

異なる窒素源を加えて培養した時の菌根菌および腐生菌のセシウム吸収量

Accumulation of Cs by mycorrhizal and saprotrophic fungi under the addition of different N sources

小河澄香^{*1}・山中高史^{*2}・赤間慶子^{*2}・田原恒^{*2}・山路恵子^{*1}

Sumika OGO^{*1}, Takashi YAMANAKA^{*2}, Keiko AKAMA^{*2}, Ko TAHARA^{*2} and Keiko YAMAJI^{*1}

* 1 筑波大学

Coll. Agrobiological Resource Sci., Tsukuba Univ., Tsukuba 305-8572

* 2 森林総合研究所

Forestry and Forest Products Research Institute, Tsukuba 308-8687

要旨：2011年3月の福島第一原発事故により放射性物質は各地に拡散した。菌類の子実体に放射性セシウムが高濃度に蓄積することから生態系における放射性セシウムの動態に関わる菌類の役割が大きいことが考えられる。本研究では非放射性セシウムを用いた培養試験を行い、菌類によるセシウムの吸収様式を明らかにした。腐生菌5株と菌根菌11株を、塩化セシウムを1 ppm加えた培地にて約23度で8週間、暗黒条件で培養した。窒素栄養源として塩化アンモニウムまたは硝酸ナトリウムを用いて、セシウム吸収への影響を評価した。培養後、菌の成長量を求め、ICP-MSを用いて菌体内のセシウムを定量した。その結果、硝酸ナトリウムを用いた方が、塩化アンモニウムを用いた場合と比べて、セシウム含量が高かった。また塩化アンモニウムを加えた場合、セシウム含量に菌株間で有意な違いは認められなかつたが、硝酸ナトリウムを加えた場合、ニセショウロ属やツチグリ属菌は他の菌根菌や腐生菌に比べてセシウム含量が高かった。1価のルビジウムをセシウムと同じ濃度で加えると菌による吸収様式は同じ傾向にあったことなどから、セシウム吸収は1価の陽イオンに共通する特性であることが示唆された。

キーワード：菌根菌、セシウム、窒素、培養実験

Abstract: Radionucleotides released after the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant accident were deposited over a wide area of East Japan. Relatively high concentrations of radiocesium were reported in wild mushrooms. Moreover, fungi are considered to play an important role in the dynamics of radio cesium in forest ecosystems. In a laboratory experiment for this study, we examined the uptake of stable Cs by the mycelium of 11 strains of ectomycorrhizal fungi and 5 strains of saprotrophic fungi. The strains were cultured in a synthetic medium containing NH₄Cl or NaNO₃ as a sole N source. Cesium chloride and RbCl were added to the medium at the concentration of 1 ppm, respectively. The mycelia were harvested after culturing for 8 weeks in darkness at 23C. The Cs and Rb in the mycelium were measured by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). Generally Cs uptake in the medium with NaNO₃ was higher than that with NH₄Cl. There was no statistically significant difference in Cs content between the strains when they grew on the medium containing NH₄Cl as the sole N source; however, the Cs of *Scleroderma* and *Astraeus* in the medium with NaNO₃ was higher than that in other mycorrhizal and saprotrophic species. The uptake of Cs might resemble the pattern of Rb. These results suggest that the Cs uptake of fungi might not be element specific.

Keywords: cesium, mycorrhizal fungi, nitrogen, laboratory experiment.

I はじめに

2011年3月に起きた福島第一原発事故によって、放射性物質が拡散した。事故直後には葉や枝など樹幹部に多く分布していた放射性セシウムは、2013年3月にはその多くが土壤表層部に移動していた（4）。菌類の子実体に放射性セシウムが高濃度に蓄積することから

（6），生態系における放射性セシウムの動態に関する菌類の役割は大きい。菌根菌は土壤から養水分を効率的に集めて樹木に供給していることから（3），土壤から樹木への放射性物質の吸収に菌根菌が大きく関わっていることが考えられる。そこで本研究では菌類によるセシウムの吸収様式を明らかにするため、非放射性セシウム

