

## 沖縄における放線菌根菌（フランキア菌） の探査と収集

森林総合研究所森林生物部  
土壌微生物研究室

山中高史

### Exploration and collection of *Frankia* species in Okinawa

Takashi YAMANAKA

Soil Microbiology Laboratory  
Forestry and Forest Products Research Institute  
Matsunosato 1, Kukizaki, Ibaraki 305, Japan

#### 1. 目的

ハンノキ、ヤマモモ、およびモクマオウなどの樹木は放線菌の1種であるフランキア菌によって根粒を形成する放線菌根性植物 (actinorhizal plants) であり、マメ科の根粒植物に見られるのと同じく大気中の窒素を固定している。そのため、地力の低い荒廃地などに自生でき、また肥料木として緑化に用いられている。これらの樹木と共生関係にあるフランキア菌は、1978年にヤマモモ科 *Comptonia* 属より分離されて以降、海外では多くの分離菌が得られている。一方、国内では、菌の分離された報告は少なく、その宿主特異性や生理生態的な特徴は限られた種のみ明らかにされている。植物の侵入や定着へのこれら共生菌の役割を解明し、荒廃地などでの緑化を効率的に行うためには様々な樹木からフランキア菌を分離し収集していく必要がある。

そこで今回は、防風林などとして導入されたモクマオウや、また我が国に広く分布するハンノキやヤマモモが見られる沖縄地域を対象として、これらの樹木からのフランキア菌を分離するために根粒の収集を行った。

## 2. 実施の概要

1995年9月18日から9月21日まで沖縄本島および西表島にてモクマオウ、タイワンハンノキ、及びヤマモモの根粒の収集を行った(表1, 2)。フランキア菌は採取した後、短時間の内に分離を行わないと、他の雑菌が混入するなどして、菌を得ることができない。今回、菌の分離は実験室に戻ってから行うことにしたため、根粒を採取してから菌の分離を行うまで時間がかかる。そのため、採取した根粒から直接根粒の分離を試みる他に、採取した根粒または生育地付近の土壌を無菌苗に接種した後、また根粒のついた植物体を持ち帰りポットで栽培した後に形成された根粒から菌の分離を試みた。

分離方法は次の通りである。①根粒を流水で洗浄した後、実体顕微鏡下で、根粒の先端から数ミリのところで切り取る。②10%PVP(ポリビニルピロリドン)水溶液中に入れピンセットを用いて表皮を取り除く。③95%エタノールで1分間、続いて1.0%次亜塩素酸ナトリウム水溶液で5分間殺菌する。④滅菌水を用いて、数回洗浄した後、乳鉢に入れ、Bensonのフランキア液体培地を数ml加えて、根粒をすりつぶす。⑤10mlの注射筒の先に50 $\mu$ mのナイロンメッシュを入れた濾過器、さらにその先に20 $\mu$ mのナイロンメッシュを入れた濾過器をつけたものを用意して、そこに根粒懸濁液を通して、大きさを分けて根粒残渣を集める。⑥それぞれの根粒残渣はメッシュごと200mlの三角フラスコに入れた100mlのBensonのフランキア液体培地に入れ、約27度に設定した恒温器内に置く。

以上の手順の他に、③の表面殺菌した後、すりつぶさずに、メスを用いて根粒を半分に分り、それを液体培地に入れる分離方法も検討した。

ナイロンメッシュの上または根粒残渣の周囲に菌糸の出現が確認されたものについては、顕微鏡下で菌糸の形状や、小胞体または孢子塊の形成の有無を観察した。また植物への接種試験を行いフランキア菌との確認をした。

## 3. 収集成果

表3で示したように、持ち帰った植物体をガラス温室で栽培する間に形成された根粒から2菌株(CaE1およびCaE2)を得た。これらは接種試験によってトキワギョリュウに根粒を形成させることができた。このうち、CaE1については窒素栄養源を含まないBA液体培地中で、菌糸の先端に小胞体を形成した。

