

アカマツ林土壌における糸状菌の分布に関する研究

第1報 一土壌断面における糸状菌の垂直分布

石 井 弘

Hiroshi ISHII

Studies on the Distribution of Micro-fungi in Pine Forest Soil.

1. Vertical Distribution in a Soil Profile.

まえがき

希釈平板法 (Dilution plate method) を用いて行なわれた、これまでの森林土壌における糸状菌の分布に関する研究では、樹種、土壌型などによる分布の違いについて、大地域的 (Macro-habitats) な調査が行なわれているが、そのような macro-habitats について調査する場合は、一つの優占樹種によって代表される林分の土壌を単位として取扱われ、その林分内の micro-habitats は考慮されない。

最近、洗浄法を用いて糸状菌の micro-habitats についての研究が進められつつあるが、希釈平板法で、洗浄法によるような micro-habitats の研究はできないし、また適当な方法でもないが、この方法を用いる場合でも、これまでの大地域的な研究ばかりでなく、小地域的に一つの森林内に見いだされるいろいろな棲息場所で糸状菌がどのような分布をしているかを知ることが、macro-habitats の調査結果を解釈するうえにも、また希釈平板法を使って研究する場合に、どのようなサンプリングの方法をとるかを考えるうえでも必要なことであろう。

そこで筆者は、小地域的な糸状菌分布の一つとして、松江地方のアカマツ林を対象に、土壌中における垂直分布について調査を行なっているが、小地域内でも多数の因子が複雑に作用して糸状菌の分布を支配しているのので、同じ場所で調査しても、わずかな位置および時間の違いによって、現われる菌の数量・種類にかなりの変動がみられる。その多数の因子を解析して、そのような変動を左右している因子をつきとめることは、現在の土壌菌学の知識では困難なので、得られた個々のデータをどのように判断するかはむづかしい。

この報告では、このように変動の大きいデータによ

て糸状菌の垂直分布を論議する手段として、一つの基準を設ける目的で、アカマツ林で一つの土壌断面について調べた結果から、分離されたそれぞれの種の垂直分布のしかたを検討して、いくつかの垂直分布型に分類することを試みた。

試料採取方法

島根県松江市、島根農科大学大角山実験林内の約50年生のアカマツ林で試料を採取した。

樹高約12m、疎密度は中程度で、下層植生はコナラ、ネズミモチ、ゴンゼツ、タカノツメ、クロキ、ザイフリボク、ネジキ、ヒサカキ、ゴキダケ、ウラジロシダなどがかなり多い。

有機物層は厚さ4~7cmで、一般にF層が最も厚く(2~3cm)、H層は薄く(1~2cm)、部分的に厚いM層(β型)(2~3cm)を形成する所ではH層を欠いていた。土壌型はBB型で腐植の滲透はわるく、A層は認められず部分的に黒い腐植の固まりがみられる程度であった。

実験施設の関係から、一断面を同時に調査できなかったので、有機物層と鋤質土層を別々に調べた。前者は1965年12月21日に、後者は1966年2月7日にそれぞれ試料を採取し糸状菌の分離を行なった。

層わけの方法は、有機物層は従来から行なわれているL、F、Hの3層に区分した。L層はその年の新しい落葉と古い落葉の2層にわけ、L₁、L₂層とした。それぞれの層の特徴を知る必要があるのので、層の移り変わるような部分をさけて試料を採取した。鋤質土層における微生物の垂直分布を調べる場合、これまで層位による区分を行なってそれぞれの層から試料を採取するか、あるいは一定の深さごとに試料を採取する方法がとられているが、ここでは菌数の減少が著しい表層土での垂直分布を明らかにする目的で、土壌断面を作り、ほとんど層に変化

のみられないB₁層を0~4 cm, 4~8 cm, 8~12 cm, 12~16 cmと4 cm間隔に区切り, それぞれの部分で全面から均等に採土してよく混合し, その深さの間の試料とした。採取した試料は直ちに実験室に持ち帰って糸状菌の分離を行なった。

