

研究資料 (Research material)

わが国に生育する放線菌根性植物とフランキア菌

山中 高史^{1)*}・岡部 宏秋¹⁾

Actinorhizal plants and *Frankia* in Japan

Takashi YAMANAKA^{1)*} and Hiroaki OKABE¹⁾

Abstract

The actinomycetal genus *Frankia* forms root nodules in some woody plants that fix atmospheric nitrogen. Such the plants are called as *actinorhizal plants*. Actinorhizal plants indigenous to Japan are the genus *Alnus*, *Myrica*, *Elaeagnus* and *Coriaria* as well as introduced species, *Casuarina* and *Hippophaë*. In this report, 12 species from six genus of actinorhizal plants were examined on the morphological characteristics of root nodules and of *Frankia* strains isolated. In addition, we described general procedures for isolating, culturing and inoculating *Frankia*.

Key words : *Frankia*, actinorhizal plants, root nodules, isolates, morphological characters

要旨

放線菌の一種フランキアは、木本植物の根に感染して根粒を形成し、そこで大気中の窒素を固定する。これらの植物は放線菌根性植物といわれる。わが国に生育する放線菌根性植物としては、ハンノキ属、ヤマモモ属、グミ属、ドクウツギ属などが自生する他、導入種として、モクマオウ属やヒッコク属がある。本研究では6属12種の根粒や分離菌の形態について紹介するとともに、フランキア菌の一般的な分離、培養、接種試験の手法を記載した。

キーワード：フランキア、放線菌根性植物、根粒、菌株、形態

1. はじめに

放線菌根 (actinorhiza) とは、放線菌であるフランキア菌が植物の根に形成した根粒をいい、フランキア菌はそこで窒素固定を行う (Baker & Schwintzer, 1990)。世界では、8科25属の樹木が放線菌根を形成する (Baker & Schwintzer, 1990)。わが国においては、ハンノキ属、ヤマモモ属、グミ属およびドクウツギ属の植物が放線菌根性植物である (植村, 1977)。このほか、防風林として植栽するため沖縄や小笠原に導入されてきたモクマオウ属樹木や、近年、北海道や東北などで栽培され始めた外来性のヒッコク属果樹が根粒を形成する (石井, 2003)。これらの植物は、自ら窒素を獲得できることから、自然災害跡などの荒廃地において良好に生育し、肥料木、街路樹、防風および防砂林を構成する樹種として積極的に植栽されている。これまで、わが国において生育する樹木に形成された放線菌根やフランキア菌の特徴などは紹介されていない。そこで今回、これらを、フランキア菌研究の概要と併せて紹介する。

2. フランキア菌研究の歴史

放線菌根性植物の根粒菌が、フランキアと名づけられたのは、1888年に、Brunchorstによってであった (Quispel, 1990)。フランキアの名は、Brunchorstの師であるFrankの名に由来する。このとき、フランキア菌は、真菌類の一種であると考えられていた。フランキア菌が放線菌の一種であると認められるようになったのは、1932年のKrebberによるハンノキの根粒の記載による。根粒からのフランキア菌の分離は、1959年に *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. で行われ、獲得菌株の接種により根粒形成に成功したという報告がある (Quispel, 1990)。しかし、このときの菌株が消失していることから、現在では、フランキア菌分離の成功例とは認められていない。一般的には、その後、1978年に *Comptonia peregrina* (L.) Coult. の根粒からの分離と分離菌の接種による根粒形成の報告が、フランキア菌の分離に初めて成功したとされている (Callahamら, 1978)。

わが国におけるフランキア菌研究については、1902年に柴田によるハンノキやヤマモモの根粒組織の細胞

原稿受付：平成19年11月9日 Received 9 November 2007 原稿受理：平成20年1月7日 Accepted 7 January 2008

1) 森林総合研究所森林微生物研究領域 Department of Forest Microbiology, Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI)

* 森林総合研究所森林微生物研究領域 〒305-8687 茨城県つくば市松の里1 Department of Forest Microbiology, Forestry and Forest Products Research Institute (FFPRI), 1 Matsunosato, Tsukuba, Ibaraki, 305-8687 JAPAN; e-mail: yamanaka@ffpri.affrc.go.jp

