

アカマツ実生苗のセシウム吸収に及ぼす菌根菌の影響

Influence of ectomycorrhizal formation on the accumulation of Cs into seedlings of *Pinus densiflora*小河澄香^{*1}・山中高史^{*2}・赤間慶子^{*2}・田原恒^{*2}・長倉淳子^{*2}・山路恵子^{*1}Sumika OGO^{*1}, Takashi YAMANAKA^{*2}, Keiko AKAMA^{*2}, Ko TAHARA^{*2},Junko NAGAKURA^{*2} and Keiko YAMAJI^{*1}

* 1 筑波大学大学院生命環境科学研究科

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：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が報告されており、特に菌根菌は菌根を介して樹木と共生関係を結ぶことから、森林生態系における放射性セシウムの動態に関わる菌根菌の役割は大きい。そこで、今回、根に感染する菌根菌が樹木のセシウム吸収に及ぼす影響を明らかにするため、ツチグリ菌を接種したアカマツ苗に安定セシウム（10 ppm）を添加して、ICP-MSによりセシウム量を測定した。また、地下部は菌根形成の状況を観察した。植物体地上部のセシウム吸収量は、セシウムを添加しない場合に菌の接種による有意な違いが認められており、土壌鉱物からのセシウム溶出に菌根菌が関与している可能性が示唆された。

キーワード：ツチグリ菌，安定セシウム，アカマツ，接種試験

Abstract: Radionuclides 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 radiocesium in forest ecosystems. In order to investigate the role of fungi in the accumulation of Cs from soil to plants, we examined the uptake of stable Cs by *Pinus densiflora* after inoculation with *Astraeus hygrometricus*. There was statistically significant difference in Cs content between inoculated plants and non-inoculated plants when stable Cs was not added to the medium. These results suggest that the mycorrhizal fungi might be able to solubilize Cs fixed in soil.

Keywords: *Astraeus*, stable cesium, *Pinus densiflora*, 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、2014年3月にはその多くが土壌表層部に移動していた(10)。菌類は子実体に放射性セシウムを高濃度に蓄積することから(2)、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は大きい。菌類の中でも、特に菌根菌は、土壌から養分を効率的に集めて樹木に供給していることから(11)、土壌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予想される。菌類によるセシウムの吸収様式を明らかにするため、安定セシウムを用いた室内実験系での培養試験を行った結果、菌根菌は腐生菌と比較して、より多くのセシウムを菌体内に蓄積することがわかった(7)。そこで、本研究では培

養試験で特に高いセシウム吸収能が見られたツチグリ菌を接種したアカマツの菌根菌感染苗のセシウム含量を調べた。まず、土に加える培地の違いによる菌根形成率や植物体の成長量に及ぼす影響を調べ、菌根形成に適した培地条件を検討した。次に、安定セシウムを加えて、菌根菌の感染により植物体が吸収するセシウム量に変化するかを調べた。

II 材料と方法

1. 滅菌土壌の調整 日向土を400 mLずつポリカーボネイト製の連結ボトル(14)に入れ、さらに以下の培地をそれぞれ80 mLずつ加えた：改変Melin-Norkrans培地((6)以下、MMN)、川合・小川培地((5)以下、KO)、太田培地((8)以下、OT)、Hoagland氏液((3)以下、Hoag)、ハイポネ

ックス 500 倍希釈液 (ハイポネックス液 6-10-5, ハイポネックスジャパン, 以下; Hypo)。このうち, MMN, KO, OT については, これまで菌根菌培養用に用いられてきたものであり, 今回, 培地成分から糖を抜いて用いた (12)。また, 対照区として水 (以下; H₂O) を, 用意した。各処理につき 12 反復用意した。培養液を加えた後, オートクレイブ滅菌をした (121°C, 20 分)。

2. アカマツ無菌苗の作成 アカマツ無菌苗は以下の手順で作製した。まず, アカマツ種子 (森林総合研究所実験室林保存種子, 03-124) を流水下に一晚置いた後, 30%過酸化水素液に 15 分浸漬し, 表面殺菌した。滅菌水で洗浄後, 0.85%の素寒天培地上に置いて, 23°Cの照明付き恒温器において発芽させた。発芽した種子は 1 本ずつ, 上述の滅菌土壌に植え, 照明付き育苗棚に置いた。