糸状菌分離方法

希釈平板法で常法通りに分離を行なった。試料の量は10 gとし, 振盪は振盪器により10分間行なった。希釈度は有機物層では $\frac{1}{12,000}$, 鈦質土層では0~4 cmの試料を $\frac{1}{4,000}$, 4~8 cm, 8~12 cmの試料は $\frac{1}{2,000}$, 12~16 cmの試料は $\frac{1}{1,000}$ とした。rose bengal, streptomycinを加えた peptone-dextrose 培養基を用い, 1試料につき8枚のプレートを使用した。26°Cで3日間培養後, 発生したコロニー数を算へ, 以後培養を続けて同定を行

なった。発生したコロニーはプレートを光源に照して識別できるものはすべて算へて記録した。

種名の確定には詳細な比較検討を行なう必要があるもので, とりあえず記号によって記載し, プレート上の形態を検鏡するだけで容易に種の区別ができないものは属単位で一括した。培養後10日を経過しても孢子の形成がみられないコロニーは, 形態的になんらかの特徴があり, 明らかに他のコロニーと別種であることが認められるものはその一部のコロニーを別に培養して孢子の形成をまけて分類し, それ以外は菌糸の色により, 白色菌 (Hyaline sterile mycelium), 暗色菌 (Dark sterile mycelium) に大わけして一括した。また生長が遅くて同定できるまでに他の菌に被圧されたもの, および最初コロニーの発生が認められてもその後全く生長しないで死

TABLE 1. Distribution of fungi isolated from layers of pine leaf litter.

Species	L ₁		L ₂		F		H	
	Nos.※	%	Nos.	%	Nos.	%	Nos.	%
<i>Absidia sp. 1</i>							6	0.2
<i>Mucor ramannianus</i>	3	1.5	60	6.5	64	2.4	1033	33.8
<i>Mucor spp.</i>			6	0.6				
<i>Mortierella spp.</i>							12	0.4
<i>Mortierella sp. P</i>							6	0.2
<i>Cunninghamella sp.</i>					7	0.3	6	0.2
<i>Chaetomium sp.</i>			6	0.6				
Sphaeropsidales (sp. 1)	46	20.3						
(sp. 2)	42	18.8						
(sp. 3)			96	10.3				
(sp. 4)	7	2.9	60	6.5	7	0.3		
Basidiomycetes	3	1.5						
<i>Pestalotia sp.</i>	13	5.8	18	1.9				
<i>Trichoderma viride</i>			258	27.7	507	19.1	58	1.9
<i>Cephalosporium sp. W1.</i>			48	5.2	721	27.2	254	8.3
<i>Penicillium spp.</i>			60	6.5	443	16.7	981	32.1
<i>Acrostalagmus spp.</i>					7	0.3		
<i>Papularia spp.</i>	23	10.1	132	14.2	7	0.3		
<i>Bisporomyces sp.</i>			12	1.3	50	1.9		
<i>Nigrospora sp.</i>			6	0.6				
<i>Cladosporium sp.</i>	3	1.5						
Hyaline sterile mycelium	10	4.4						
Dark sterile mycelium	65	29.0	6	0.6			17	0.6
Suppressed by others	10	4.4	162	17.4	842	31.7	687	22.5
Total numbers	225		930		2657		3060	

※ ×10³, per g of dry organic matter.

TABLE 2. Vertical distribution of fungi in pine forest soil.