を詳細に記載し、根粒の共生微生物を放線菌であることを初めて言及した報告がある (Shibata, 1902)。その後、植村は、ハンノキ属樹木の根粒を主な材料として根粒形成と施肥の関係 (植村, 1952a)、接種試験用の無菌苗作出手法の検討 (植村, 1952b)、根粒からの放線菌の分離手法の検討 (植村, 1952c)、さらに分離された放線菌の接種試験 (植村, 1961) を行った。しかし、ここで分離された放線菌は、現在のフランキア菌とされるものでなく、ストレプトマイセス菌 (*Streptomyces* spp.) であり (植村, 1952d)、接種試験による根粒形成は失敗に終わっている。その後、海外でのフランキア菌の分離が報告されて以降、国内においても、ヤマモモ (Hiyoshiら, 1988)、オオバヤシャブシ (福本ら, 1992)、ヤシャブシ (山家・岡部, 1993)、ヤマハンノキ (山中・岡部, 1995)、ナワシログミ (福本ら, 1995) およびトキワギョリュウ (山中, 1997; Tani ら, 2003) の根粒からの菌の分離が報告されている。

なお、より詳細な、フランキア菌研究に関する総説は、Schwintzer & Tjepkema (1990)、Benson & Silverster (1993)、Myrold (1994)、Huss-Danell (1997) および Wall (2000) がある。

3. フランキア菌の特徴

放線菌の一種であるフランキア菌の顕微鏡下での形態の特徴としては、繊維状の栄養菌糸、孢子塊、および小胞体の3つが上げられる。

栄養菌糸 (vegetative hyphae) は、通常幅 0.5–2.0 μm 、分枝はあまりせず、気中菌糸を形成しない。菌糸の色は、肉眼では、白色から、黄色、橙色、茶色、桃色、赤色、珊瑚色 (淡赤色)、帯緑色、または黒色になる (Lechevalier & Lechevalier, 1990)。菌糸の色はその鮮度にも関係するが、分離した樹木の種によって異なり、ヤマモモやグミの根粒から分離したものは、桃色～珊瑚色であり、それ以外のものは、白色、灰色、薄紫色である (Photo 1)。培地中に色素を分泌するがその色も細胞の色と同じように多岐にわたり、培地成分による影響も受ける場合もある。

孢子塊 (sporangium) は、円形、円筒形、もしくは様々な形をしており、長さ 100 μm にもなることもあり、内部には孢子が形成されている (Photo 2b)。孢子は、大きさ 1–5 μm で運動性はなく、また耐熱性もない。孢子嚢内で、孢子は一様に成熟することがないため、孢子塊内には、様々な成熟段階の、様々な大きさの孢子が存在