3. 接種源の作成 接種にはツチグリ菌 (*Astraeus hygrometricus*, 960033) を用いた。菌の培養には太田液体培地 (8) を用い, 滅菌した培地を, 6 穴のマイクロプレート (IWAKI 製) のそれぞれの穴に 5.0 mL ずつ分注し, そこへ川合・小川寒天培地 (1.5%寒天濃度) で培養して広がった菌叢の周縁部から, 縦 1.5 mm×横 1.5 mm×厚さ 3 mm の寒天片を, 1 個ずつ太田培地に接種して, 約 23 度で 28 日間, 暗黒条件で培養した。

4. 菌の接種方法 アカマツ実生を植えてから 1 ヶ月後に, 上述したツチグリ菌を接種した。接種方法としては, 日向土をピンセットで除去して根を露出させ, その上に, マイクロプレートから取りだした菌糸片をそのまま, 根に接するように置き, 日向土をかぶせた。各処理区の半分に菌を接種し, 残り半分の非接種区を対照区とした。

5. セシウムの添加 菌を接種した全ての処理区で菌根が形成されたのをポットの外側から目視で確認した後, セシウムを添加した。各処理区の半分に, 滅菌土壌 400 mL あたり 10 ppm の濃度になるように調整した塩化セシウム溶液を 10 mL 加えた。残り半分の処理区には, 対照として滅菌水を 10 mL 加えた。このとき, 加える溶液が植物体地上部に付着しないように注意した。

6. 分析 セシウムを添加してから 8 週間後に, アカマツ苗を土から掘り取り, 根・葉・茎に分け, 根は菌根形成率 (菌根化した細根数/総細根数×100) を求め, 乾燥重量を測定した。葉と茎についても, 乾燥重量を求めた。これらの値から, S/R 値 (地上部乾燥重量/地下部乾燥重量) を算出した。また, これらの乾燥重量の値を成長量とした。乾燥させた葉・茎は, 湿式灰化したのち, ICP-MS (Agilent 7700, アジレントテクノロジー) を用いて, セシウム量を測定した。

7. 統計解析 得られたデータは, 分散分析によって, 培地の種類や, 菌根の有無がセシウム吸収に与える影響を解析した。培地処理区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. アカマツ苗の成長量 アカマツ苗全体の成長量や根の成長量について菌根菌接種による有意な差が認められなかったが, 地上部の成長量や S/R 値は有意に大きくなった (Tukey-Kramer 法, $P<0.01$) (図一1, 図一2)。菌根菌の接種により, 植物体の地上部成長量が有意に増加する理由として, 根に感染した菌根菌が, 養水分の吸収という根の役割を果たして, 地上部の成長に必要な養水分をより多く吸収したこと (11) や, 菌の感染によって, 植物ホルモンの分泌が促進されたこと (9) が考えられる。

加えた培地による違いでは, 接種区においてアカマツ苗全体の成長量は, Hypo 区が最大, H₂O 区が最小となった。地上部成長量では Hypo 区が, 地下部成長量では MMN 区が, それぞれ最大を示した (図一1)。非接種区においてアカマツ苗全体の成長量は, KO 区が最大, H₂O 区が最小となった (図一1)。地上部成長量では KO 区が, 地下部成長量では MMN 区が, それぞれ最大を示した (図一1)。

セシウムの添加によってアカマツ苗の成長量に有意な差が見られた (図一1)。しかし, この違いは用いた培地の種類や, 菌の接種の有無によってその傾向は異なっていた。石井ら (4) は数種の樹種を寒天培地にて育て 10 ppm のセシウムを添加したところ, いくつかの樹木実生が枯死したという報告があり, 添加したセシウムの濃度が高すぎたために, 植物体に成長阻害がもたらされた報告はある。しかし, セシウムの添加により植物体の成長が促進されたという報告は見受けられない。アカマツ苗の成長量の違いは, セシウム添加以外の他の培養条件の影響によるものと考えられる。

