

外生菌根菌 (*Alpova* sp.) の接種がケヤマハンノキおよび オオバヤシャブシの成長へ及ぼす影響

山中高史・赤間慶子 (森林総研)

要旨: ハンノキ属樹木は、放線菌のフランキア菌によって根粒を形成するとともに、菌根を形成する。今回、外生菌根菌である *Alpova* 菌をオオバヤシャブシおよびケヤマハンノキ実生苗へ接種して、その後の成長を調査した。*Alpova* 菌は、オオバヤシャブシおよびケヤマハンノキの両方に菌根を形成し、オオバヤシャブシにおいては、子実体を形成した。オオバヤシャブシでは、*Alpova* の接種により成長(地上部高、植物体量、根粒数、窒素固定活性)は向上したが、ケヤマハンノキにおいては、*Alpova* の接種による明瞭な効果は認められなかった。

キーワード: オオバヤシャブシ, ケヤマハンノキ, フランキア菌, 菌根, *Alpova*

I はじめに

ハンノキ属の樹木は、放線菌の一種であるフランキア菌の感染により根粒を形成し、そこで大気中の窒素を固定し栄養分として利用する。一方、これらの樹木は、土壤中に生息する真菌の一種である菌根菌によって、菌根を形成し、効率的に土壤中から養水分を吸収する。これらにより、荒地地などでも、ハンノキ属樹木は良好に生育でき、植生回復の際などに用いられている。我々は、伊豆諸島三宅島のオオバヤシャブシが生育する場所において、ハンノキ属樹木に特異的に菌根を形成する *Alpova* 属を採取したことを報告した(5)。今回、*Alpova* 菌のオオバヤシャブシおよびケヤマハンノキへの接種試験の結果を報告する。

II 材料と方法

1. 無菌苗の作成 森林総合研究所企画部実験林室で所蔵するオオバヤシャブシおよびケヤマハンノキの種子を用いた。流水に一日浸漬し、30%過酸化水素水で10分間処理して表面殺菌した。滅菌水にて洗浄し、滅菌水で湿らせた滅菌ろ紙の上に種子を置き、発芽させた。発芽種子は、チューブ状ポット(Corn-tainer SC10, 164 ml, Stueve & Sons Inc, OR, USA)に入れた滅菌土壌(パーライト:赤玉土=1:1(v/v))に植えた。その後1週間目にホーグランド氏液(2)の4倍希釈液を5mlずつ加えた。さらに、フランキア菌の接種1週間前には、無窒素ホーグランド氏液の4倍希釈液を5mlずつ加えた。

2. 菌の接種 オオバヤシャブシ根粒から分離したフランキア菌(AS02)を用いた。BAP培地(3)にて、29°C、暗所で培養した菌体を断片化した後、遠心分離(2330g, 20分間)により集めた。上澄み液を捨て、そこへ滅菌水を加え、菌体を懸濁させた後、遠心分離によって、菌体を集める。これらの操作を2回行い、菌体を洗浄した。遠心分離によって集めた菌体量(pack cell volume; pc

v)から、菌体濃度を1mlあたり5 μ g pcv/mlに調整したのち、1mlずつポット移植後4週間目の実生苗の地際に注いだ。その後2週間に1度、1個体あたり無窒素ホーグランド氏液の4倍希釈液を5mlずつ施肥した。

フランキア菌の接種後8週間目に、*Alpova* 菌(5)を接種した。分離菌株(SML995015)は、改変麦芽糖液体培地(1)にて、24°C暗所で培養した。培養6週間後に、オスターブレンダーで攪拌して、菌体を断片化させた。その2週間後に、再度断片化した後、遠心分離(2330g, 20分間)によって菌体を集めた。その後、フランキア菌の場合と同じ手順で菌体を洗浄した。滅菌水を加えて50mlの菌糸懸濁液にして、1個体あたり、2mlの懸濁液を加えた。*Alpova* 菌を接種しない対照区には、同量の滅菌水を加えた。

3. 成長の測定 *Alpova* 菌接種後4ヶ月目に、以下の項目について測定した:地上高、乾燥重量(地上部、地下部)、根粒形成量、菌根数、窒素固定活性(4)。各処理につき8~10本の実生を測定に用いた。菌根数以外の測定値の処理間での有意差は二元配置の分散分析によって検定し、交互作用が認められた場合、処理間の有意差は、クラスカル・ウォリス法により検定した。

III 結果と考察

オオバヤシャブシの場合、*Alpova* 菌を接種した場合、地上高や植物体乾燥重量が大きくなり、根粒形成数は多くなった。一方、ケヤマハンノキの場合、*Alpova* 菌接種による有意な効果は認められなかった(図-1, 2, 表-1)。菌根は、オオバヤシャブシ、ケヤマハンノキともに、*Alpova* 菌接種により形成されたが、子実体はオオバヤシャブシにおいてのみ形成された。菌根数はオオバヤシャブシの方が有意に多かった(図-3;マンホイットニーU検定, $p < 0.001$)。窒素固定活性は、いずれの場合でも認められたが、*Alpova* 菌を接種したオオバヤシャブシに