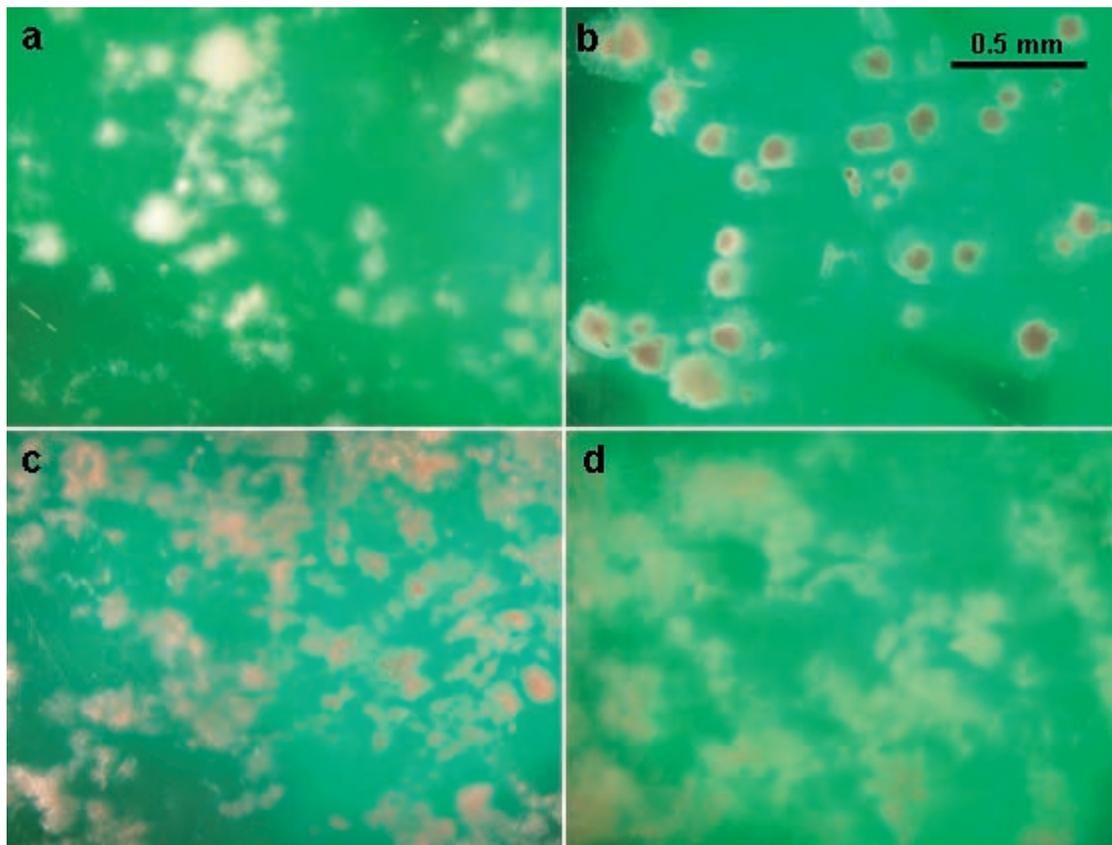


Photo. 1. 液体培養したフランキア菌. a. ヤマハンノキ根粒から分離した AHs01 株, b. ヤマハンノキ根粒から分離した AHs03 株, c. ナワシログミ根粒から分離した EP01 株, d. ヤマモモ根粒から分離した MR02 株.

Frankia strains in liquid culture. a. a strain from *Alnus hirsuta* var. *sibirica* (no. AHs01), b. a strain from *A. hirsuta* var. *sibirica* (no. AHs03), c. a strain from *Elaeagnus pungens* (no. EP01), d. a strain from *Myrica rubra* (no. MR02).

する。一般に培養期間が長いと、多くの孢子塊が形成される。

小胞体 (vesicle) は、ほぼ円形をした有柄の構造物 (Photo 2) であり、窒素固定酵素であるニトロゲナーゼの存在部位である。窒素栄養源を培地に含まない場合、多く形成される。

孢子囊や小胞体は、培養下においてのみでなく、根粒の組織内でも形成される。根粒組織内における孢子囊の形成の有無及び多少によっても根粒は区別される (Schwintzer, 1990)。

フランキア菌の分離菌株には分離された植物の学名に基づく略号を付けた菌株番号によって表記することが提唱されている (Lechevalier, 1983)。

フランキア菌のグループ分けについては、分離菌株を様々な植物に接種して根粒の形成の有無を評価する交互接種試験によって、4つのグループ、すなわち、①ハンノキ属およびヤマモモ属に根粒形成、②モクマオウ属とヤマモモ属に根粒形成、③グミ科とヤマモモ属に根粒形成、④グミ科のみに根粒形成する、に分けられた (Baker, 1987)。