2. 菌根形成率 培地の種類によって菌根形成率は有意に異なった (Tukey-Kramer 法, $P<0.01$)。MMN 区が最も高く (71%), 次いで Hypo 区 (70%) や Hoag 区 (62%) も高い菌根形成率を示した。H₂O 区が最も低かった (39%)。セシウムの添加による菌根形成率の違いは認められなかった。

3. セシウム吸収量 セシウムを添加した場合は, アカマツのセシウム吸収量に菌根菌の接種の有無や加えた培地の違いによる有意差が認められなかったが, セシウムを添加しなかった場合は, アカマツのセシウム吸収

量に菌根菌の接種の有無や加えた培地の違いによる有意差が認められた(図-3)。菌根菌を接種したアカマツの方が、非接種のアカマツよりセシウムを多く吸収した。セシウム非添加区におけるセシウム吸収は、KO区が最も高く、以下OT区、Hypo区、MMN区、Hoag区、H₂O区の順に高く、KO区とH₂O区の間には、有意差(5%)が認められた。

セシウム非添加区のみ菌根菌接種によるセシウム吸収量に有意差が認められた理由として、セシウム添加区とセシウム非添加区におけるセシウムの存在形態の違いが関係していると考えられる。本実験で用いた日向土には、6 ppmのセシウム(QUYEN HO, 未発表データ)が含まれているが、これらは不動態として存在している。植物は不動態のセシウムを容易に吸収することができない(13)。対して、菌根菌は様々な酵素や有機酸を分泌して、土壤鉱物を溶かす機能を有しているため(11)、不動態のセシウムを遊離して吸収し、これを樹木の方に転送されたことが考えられる。可給態のセシウムは菌だけでなく植物も吸収することができるので、セシウム添加区では菌根菌の接種によってアカマツのセシウム吸収は有意に変化しなかった。本結果から、菌根菌は土壤に固く結びついた不動態セシウムの溶出に関与していると考えられる。

IV おわりに

今回の接種試験において、土壤鉱物からのセシウムの溶出に、菌根菌が関与している可能性が示唆された。また、菌根形成率やアカマツ苗の成長量、セシウム吸収量は、MMN培地またはハイポネックス溶液を栄養源として添加した場合、良好であった。本結果は山田・前田(12)によるマツタケ菌根苗作出における栄養条件の検討においてMMN培地が菌根感染苗作製に最適であったという結果と一致した。今後は、これら菌根菌を用いて土壤に固着したセシウムの吸収様式について調査する必要がある。

引用文献

(1) ARORA, D. (1979) *Mushrooms demystified*. Ten speed Press, Berkley: 959 pp
 (2) HO, Q. B. T., 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) HOAGLAND, D. R. and ARNON, D. I. (1938) The water-culture method for growing plants without soil. *Univ. Calif Agr Exp Stat Circ* **347**: 1-39

(4) 石井克明・小長谷賢一・高田直樹・谷口亨・木村穰 (2012) 樹木によるセシウムの吸収特性. *関東森林研究* **63**(1): 73-76

(5) 川合正允・小川真 (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

(6) MARK, D. H. (1969) The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria, *Phytopathology* **59**: 153-163

(7) 小河澄香・山中高史・赤間慶子・田原恒・山路恵子 (2015) 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. *関東森林研究* **66**(2): 155-158

(8) OHTA, A. (1990) A new medium for mycelial growth of mycorrhizal fungi. *日本菌学会会報* **31**: 323-334

(9) RAI, M. and VARMA, A. (2011) *Diversity and Biotechnology of Ectomycorrhizae*. Springer, London: 376-377

(10) 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

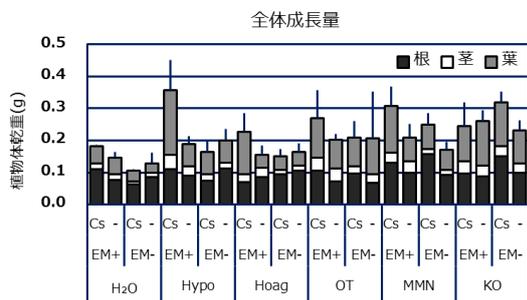
(11) SMITH, S. E. and READ, D. (2008) *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd ed. Academic Press, New York: 787 pp