持ち帰った根粒からも菌の分離を試みたが、菌は出現しなかった。根粒磨砕液を接種した後形成された根粒からの分離も試みたが、菌を得ることはできなかった。

表面殺菌した後、半分に分った根粒片からも、今のところ菌は出現していない。

## 4. 所感

通常、フランキア菌と見られる菌が出現するのに分離後数ヶ月かかり、菌が出現しなくても1年間は観察し続ける必要がある。さらに、分離された菌を、根粒を作らせることのできるフランキア菌と確認するためには分離菌の形態を観察することに加え、無菌苗に菌を接種して、その後の根粒

形成や植物体成長を観察することが必要である。そのため、これまでにフランキア菌を多く得ることはできていない。

今回、沖縄地方に台風の接近しやすい9月中旬に出かけたため、当初の予定よりも日程を変更することになった。

今後これらの菌株の生理生態的特性を調査し、また他の地域の異なる種の植物から分離されたフランキア菌との宿主特異性の比較等を行っていく予定である。

モクマオウやハンノキは外生菌根やアーバスキュラー菌根も作ることが知られている。そのため、放線菌根菌以外にも、外生菌根菌やアーバスキュラー菌根菌の探索収集も併せて進められていくべきであろう。

台風の接近で最後には予定を変更したが、前半は天気も良く、順調に収集を行うことができた。今回の調査を行うに当たり様々な点で便宜を図っていただいた琉球大学農学部附属演習林の新里孝和博士に心からお礼申し上げます。

**表 1 収集日程表**

年 月 日	行 程	行 動 内 容
1995年 9 月18日	荖崎～羽田～那覇～国頭	移動 琉球大学農学部演習林本部：打合せ 採集 与那演習林：打合せ 採集
9 月19日	国頭	琉球大学農学部与那演習林：採集
9 月20日	国頭～那覇～石垣～西表（中野）	移動
9 月21日	西表～石垣～那覇～羽田～荖崎	西表島内で採集 移動

**表 2 収集物の種類，採集地および点数**

採 集 地	種 類	点 数
琉球大学農学部演習林本部	土壌（タイワンハンノキ生育地） 根粒（タイワンハンノキ） 植物体（トキワギョリュウ，グラウカモクマオウ，ヤマモモ）	土壌 1 点 根粒 1 点 植物体 7 点
国頭村海岸	植物体（トキワギョリュウ）	4 点
琉球大学与那演習林	植物体（タイワンハンノキ，ヤマモモ）	8 点
西表島内	根粒（ヤマモモ），植物体（トキワギョリュウ）	根粒 1 点 植物体 13 点

**表 3 国内微生物遺伝資源の収集実績（平成 7 年度調査分）**

菌 体 整理番号	分 離 源	収集年月日	収 集 場 所	特 記 事 項
CaE1	トキワギョリュウ	1995. 9. 21	沖縄県竹富町	
CaE2	トキワギョリュウ	1995. 9. 21	沖縄県竹富町	



図1 沖縄における探索収集地点

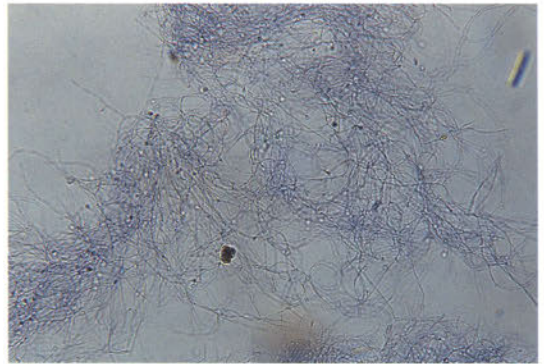


図2 フランキア菌 (CaE1) 接種による根粒形成  
右6本が接種で、左4本が非接種。菌を接種したものは、根粒が形成されている。

# 微生物の探索収集プロフィール



トキワギョリュウの根粒  
(山中)



トキワギョリュウより分離されたフランキア菌。  
菌糸先端に小胞体 (vesicles) が形成  
(山中)



ニガウリ圃場での根圏細菌の探索収集  
(具志頭村安里, 島尻マージ土地帯)  
(土屋)



国頭マージ土地帯のパイン畑  
(沖縄本島中北部・今帰仁村)  
(土屋)



広大なダイズ畑でのサンプリング  
(横山・村上)



採取した根粒のシリカゲルチューブによる保存  
(根粒は時間とともに乾燥し, 小さくなっていく。)  
(横山・村上)