Species	Depth (cm)							
	0-4		4-8		8-12		12-16	
	Nos.※	%	Nos.	%	Nos.	%	Nos.	%
<i>Absidia</i> sp. 1	2.1	1.2			0.3	0.8	0.2	0.6
<i>Mucor ramannianus</i>	48.7	28.6	7.2	16.8	3.0	8.5	1.7	5.3
<i>Mortierella</i> spp.	2.7	1.6	1.0	2.3				
<i>Mortierella</i> sp. P.	47.3	27.8	11.7	27.3	4.3	12.1	2.9	9.1
<i>Trichoderma viride</i>	2.7	1.6	2.6	6.1	1.3	3.7	5.9	18.6
<i>Cephalosporium</i> sp. W1.	1.4	0.8	0.3	0.7	1.7	4.8	2.0	6.3
<i>Aspergillus</i> sp. B.	17.1	10.1	3.3	7.7	2.7	7.6	0.2	0.6
<i>Penicillium</i> spp.	9.0	5.3	1.4	3.3	3.6	10.2	2.2	6.9
<i>Gliocladium roseum</i>							0.2	0.6
<i>Spicaria</i> sp. 1.			2.0	4.7	10.3	29.1	9.5	30.0
<i>Spicaria</i> sp. 5.	0.7	0.4						
<i>Bisporomyces</i> sp.	0.7	0.4			0.3	0.8		
Dematiaceae (sp. 3)	23.3	13.7	6.2	14.5	1.0	2.8	0.5	1.6
Hyaline sterile mycelium	1.4	0.8						
Dark sterile mycelium	0.7	0.4			1.3	3.7	0.2	0.6
Not identified (sp. 5)					0.3	0.8	0.2	0.6
Suppressed by others	12.1	7.2	7.2	16.8	5.0	14.1	6.0	19.6
Total numbers	169.9		42.9		35.1		31.7	

※× 10³, per g. of dry soil.

滅したものは一括して Suppressed by others (表1, 2参照) に示した。

各菌の数量は常法通り、絶乾試料1g当りの数量に計算した。

結 果・考 察

それぞれの層および深さから糸状菌を分離した結果は第1表, 第2表に示した。

希釈平板法によって分離された糸状菌数は、普通絶乾土壌1g当りの数で表わされているが、森林土壌における有機物層と鉍質土層のように全く質の異なるものを、この重量単位だけで比較することは問題があり、容積単位でも比較する必要があると思われるが、今回は従来通りのサンプリングを行なったため容積重が求められないので、重量単位だけで比較を行なった。

総菌数はこれまでの多くの報告と同じく、A₀層に最も多く、深さが増すほど減少する。A₀層では、L₁<L₂<F<Hと分解の進んだ下層ほど多くなる。PARKINSON and COUPS⁽¹⁾が酸素の吸収量を測定して、A₀層における微生物の活性を調べた結果、L>F₁>F₂>

Hと上層ほど活性の高いことを報告しているが、これらの事実からみても従来よく行なわれているような希釈平板法によって得られた数量でその活性を論じることには疑問がある。

種類構成についてみると、各層および深さで現われる種にかなり違いがあり、一つの種についてみてもそれぞれその数量に変化がある。

いま、層および深さによる分布の違いを明らかにするため、それぞれの層で総菌数の10%以上を占める種をその層の優占種として掲げると、第3表のようである。この表わし方によってもそれぞれの層で分布が違うことは明らかであるが、この方法では、数量の少ない種はたとえ分布に特徴があっても見落とされてしまう。また一つの種の数量が異常に多いところではやはり他の種が無視されてしまう。

これまでの森林土壌における糸状菌の分布についての研究で、*Trichoderma*, *Penicillium*, *Mucor* など数種の菌の分布に論議が集中され、糸状菌の分布が普遍的であるという見方が強いのは、このような出現度の高い、また数の多い種のみ注目し、それ以外の種が現われて

TABLE 3. Dominant fungi in each layer.

L ₁	L ₂	F	H
Dark sterile mycelium	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Cephalosporium sp.</i> W1	<i>Mucor ramannianus</i>
Sphaeropsidales (sp. 1)	<i>Papularia spp.</i>	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Penicillium spp.</i>
Sphaeropsidales (sp. 2)	Sphaeropsidales (sp. 3)	<i>Penicillium spp.</i>	
<i>Papularia spp.</i>			
0 - 4	4 - 8	8 - 12	12 - 16
<i>Mucor ramannianus</i>	<i>Mortierella sp.</i> P	<i>Spicaria sp.</i> 1	<i>Spicaria sp.</i> 1
<i>Mortierella sp.</i> P	<i>Mucor ramannianus</i>	<i>Mortierella sp.</i> P	<i>Trichoderma viride</i>
Dematiaceae (sp. 3)	Dematiaceae (sp. 3)	<i>Penicillium spp.</i>	
<i>Aspergillus sp.</i> B			

TABLE 4. Patterns of vertical distribution of fungi in pine forest soil.