ムを用いた室内実験系での培養試験を行った。

II 材料と方法

1. 菌株 本実験では菌根菌と腐生菌とで比較するために、以下の菌根菌 11 菌株と腐生菌 5 菌株の計 16 菌株を用いた（括弧内には菌株番号を示す）。菌根菌：アカヒダワカフサタケ(610204), ヌメリイグチ(710802), チチアワタケ(710401), コツブタケ(990001), ニセショウロ(981001), コニセショウロ(980824), ホンシメジ(200402), ケショウシメジ(242601), コツチグリ(960201), ツチグリ(960033), ショウロ(950004)。腐生菌：ツキヨタケ(Y21), カオリツムタケ(Y3), ツネノチャダイゴケ(Y4), モリノカレバタケ(Y86), ノウタケ(965005)。

2. 培地の調整 菌の培養には川合・小川培地((3)；以下、KO 培地)を用いた。以下に成分を示す（培地 1 Lあたり）：ブドウ糖 10 g, 酒石酸アンモニウム 1 g, 磷酸 2 水素カリウム 1 g, 硫酸マグネシウム 7 水和物 0.5 g, 塩化カルシウム 2 水和物 0.0555 g, クエン酸鉄 0.001 g, 硫酸亜鉛 7 水和物 0.0044 g, 硫酸マンガン 4 水和物 0.005 g, ニコチン酸 0.0005 g, 葉酸 0.0005 g, チアミン塩酸塩 0.0001 g。

上記培地には、培養中の pH を一定に保つために 2-モルホリノエタンスルホン酸を 50 mM の濃度で加えた。セシウムは塩化セシウムとして、1 ppm の濃度で加え（2）、また、セシウムの、1 倍の陽イオンとしての挙動を評価するため、同じく 1 倍の陽イオンであるルビジウムを塩化ルビジウムとして同じ濃度で添加した。窒素栄養源のセシウム吸収量への影響を調べるために、KO 培地に窒素源として含まれている酒石酸アンモニウムを、塩化アンモニウムまたは硝酸ナトリウムに代えて、10 mM となるように加えた。

培地 pH は、1 規定の塩酸または 1 規定の水酸化ナトリウムを用いて、5.5 に調節した。pH の測定には pH メーター (S220, メトロートレド) を用いた。

pH を調整した KO 培地は、オートクレイブ滅菌に伴う培地成分の沈殿を防ぐために滅菌フィルター (GV 0.22 μm Sterivex, Millipore) を通してろ過滅菌し、200 mL 三角フラスコに 100 mL ずつ分注した。

3. 接種源の作成 接種源は、KO 寒天培地 (1.5% 寒天濃度) で培養して拡がった菌叢の周縁部から、径 6 mm のコルクボーラーで打ち抜いた円盤状寒天片を、上述した KO 培地に接種して、約 23 度で 8 週間、暗黒条件で培養した。各処理について 3 反復で培養した。

4. 分析 培養後、菌体量および菌体内の成分量を測

定した。培養菌体は、メンブレンフィルター (JM 5.0 μm Omnipore, Millipore) を用いて、吸引ろ過して集めた。さらに 20 mL の脱イオン水をフィルター上の菌体に注いで、菌体を洗浄した。洗浄後、濾紙上に残った菌体を集め、チャックつきポリ袋に入れた。この菌体を凍結乾燥させた後、菌体量を求めた。また、培養後の培地 pH も測定した。

乾燥させた菌体は、以下の様に湿式灰化した。絶乾後 50 mL 容のプラスチック製のチューブに入れ、68%硝酸 4 mL を加えて、室温で一晩静置した。その後、蓋を時計皿に変え、110°C に加温して、菌体を分解した。液が少なくなったら、過酸化水素 (30%) 1 mL を加えて、再び液量がわずかになるまで 110°C にて反応させた。その後、超純水で 40 mL にメスアップした。ICP-MS (Agilent 7700, アジレントテクノロジー) を用いて、セシウムおよびルビジウムを定量した。

5. 統計解析 得られたデータは、分散分析によって、菌株間の違いや、窒素源の影響を解析した。菌株間で有意差が認められた場合は Tukey-Kramer の方法を用いて検定した。

