が海岸域に優占する維持機構を海岸の環境特性や本種に内在する遺伝特性などと関連付けて調べていく必要がある。

引用文献

- (1) AGERER, R. (1987-2006) Colour atlas of ectomycorrhizae. Einhorn-Verlag Eduard Dietenberger, Schwabisch Gmund, Germany.
- (2) 二井一禎 (2003) マツ枯れは森の感染症 - 森林微生物相互関係論ノート, 222pp, 文一総合出版, 東京.
- (3) 北村四郎・村田 源 (1979) 原色日本植物図鑑 木本編 [II], 630pp, 保育社, 大阪.
- (4) LOBUGLIO, K.F. (1999) *Cenococcum*. In: CAIRNEY, J.W.G. and CHAMBERS, S.M. (eds.), Ectomycorrhizal Fungi: key genera in profile. pp. 287-309, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- (5) 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. 名大森研 18 : 83-141.
- (6) 松田陽介 (2008) 海岸林生態系を支える菌根菌. 森林技術 798 : 7-14.
- (7) MATSUDA, Y., HAYAKAWA, N. and 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. and ITO, S. (2009) Ectomycorrhizal fungal community of naturally regenerated *Pinus thunbergii* seedlings in a coastal pine forest. J. For. Res. 14 : 335-341.
- (9) 村井 宏 (1997) 日本の海岸林—多面的な環境機能とその活用. 513pp, ソフトサイエンス社, 東京.
- (10) 中村克典 (2010) 北上するマツ材線虫病. 森林科学 59 : 35-38.
- (11) OBASE, K., CHA, J.Y., LEE, J.K., LEE, S.Y., LEE, J.H. and CHUN, K.W. (2009) Ectomycorrhizal fungal communities associated with *Pinus thunbergii* in the eastern pine forests of Korea. Mycorrhiza 20 : 39-49.
- (12) 小川 真 (2007) 炭と菌根でよみがえる松. 323pp, 築地書館, 東京.
- (13) PETERSON, R.L., MASSICOTTE, H.B., and MELVILLE, L.H. (2004) Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology. 196pp, CABI Publishing, USA.
- (14) 竹内裕也・松田陽介・伊藤進一郎 (2010) 東海地方の海岸クロマツ林における *Cenococcum geophilum* の出現割合. 中森研 58 : 19-20.
- (15) TANIGUCHI, T., KANZAKI, N., TAMAI, S., YAMANAKA, N., and FUTAI, K. (2007) Does ectomycorrhizal community structure vary along a Japanese black pine (*Pinus thunbergii*) to black locust (*Robinia pseudoacacia*) gradient? New Phytol. 173 : 322-334.
- (16) TEDERSOO, L., NILSSON, R.H., ABARENKOV, K., JAIRUS, T., SADAM, A., SAAR, I., BAHRAM, M., BECHEM, E., CHUYONG, G., and KÖLJALG, U. (2010) 454 Pyrosequencing and Sanger sequencing of tropical mycorrhizal fungi provide similar results but reveal substantial methodological biases. New Phytol. 188 : 291-301.

表-2. 青森県と鹿児島県の海岸クロマツ林における外生菌根の形成率と *Cenococcum geophilum* 菌根の出現割合と出現頻度

調査地 (土壌サンプル数)	総根端数	菌根形成率 (%)	<i>C. geophilum</i> 菌根の出現割合 (%)	<i>C. geophilum</i> 菌根の出現頻度 (%)
青森県 (n=47) *	5209	100	7.6±13.5 ^a	42.6 ^a
鹿児島県 (n=56)	10409	99.9±0.4	57.8±22.8 ^b	100 ^b

菌根形成率, 出現割合のデータは平均値±標準偏差で示した. * 9 サンプルはすべて枯死細根のみであったため, データから除外した. 異なるアルファベットは調査地間で有意差があることを示す. *C. geophilum* 菌根の出現割合は t 検定 ($p < 0.01$), 出現頻度は Fisher の正確有意確率検定 ($p < 0.01$) を行った.

