

火山性裸地上に成育するカラマツ実生根系からの単生窒素固定菌の単離

森林資源生物学

菅 祥彦

【緒言】

火山性攪乱から約70年が経過した北海道駒ヶ岳では、現在裸地上に先駆性樹種のカラマツが優占して侵入・定着している。火山性攪乱により生じたこのような環境においては窒素が不足しており、植物の生育には不利な立地であると考えられる。このような立地環境において、樹木が単独で生育に必要な窒素源を確保するのは困難であり、根圏に共生する菌類の関与が重要であるとされている。このことについて外生菌根菌に関する研究が進められる一方で、根圏バクテリアとカラマツとの関係については知見が不足している。そこで本研究では、カラマツの根圏に生息する窒素固定菌の存在と性状を明らかにすることを目的として、根系からの単生窒素固定菌の単離を試みた。

【実験方法】

2002年6月に北海道駒ヶ岳より2~3年生のカラマツ (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carrière) 実生を採取した。実生は滅菌水で十分に洗浄して根系の付着物を取り除き、菌根が形成されているかどうかを確認した。ウィノグラドスキーの無窒素培養液に0.5%ゲランガムを添加した培地に1cmほどの長さに切り取った根を分離源として穿刺し、12~15時間放置した後、根を除去し培養を開始した。試験管内における増殖が確認されたコロニーを釣菌し、ウィノグラドスキーの無窒素培養液に100mg/Lのイーストイクトラクトを加えた寒天培地において画線培養を繰り返し、色やサイズなどコロニーの形態を判断基準としてバクテリア株の分離、純化を行った。培養は20℃、暗所で行った。単離された株について細胞形態観察(1500倍)、穿刺培養、グラム染色、孢子染色等により、分類学的性状を検討した。

【結果と考察】

採取した実生の根系には外生菌根が形成されていた。根の洗浄水を添加した培地からの糸状菌及びバクテリアの増殖は認められず、根系から不純物を取り除かれていることが確認された。培養開始から5~30日目に試験管内の穿刺孔周囲からバクテリアコロニーの増殖が認められた。無窒素培地において、カラマツ2個体の根系から調製した30サンプルすべてからコロニーの増殖が確認された。また、コロニーの増殖は根の先端部で活発であり、バクテリアは特に根の先端部に多く存在していると考えられた。画線培養による純化を繰り返した結果、6系統の単離株、A~Fを得た。A, B, C, Dは白色、EとFは黄色のコロニーを形成した。Eのコロニーは植え継ぎの繰り返しにより白色へ変化した。単離株を30日間培養して観察を行ったところ、A, B, Dはほぼ同じ径のコロニーを形成したが、Bはコロニー周辺にくもりがあり、Dはコロニーに光沢があった点がAとは異なっていた。6系統全てが桿菌であり、長さはA, B, Dが2.0~3.0µm、C, Eが1.0~1.5µm、Fが1.5~2.0µmだった。B, C, Fはグラム陰性、A, D, Eはグラム陽性であった。穿刺培養の結果、A, D, Fは通性嫌気性、B, C, Eは微好気性と判断された。A, Dは非運動性で、B, C, E, Fは運動性であると判断された。20℃の培養環境では内生孢子の形成が確認されず、6系統ではAとDの2系統から内生孢子の形成が確認された。

単生窒素固定菌は根系に広く存在していると考えられ、今回単離されたA~Fのバクテリアは、カラマツ実生に共生する外生菌根菌と共にカラマツ実生の定着や生育に関わっていると考えられた。