

カリヤスのリター分解における菌類群集に関する研究

折戸 咲子 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 廣田 充 (筑波大学 生命環境系)

【背景と目的】

菌類は有機物を分解し無機化する主要な分解者であり、その中でも一部の糸状菌は難分解性の物質であり植物の構成成分であるリグニンなどの物質の分解能力をもつ (Geethanjali & Jayashanker 2016)。そのため菌類の有機物の分解能力の把握は、陸域の物質循環プロセスを理解するうえで欠かせない。菌類は、自然環境下、すなわち森林や草原にある落葉や枯れ枝の分解を担っているが、それだけでなく人為的な環境下に置かれた有機物の分解も担っている。例えば、かつての日本の里山の原風景の一つである木造の古民家も分解にも関わっている。特にそういった古民家の屋根は、カリヤス等の高茎草本を農資源として用いた茅葺き屋根となっており、茅葺き屋根は、菌類の分解によって徐々に劣化している (Klaus et al. 2016)。菌類にはこのような側面もあるものの、このような人為的な環境におかれた有機物そのものが、菌類群集の多様性の維持に重要な役割がある可能性もある。しかしながら、日本国内ではこういった茅葺き屋根の材における菌類群集を調べた研究は殆ど存在しない。そこで、私はこの日本において実際に茅葺き屋根の材料として使用されているカリヤスという植物を対象に、particle filtration methods (Bills et al. 2004)を用いて、人為的な影響により形成され、かつ特殊な状況にある屋根材における菌類群集を明らかにすることを目的として調査を行った。加えて、それぞれの菌類のセルロース分解能の有無、水ストレス下でのセルロース分解能の有無などを調査した。

【材料】

長野県北安曇郡小谷村郷土館の茅葺き屋根にて 2018 年 8 月まで葺かれていたカリヤス (*Miscanthus tinctorius*) を用いて、実験を行った。この屋根に葺かれたカヤのうち、葺き替え直前まで屋根の表面に切り口が露出していたもの 1 種、捨て茅として屋根の内部に存在していたものうち葺いた時期の異なるもの 2 種の計 3 種類を対象に菌類群集の評価を行った。この捨て茅とは、葺き替えの際にそれ以前に葺かれていたカヤを屋根の内部に入れることにより、屋根の形状の維持や厚みの確保のために再利用されるカヤの名称である。これにより今回実験に使用する捨て茅のうち古い時期の捨て茅はおおよそ 75 年前に、もう一方の時期の捨て茅は 50 年前に屋根に葺かれたと考えられ、そしてこれら 2 種の捨て茅は、室内にて囲炉裏が使用されていたためカヤ表面に煤が付着している状態である。またカヤのうち屋根の表面に露出していた根元の部分は変色しており、この部位は日光や降雨の影響が大きく屋根の内部に存在していたカヤとは環境が異なっていた可能性がある。そのため、3 種の時期のカヤそれぞれにおいて、屋根の内部に存在していた部分と屋根の表面に露出していた部分を分け、菌類の単離を行った。

【方法】

菌類の単離

3 種のカヤを 2 日間以上風乾させた後、細かく粉碎した。その

後電動の篩にかけ、105 μm - 250 μm の粒径の試料を回収した (Bills et al. 2004)。界面活性剤溶液と滅菌水で洗浄後、アガー溶液を用いて 100 倍、200 倍、300 倍の濃度に希釈した試料溶液を作成した。48 穴のウェルプレートに試料溶液と麦芽液体培地を入れたものを各濃度につき 1 枚ずつ作成し、暗所・25°C にて培養した。1 週間後、1 つのウェルに 1 種の菌糸状コロニーが出ているもののみを選択し、斜面培地に単離した。単離培養後、コロニー形態から別種と思われる個体を菌株とした。

菌類からの DNA の抽出、シーケンス、OTU 作成

3 種の各時期のカヤにおいて先端部と内部に分けた計 6 つのカヤについて、133 株の菌類を単離した。各コロニー形態から巨視的に重複していると思われるものを省き、残った 53 株の菌株について DNA のシーケンスを行い、それをもとに OTU を作成した。

単離した菌株を用いた生理特性実験

単離された菌のセルロース分解能を明らかにするため、セルロース分解能実験を行った。C 源をカルボキシメチルセルロースに置き換えた培地を作成し、滅菌ポリカーボネート膜上に全菌株を接種した。培養後 0.1 % Congo red にて染色し、洗浄後に脱色を示したものを、セルロース分解能をもつ菌株とした (Maijala et al. 1991)。加えて水ストレスを想定した実験系を作成し、同様の方法にてセルロース分解能を確認した。

【結果と考察】

単離された菌類はカヤの葺かれていた時期により菌の出現に差があり、カヤの時期が新しくなるにつれて確認された菌の数は多くなった。最も新しい時期のカヤのうち屋根の表面に露出していた先端部位は最も多くの菌が確認され、これは降雨などにより他のカヤよりも水分条件が良く菌類が生息しやすい環境であったことが要因と推察された。

【引用文献】

- Bills G. F. et al., 2004. Saprobic soil fungi, *Biodiversity of fungi, inventory and monitoring methods*, p. 271–302.
- Klaus H. et al., 2016, The key role of lignin decomposing fungi in the decay of roofs thatched with water reed. *Mycol Progress*,
- P. A. Geethanjali and M. Jayashanker, 2016, A Review on Litter Decomposition by Soil Fungal Community, *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* Vol 11, P1-3
- P. Maijala et al. 1991. Detection of extracellular cellulolytic and proteolytic activity in ectomycorrhizal fungi and *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. *New Phytol*, 643-648