III 結果と考察

1. 菌の成長量 アンモニア態窒素を窒素源とする培地の方が、菌は良好に成長した（図-1）。また、多くの菌根菌は硝酸態窒素を窒素源とした場合でも成長した。

2. 菌体のセシウム・ルビジウム吸収量 供試菌のセシウム（図-2）およびルビジウム（図-3）の吸収量は、菌体あたりの吸収量と菌体 1 kg あたりの吸収量によって示した。一部の菌株の成長量がわずかであったため、これらの菌株のセシウムやルビジウムの吸収量のデータは除いて統計解析を行った。腐生菌よりも菌根菌のほうがセシウム吸収量は多かった。また、アンモニア態窒素を含む場合に比べて硝酸態窒素を含む場合の方がセシウム吸収量は多かった。菌株間でのセシウム吸収に関する有意差は、培地にアンモニア態窒素を含む場合は認められなかったが、硝酸態窒素を含む場合は、菌根菌であるニセショウロ属（ニセショウロ、コニセショウロ）やツチグリ属（ツチグリ、コツチグリ）にて、有意に高かった。これらの菌は、表層に腐植の堆積がわずかな裸地において子実体を形成する種（1）であり、このような野外の発生環境の違いとの関係が示唆された。ルビジウムにセシウムと同じように、菌株間や窒素源に関する傾向が見られた。以上のことから、セシウム吸収は 1 倍の陽イオンとしての特性によることが示唆された。

また、菌体あたりの吸収量と菌体 1 kg あたりの吸収量を比較すると、両者に菌株間の吸収の違いに関して明瞭な差は見られなかつた。

IV おわりに

今回の培養試験において、菌根菌や腐生菌のセシウム吸収の特性が明らかになった。とりわけ菌根菌の中には、窒素源の形態よってはセシウム吸収が高くなる種がいることが明らかになった。今後は、これら菌根菌を樹木に接種した感染苗を用いて吸収したセシウムの樹木への移行様式について調査する必要がある。

引用文献

- (1) ARORA, D. (1986) *Mushrooms demystified* (2nd ed.). Ten speed Press, Berkley: 959pp
- (2) HO, QBT., YOSHIDA, S. and SUZUKI, A. (2013) Cesium uptake in mushroom-comparison with coexisting

elements and effect of ammonium ion as a competitor, by laboratory experiments using *Hebeloma vinosophyllum*. Radioisotopes 62 : 125-133

- (3) 川合正允・小川眞 (1976) まつたけの培養に関する研究. 第4報 種菌培養の検討と菌床栽培の試み, 日本菌学会会報 17 : 499-505
- (4) 林野庁 (2014) 林野庁報道発表資料：平成 25 年度森林内の放射性物質の分布状況調査結果について http://www.rinya.maff.go.jp/j/press/ken_sidou/pdf/140401-01.pdf
- (5) SMITH, SE. and READ, DJ. (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd ed. Academic Press, New York : 787pp
- (6) 吉田聰・村松康行 (1996) 菌類と地球環境：地球規模の放射能汚染と菌類. 日本菌学会会報 37 : 25-30

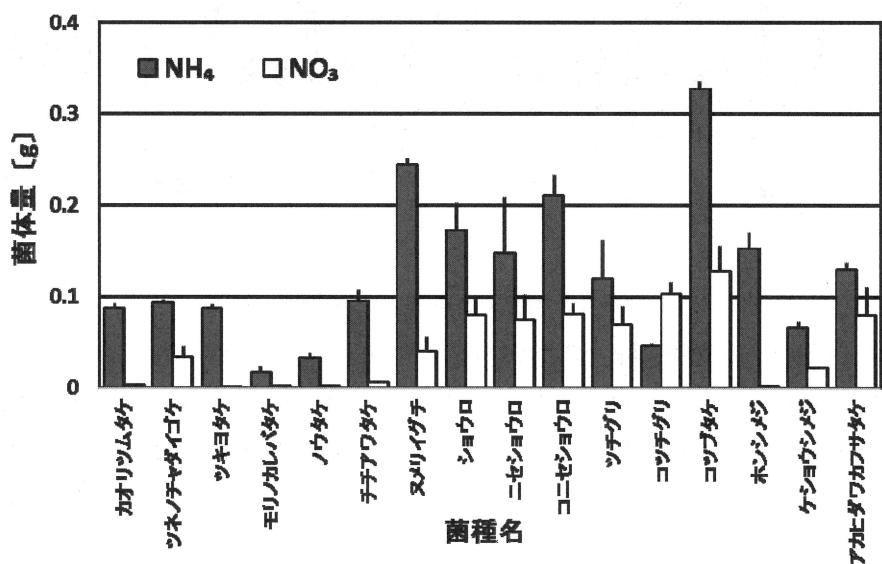


図-1. 菌糸成長量

値は 3 つの繰り返しについての平均値と標準誤差

Fig. 1 Growth of ectomycorrhizal and saprotrophic fungi.