TYPE 1. Species which appear only in upper layers of A ₀ (L layer).			
PHYCOMYCETES	<i>Mucor spp.</i>	ASCOMYCETES	<i>Chaetomium sp.</i>
BASIDIOMYCETES	(sp.)		
FUNGI IMPERFECTI			
SPHAEROPSIDALES	(sp. 1-4)	MELANCONIALES	<i>Pestalotia sp.</i>
DEMATIACEAE	<i>Papularia spp.</i> , <i>Nigrospora sp.</i> , <i>Cladosporium sp.</i>		
TYPE 2. Species which have maxima at lower layers of A ₀ (F, H layer) and decrease with increasing depth.			
PHYCOMYCETES	<i>Absidia sp.</i> 1, <i>Mucor ramannianus</i> , <i>Mortierella spp.</i> , <i>Cunninghamella sp.</i>		
FUNGI IMPERFECTI			
MONILIACEAE	<i>Trichoderma viride</i> , <i>Cephalosporium sp.</i> W1, <i>Penicillium spp.</i> , <i>Acrostalagmus spp.</i>		
DEMATIACEAE	<i>Bisporomyces sp.</i>		
TYPE 3. Species which have maxima at surface of mineral soil and decrease with increasing depth.			
PHYCOMYCETES	<i>Mortierella sp.</i> P,		
FUNGI IMPERFECTI			
MONILIACEAE	<i>Aspergillus sp.</i> B, <i>Spicaria sp.</i> 5		
DEMATIACEAE	(sp. 3)		
TYPE 4. Species which have maxima at lower depths in mineral soil.			
FUNGI IMPERFECTI			
MONILIACEAE	<i>Spicaria sp.</i> 1, <i>Gliocladium roseum</i>		
Not identified	(sp. 5)		

もほとんど考慮されなかったことも一つの原因であろう。

そこで、分離されたすべての種を含めて断面における分布のしかたを類型化してみる必要がある。

一つ一つの種について、その数量が最大値を示す層とその層の上下における分布とを基準にして次のような四つの型が考えられる。

I型：L層で最大値を示し、下層へいくほど減少し、
鉍質土層にはみられないもの。

II型：L層に少なく、F～H層で最大値を示し、以下
深さが増すほど減少するもの。

III型：H層にわずかに現われるか、または現われず、
鉍質土層の最表層で最大値を示し、以下深さと
ともに減少するもの。

IV型：A₀層に見られず、鉍質土層のある深さで最大
値を示すもの。

この分類では、I型でL₁層とL₂層を区別せず一括し、II型ではF層とH層を一括したが、もしそれぞれをわけるとさらに二つの型が考えられるが、あまり細かく分類すると広く他の例に適用することがむづかしくなる恐れがあるので上記の程度にとどめた。

それぞれの型に属する種を第4表に示した。ある層にごく少数だけ分離された種は偶然性によることが多いので、この型にはめるのは危険であり、また各層によって希積度が異なるので、プレート上に現われる最低値が異なり、希積度の低い鉍質土層にだけ現われた種を、A₀層に存在しなかったと考えるのは誤りであるが、現在の希積平板法では止むをえないので、とりあえずそれぞれの型にあてはめた。今後、資料の集積をまって所属する種を変更する必要があるであろう。

各型に属する種をみると、I型には Moniliaceae に属する種がみられず、Sphaeropsidales や Melanconiales の *Pestalotia* のように植物体からしばしば記録されている種が多い。またこの型に属するものは、垂直的に分布範囲が狭く、種によって違いはあるがA₀層の下層でさえほとんどみられない。おそらく、土壌棲息種 (soil inhabitant) というよりも土壌侵入種 (soil invader) に属するものが多く、腐生能力 (saprophytic ability) が弱いために土壌中には長く存在できず消滅してしまうものであろう。Dematiaceae に属する種もこの型に入るものが多いが、多くはそのような種ではないかと思われる。有機物の分解過程における糸状菌の遷移で、最初に現われる糖類糸状菌 (sugar fungi) に属する *Mucor*、セルロース分解菌である *Chaetomium* がこの型に属するのは、落葉の分解過程と糸状菌の関係を