その後、16S rDNA 遺伝子や窒素固定に関わる遺伝子

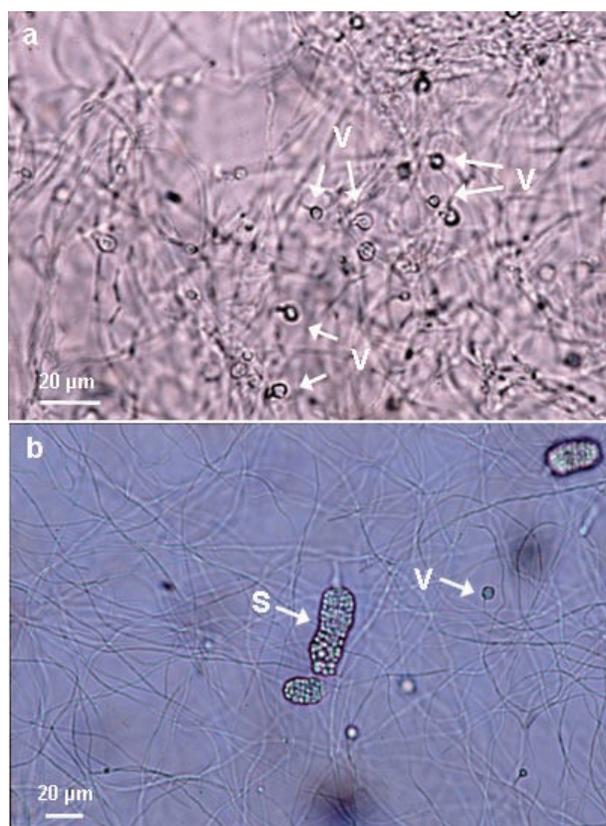


Photo. 2. フランキア培養菌。a. ヤマハンノキ根粒から分離した AHs04 株, b. カワラハンノキ根粒から分離した ASe01 株。S:孢子塊, V:小胞体。 Culture of *Frankia* isolates. a. a strain from *Alnus hirsuta* var. *sibirica* (no. AHs04), b. a strain from *Alnus serrulatooides* (no. ASe01). S: sporangium; V: vesicle.

(*nif* 遺伝子) などの解析結果も併せ、3つの群に分けられた (Benson & Dawson, 2007)。それらは、①カバノキ科 (ハンノキ属)、ヤマモモ科 (ヤマモモ属) およびモクマオウ科 (モクマオウ属) の種に根粒形成する。②ドクウツギ科 (ドクウツギ属)、ナギナタソウ科 (ナギナタソウ属)、バラ科 (バラ亜科チョウノスケソウ連)、クロウメドモキ科 (セアノサス属) に根粒を形成する。このグループの菌は、菌の分離ができていない。③ヤマモモ科、モクマオウ科 (ギムノストマ属)、グミ科、クロウメドモキ科に根粒を形成するものである。

これらの結果を、宿主植物における葉緑体 DNA にある *rbcl* 遺伝子の解析結果も併せて、フランキア共生の進化を分析したところ、現在、多岐に渡って様々な種においてみられるフランキア-樹木共生は、共通する1つの祖先種から分散したのではなく、複数の起源に由来していることが明らかになっている (Swensen, 1996; Jeong ら, 1999)

4. フランキア菌の分離

フランキア菌は、土壌から直接分離することも可能であるが、たいいていの場合、根粒組織から分離する。用いる根粒としては、その表面に土壌が付着しておらず、またキズのない根粒が、雑菌の混入を最小限に抑えることが出来るので適している。野外に生育している樹木の近くの土壌を掘り返して、根につけたまま、根粒を採取する。汚れのひどい根粒であれば、その根粒を、磨り潰して、滅菌土壌で育てた無菌苗に接種して、形成された根粒を分離に用いることもできる。採取したのち根粒のついた根は、プラスチック製の袋に入れて、持ち帰る。菌の分離は採取した後、できるだけ早く行うべきである。

採取した根粒は、根から切り取り、裂片数個ずつに分けた後、ピーカーに入れて、ガーゼで覆ったのち、流水下において、根粒表面の汚れを落とす。実体顕微鏡において、汚れの少ない裂片を先端から約5 mm またはそれ以下のところで切り取る。切り取った裂片は、数個から10個程度、ピーカーに入れ、更に流水下にて、根粒を洗浄する。表面を洗浄した根粒は、更に、基部側1 mm程度を切り落とし、実体顕微鏡下で、根粒の皮をピンセットを使って剥がす (Photo 3)。続いて、95%エタノールで1分、続いて1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液で5分、表面殺菌をする。殺菌後、滅菌水で、殺菌剤を洗い流す。滅菌した根粒は、乳鉢にいれ、フランキア培養用液体培地 (Myrold, 1994) を加え、根粒をすり潰す。根粒磨砕液は、目の大きさ0.05 mmのナイロンメッシュを入れた濾過器、その先に目の大きさ0.02 mmのナイロンメッシュを入れた濾過器をつけた10 mlの注射器に入れて、押し出し、磨砕液中の根粒組織を、ナイロンメッシュ上に集める。注射器を30 mlに変え、フランキア液体培地 (または滅菌水) をろ過器に通して、ナイロンメッシュを洗浄する。メッシュ上に集めた破碎組織は、液体培地