(12) 山田明義・前田頌 (1999) マツタケ菌根苗作出における栄養条件の検討. 第110回日本林学会大会 学術講演集: 878-879

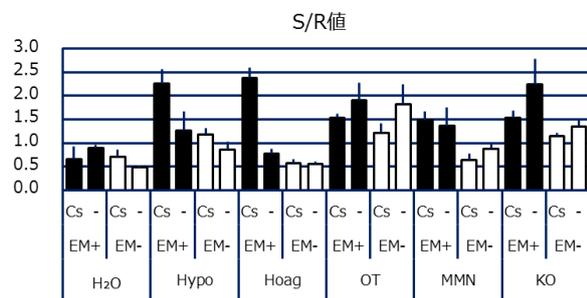
(13) 山口紀子・高田裕介・林健太郎・石川覚・倉俣正人・江口定夫・吉川省子・坂口敦・朝田景・和穎朗太・牧野知之・赤羽幾子・平舘俊太郎 (2012) 土壤-植物系における放射性セシウムの挙動とその変動要因. *農業環境研究所会報* **31**: 75-129

(14) YAMANAKA, T., MARUYAMA, T., YAMADA, A., YAMAZAKI, A. and KIKUCHI, T. (2012) Ectomycorrhizal formation on regenerated somatic pine plants after inoculation with *Tricholoma matsutake*. *Mushroom Sci. Biotech.* **20**: 93-97

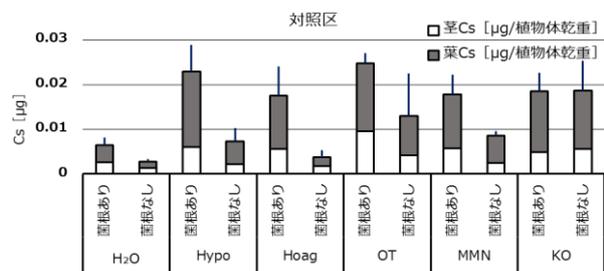
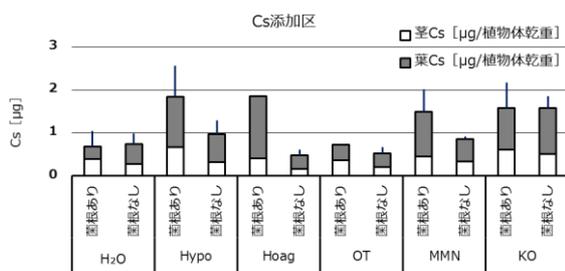
(15) 吉田聡・村松康行 (1996) 菌類と地球環境:



図一 1. アカマツ苗の成長量に及ぼす培地, 菌根菌接種およびセシウム添加の影響. 値は3反復の平均値と標準誤差. Cs, セシウム添加区; -, セシウム非添加区; EM+, 菌根菌接種区; EM-, 菌根菌非接種区. H₂O区およびHoag区にて, 菌根菌を接種 (EM+) したのちセシウムを添加した処理 (Cs+) では反復は2である
Fig. 1 Effect of medium, Cs addition and the inoculation of mycorrhizal fungus on the growth of plants. Values are means with standard errors calculated from 3 replicates except that replicates with EM and Cs in H₂O and Hoag were 2, respectively.



図一 2. アカマツ苗の S/R 値に対するに及ぼす培地, 菌根菌接種およびセシウム添加の影響. 図の説明は図一 1 に同じ
Fig. 2 Effect of medium, Cs addition and the inoculation of mycorrhizal fungus on the ratio of shoot to root. See Fig. 1 about explanation of figure.



図一 3. 植物体のセシウム吸収に及ぼす培地, 菌根菌接種およびセシウム添加の影響. 左: セシウム添加区. 右: セシウム非添加区. 値は植物体あたりのセシウム量である. 値は, 3反復についての平均値と標準誤差である. 左図において, H₂O 区の菌根菌接種処理の反復は 2, Hoag 区の菌根菌接種処理の反復は 1 である
Fig. 3 Effect of medium, Cs addition and the inoculation of mycorrhizal fungus on the uptake of Cs by plants. Data were Cs content per a plant. Left, CsCl (10 ppm) was added to plant; right, no CsCl was added to plant. Values were means with standard errors calculated from 3 replicates, except that replicates on plants with EM in H₂O and Hoag were 2 and 1, respectively.