Values are means with standard errors calculated from 3 replicates

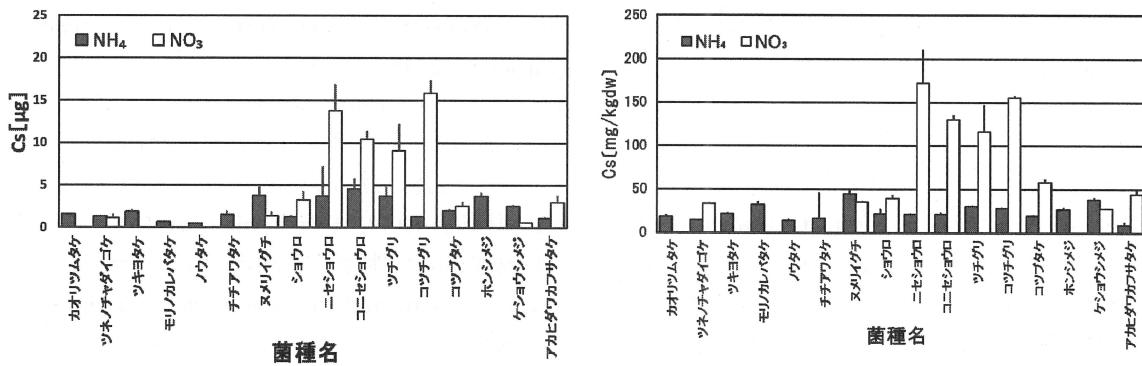


図-2. 菌によるセシウム吸収

左：菌体あたりの吸収量、右：菌体 1 kgあたりの吸収量。値は3つの繰り返しについての平均値と標準誤差

Fig.2 Uptake of Cs by fungi in a laboratory experiment. Left: values were expressed per a fungal biomass; right: values were expressed per a kilogram of dry weight of fungal biomass. Values are means with standard errors calculated from 3 replicates

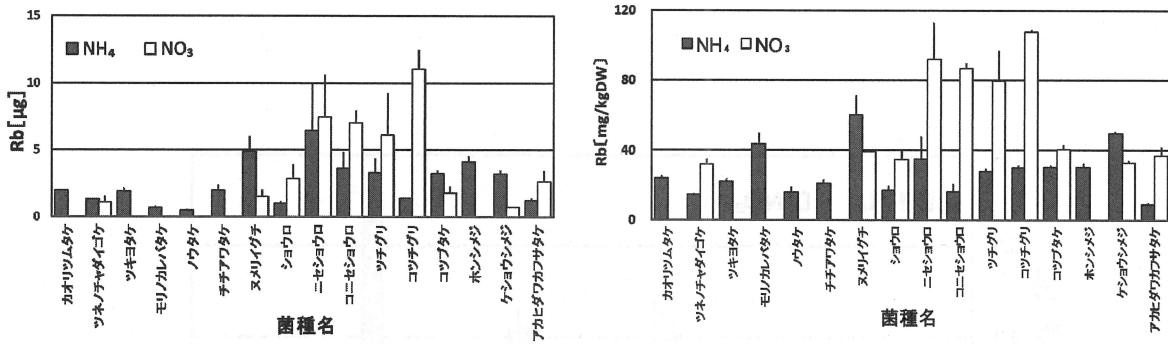


図-3. 菌によるルビジウム吸収

左：菌体あたりの吸収量、右：菌体 1 kgあたりの吸収量。値は3つの繰り返しについての平均値と標準誤差

Fig.3 Uptake of Rb by fungi in a laboratory experiment. Left: values were expressed per a fungal biomass; right: values were expressed per a kilogram of dry weight of fungal biomass. Values are means with standard errors calculated from 3 replicates