うで興味のある事実であるが、分離された数量が少ないので、さらに検討する必要がある。希積平板法では担子菌類が分離されず、この方法の一つの大きな欠点とされているが、ここでは担子菌の特徴である clump connection をもつ菌が一つ現われた。なお Dark sterile mycelium として一括したものの多くは、その後の培養結果により Sphaeropsidales に属することが判明し、おそらくI型に属するものが多いと思われるが、種の区別を行なわなかったので一応除外した。

II型に属するものは、垂直的に分布が最も広く、またこれまで希積平板法によってよく分離され、水平的にも普遍的に分布するとみられている種が多い。これまでの森林土壌における研究が、多くはF～H層と表層土について調査されているので当然のことであろう。Dematiaceae に属する *Bisporomyces* がこの型にはいるが、この種はこれまでの土壌糸状菌のリストにはあまりみられないが^(2,3)、筆者のこれまでの調査では多くの森林で普遍的に分布している。この種は希積平板法によって糸状菌を分離するのに使われる培養基上では成長が遅く、多くの場合見落とされていたのではないかと思われる。

以上のI型、II型の分布型式は、洗浄法による microhabitats の研究結果からみても正しいように思われる。*Pinus sylvestris* の有機物層で、KENDRICK⁽⁵⁾ は Ascomycetes に属する *Antennularia spp.*、Sphaeropsidales に属する *Fusicoccum bacillare* がL層で最も多く下層へいくほど少なくなるの⁽⁶⁾にたいして、*Trichoderma viride*、*Penicillium spp.* がF₂層で最も多いことを報告している。WARD⁽⁶⁾が Corsican pine の有機物層を調べた結果では、Sphaeropsidales に属する *Phoma spp.*、Ascomycetes の種、Dematiaceae に属する *Pullularia pullulans*、Dark sterile mycelium などがL層に最も多く、Mucorales、*Cephalosporium spp.*、*Trichoderma viride*、*Penicillium spp.* がF～H層で最も多かった。

III型、IV型に属する種は、水平的な分布が不規則で、ある場所に限って分布しているようである。*Mortierella sp. P*⁽⁷⁾ は筆者のこれまでの調査ではアカマツ林に多く、広葉樹林にもかなり分布し、アカマツ以外の針葉樹林ではごく少ないか全くみられない。安藤は種々の森林土壌を調べた結果、コジイ林のみから多く分離されたと報告している。*Aspergillus sp. B* は安藤が⁽⁸⁾*Aspergillus Kanagawaensis* として記録している種と同種である

※ この種は安藤の種と同一種であることが確認されたので、同じ記号で表わした。

が、同じ林内でも分離されないことが多く、彼がこの種の出現頻度が大きであるとしているのと一致しないように思われる。Dematiaceae sp. 3 は松江地方のアカマツ林でも分布が限られており、他の地域ではまったくみられなかった。Spicaria sp. 1は広島県下のアカマツ林、京都市内の広葉樹林でもみられたが、やはり分布は限られているようである。所属不明の Not identified sp. 5 は松江地方のアカマツ林ではかなりよく現われるが、他の地域ではみられない。この種は培地上に菌糸をほとんど伸ばさず、培地中に伸長していくという特徴をもっているが今後の研究が必要である。以上の種のほか、Ⅲ型に Spicaria sp. 5, Ⅳ型に Gliocladium roseum が属するが、これらは他の調査結果からみて、正しいとは思われないので今後検討する。

WILLIAMS は洗浄法によって *Pinus sylvestris* の生育するポドソル土壌の層位による糸状菌の分布を調べ、Ⅳ型のようにある深さの所で出現度の最大を示す種として *Mucor ramannianus*, *Phialophora* sp., *Trichoderma album*, *Paecilomyces* sp., *Oidiendron fuscum* を掲げている。ポドソル土壌のように層位の変化の顕著な土壌、あるいはこの研究のように深さ16cm程度まででなく、さらに深く調べていくとこのような種が多く見いだされるかもしれない。