Takashi YAMANAKA and Keiko AKAMA (For. Forest Prod. Res. Inst., Matsunosato 1, Tsukuba, Ibaraki 305-8687)
Effects of *Alpova* inoculation on the growth of *Alnus sieboldiana* and *A. hirsuta*

において最も高かった(図-1d)。

今回、ケヤマハンノキにおいても、*Alpova* 菌接種によって菌根を形成したが、それにとまなう樹木生長の促進効果は認められなかった。このことは、樹種によって菌根菌との相互作用様式が異なる可能性を示している。また、フランキア菌のみを接種した場合でも、ケヤマハンノキの成長は、オオバヤシャブシに比べて小さく、フランキア菌接種の影響が樹種によって異なり、そのことが外生菌根菌との相互作用に影響を及ぼしていたことも考えられる。

引用文献

(1) 赤間 慶子・岡部 宏秋・山中 高史(2008)様々な培地上における外生菌根菌の成長様式. 森林総研研報

7:165-181

(2) HOAGLAND, D.R. and D.I. ARNON. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. Calif. Agr. Exp. Stat. Circ. 347: 1-39.

(3) MURRY, M.A., M.S. FONTAINE and J.G. TORREY. (1984) Growth kinetics and nitrogenase induction in *Frankia* sp. HFPAr1 3 grown in batch culture. Plant Soil 78: 61-78.

(4) 山中高史・岡部宏秋(2008)わが国に生育する放線菌根性植物とフランキア菌. 森林総研研報 7:67-80.

(5) 山中高史・赤間慶子・早乙女梢・根田仁(2009)オオバヤシャブシに外生菌根を形成する *Alpova* 属菌の一種. 日本菌学会大会講演要旨集 43:37.

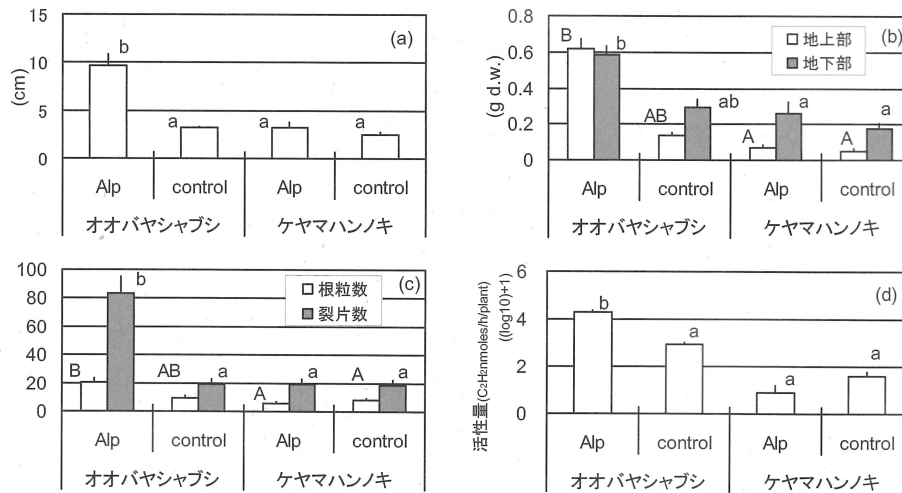


図-1. *Alpova* 菌接種によるオオバヤシャブシおよびケヤマハンノキ成長への影響。(a)地上高,(b)乾燥重量,(c)根粒形成,(d)窒素固定活性. Alp, *Alpova* 菌接種;control, *Alpova* 菌非接種. 値は処理毎に求めた平均値と標準誤差である。異なる英字間では、5%の水準で有意であった



図-2. オオバヤシャブシ苗. 左, *Alpova* 菌接種;右, 非接種(対照区)

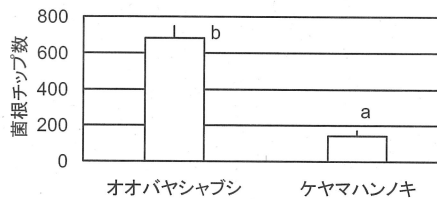


図-3. *Alpova* 菌接種の菌根形成への影響

表-1. 分散分析の結果

要因	自由度	地上高		地上部乾重		地下部乾重		根粒数		根粒裂片数		窒素固定活性	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
樹種	1	26.4	0.000	106.6	0.000	25.3	0.000	14.7	0.001	23.0	0.000	48.6	0.000
菌接種	1	31.5	0.000	75.3	0.000	18.9	0.000	5.6	0.024	26.6	0.000	50.1	0.000
樹種 x 菌接種	1	17.1	0.000	55.5	0.000	5.2	0.029	0.1	0.003	21.9	0.000	53.2	0.000