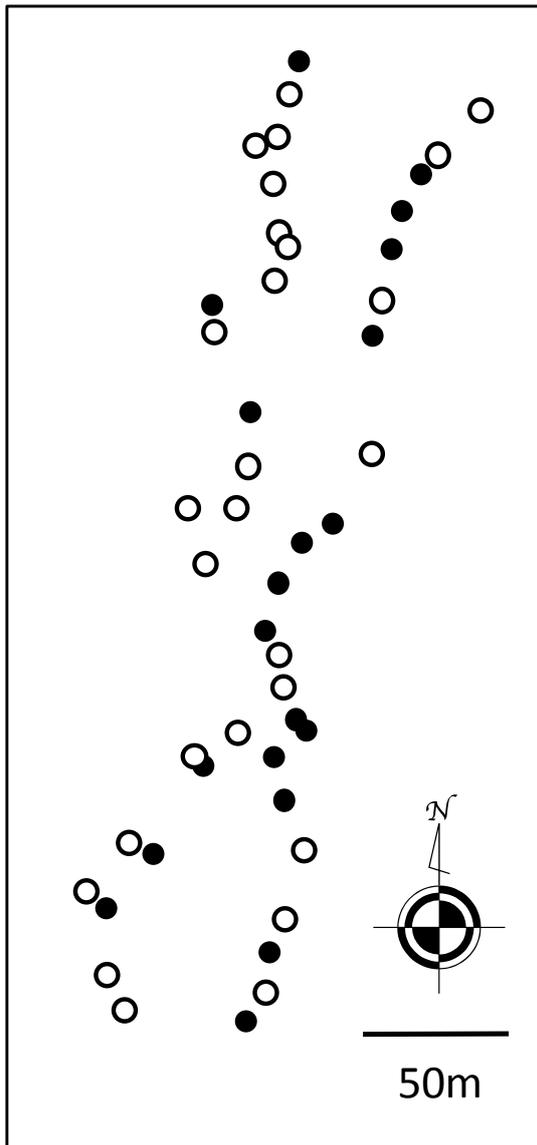


図-2. 青森県の海岸クロマツ林から採取された土壌の採取位置

採取した 56 個の土壌サンプル中, クロマツ菌根が認められたもののみを示し (n=47), ○・●はそれぞれ *Cenococcum geophilum* 菌根を含まなかった, 含んだ土壌サンプルを示す. 調査地の西方 100~200 m に海岸が位置する.

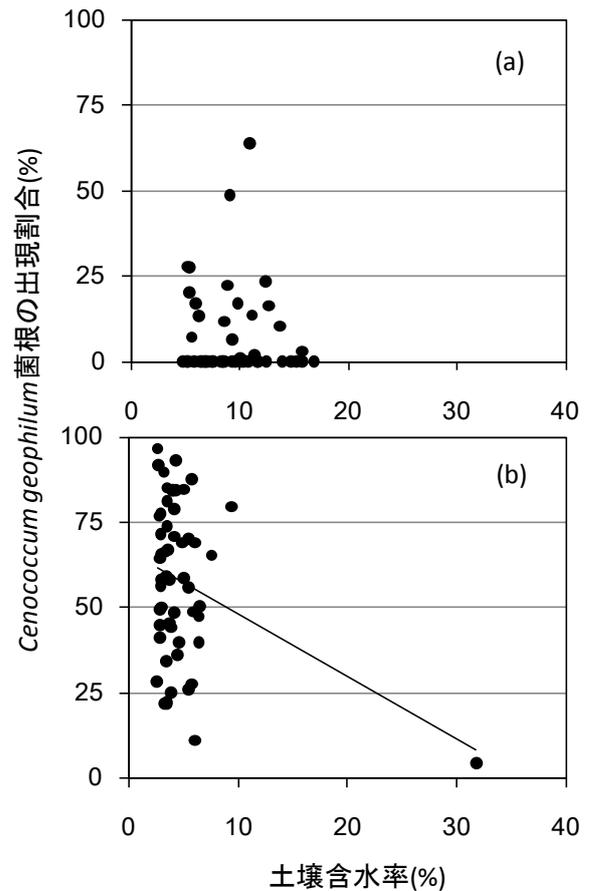


図-3. 青森県 (a) と鹿児島県 (b) の海岸クロマツ林から採取された土壌の含水率と外生菌根に占める *Cenococcum geophilum* の出現割合

鹿児島県の土壌含水率と *C. geophilum* 菌根の出現割合の間には有意な負の相関 ($r = -0.317$, $n = 56$, $p < 0.05$) が認められたが, 最大値 (31.8%) を除くと有意性は認められない ($r = -0.056$, $n = 55$, $p > 0.05$).