これまで土壌中における糸状菌の垂直分布を支配する因子として、土壌中の可給態有機物量⁽¹⁰⁾、炭酸ガスおよび酸素濃度、pH⁽¹²⁾などが研究され、また水分による胞子の移動が種によって異なることが知られているが、このような多数の因子が作用して個々の種の垂直分布が決定されるものと考えられる。したがって、上述したような分布型とそれぞれに属する種の構成は、これら多数の因子の総合的な作用の結果みられるもので、場所、時間によってこれらの因子の一つ一つの重みが変わるとそれに伴って当然変化するであろう。

従来、土壌から糸状菌を分離して得られたデータを判断するのにこれといて確かな方法がなく、一般に漠然と個々の種の多少を論じたり、出現度の高い種だけをとりだして比較するという非常に主観的な見方が多いが、ここで垂直分布について種を分類したように、なんらかの因子について共通点のある種をまとめることによって今後多少でも客観的に土壌中の糸状菌分布を検討するこ

とができるのではないかとと思われる。

摘 要

希釈平板法によって、アカマツ林の一土壌断面における糸状菌の垂直分布を調べ、分布のしかたの違いにより四つの垂直分布型を設けて、分離された種の生態的な分類を行なった。

- 1) 総菌数は重量単位で比較して $L_1 < L_2 < F < H >$ $0 \sim 4 \text{ cm} > 4 \sim 8 \text{ cm} > 8 \sim 12 \text{ cm} > 12 \sim 16 \text{ cm}$ であった。
- 2) 層・深さにより種類構成に特徴が認められ、次の4垂直分布型を設けた。Ⅰ型：L層に多い種，Ⅱ型：F～H層に多い種，Ⅲ型：鈹質土層の表層に多い種，Ⅳ型：鈹質土層の下層に多い種。
- 3) 各型に属する種について考察した。

引用文献

1. PARKINSON, D. & COUPS, E. : Soil Organisms, 1963. Amsterdam, P. 167-175
2. THORNTON, R. H. : Trans. Brit. Mycol. Soc. 39 : 485-494, 1956
3. GILMAN, J. C. : A Manual of Soil Fungi, 1957 Iowa State College, P. 332.
4. 石井弘：日林講演集 77： - , 1966.
5. KENDRICK, W. B. : Nature 181 : 432, 1958
6. CHESTERS, C. G. S. : Ecology of Soil Fungi. 1960. Liverpool P. 233
7. 安藤辰夫・堤 利夫：京大演習林報告 37 : 40-54, 1965
8. 安藤辰夫・四手井綱英：日林関西支部 講 14 : 63, 1964
9. WILLIAMS, S. T. : Soil Organisms, 1963. Amsterdam. P. 158-166
10. BURGESS, A. : Micro-organisms in the Soil, 1958 (土壌微生物, 熊田ら訳, 東京・朝倉書店, P. 80-82)
11. BURGESS, A. & FENTON, E. : Trans. Brit. Mycol. Soc. 36 : 104-108, 1953
12. WARCUP, J. H. : Trans. Brit. Mycol. Soc. 34 : 376, 1951.
13. BURGESS, A. : Trans. Brit. Mycol. Soc. 33 : 142, 1950.

Summary

These studies were performed to get information on the local distribution of soil fungi in pine (*Pinus densiflora*) forest soil.

As a part of these studies, the vertical distribution of fungi in a soil profile was examined by soil dilution plate method. A₀ horizons were divided into L₁, L₂, F, and H layers; mineral soil horizons were divided into 0-4 cm., 4-8 cm., 8-12 cm. and 12-16 cm. by depth.

Fungi isolated from A₀ and mineral soil horizons are shown in TABLE 1 and 2. The order of total numbers of fungi on oven dry weight of soil are as follows:

L₁<L₂<F<H>0-4>4-8>8-12>12-16.

The dominant fungi in each layer are shown in TABLE 3.

An attempt is made to divide the isolated fungi into patterns of vertical distribution which are shown in TABLE 4.

The fungi in each pattern are discussed in its distribution.