に入れて、28～30℃の条件下で培養する。生育が早い場合には、1週間程度で、肉眼でも組織片の周辺から、菌体の出現が確認できる。ナイロンメッシュごと液体培地に入れた場合、メッシュ上に菌体の増殖が認められる。光学顕微鏡下で、菌糸の発達、および小胞体や孢子塊の形成を確認する。

5. フランキア菌の培養・保存

フランキア菌は、好気性ないしは微好気性であり、液体培地のほか、寒天平板培地でも培地表面で増殖する。しかし、菌糸成長が遅いため、培地一面に菌糸は広がることはない。液体培地においても同様であり、肉眼では綿クズ状の菌体である。

培地成分の特徴は、炭素源として、有機酸であるピルビン酸やプロピオン酸を用いることである (Myrold, 1994)。これらの有機酸は、グルコースからの解糖系の過程で出現するものであり、フランキア菌成長に関しては、糖の利用能力との関係が考えられる。窒素源を加えない培地でも、フランキア菌は、小胞体において、大気中窒素を固定し、栄養源として利用して、増殖することができる。成長に適した温度は、25～30℃である。

保存には、通常の細菌類と同じように真空凍結乾燥法によって保存することができる。また、成長が遅い分、通常の液体培養で植え継ぐこともできる。この場合、成長に適した温度よりも低い温度で保存するほうが良い。凍結乾燥法については、西山 (1992) において記述さ

れている。

6. フランキア菌の接種

フランキア菌の接種は、菌の宿主範囲や樹木の成長への影響を解明する際などに行う。接種源としては、4～8週間液体培養した菌体を用いる。菌体は、ホモジナイザーを用いて、切断した後、遠心分離して集める。集めた菌体は上澄み液を捨て、そこへ滅菌水を注いで、菌体を液中に懸濁させ、続いて遠心機にかける。この操作を2回行い、菌体を洗浄する。その後、0.1 ml 刻みの目盛のついた遠心管を用いて遠心分離を行い、底に堆積した容量を菌体量とする。これに基づいて、植物一単位あたりの接種量 (通常、一植物体あたり 0.01 ml packed cell volume (pcv)) を調節する。また、分離菌が得られていない場合には、根粒を破碎して、接種する方法もある。しかし、これによって得られた結果については、接種源には、フランキア菌以外の菌が混入している可能性を考慮する必要がある。

接種に用いる樹木は、無菌的に育てたものを用いるが、植物体全体を無菌条件に維持することが困難なこともあり、その場合は、できるだけ無菌に近い条件で育てることとなるが、この場合非接種の対照区を用意する。

苗は、根粒の感染やその効果が明瞭に現れるように無窒素の液肥を与えて育てる。ハンノキやモクマオウなど種子サイズが小さい場合は、一定サイズの植物体を育成するために、窒素を含む液肥を最初に加えておく。

7. 各論

以下、わが国に自生するハンノキ属、ヤマモモ属、グミ属およびドクウツギ属、また海外から導入されたモクマオウ属およびヒッポファエ属樹木に形成された根粒を紹介する。チョウノスケソウ属 (*Dryas*) について、北米の種 (*D. drummondii* Richards) で根粒の形成が報告されているが (Newcomb, 1981)、わが国に生息するチョウノスケソウ (*D. octopetala* L. var. *asiatica* (Nakai) Nakai) については根粒の形成は確認できていないので、今回は省略する。

なお、各樹種の生息データについては、北村・村田 (1971, 1979)、林 (1985)、橋詰ら (1993) の記述によった。

7.1 ハンノキ属 (*Alnus*)

わが国には、10種が知られている。このうち分離したのは、以下の5種である。

7.1.1 ハンノキ (*A. japonica* (Thunb.) Steud)

落葉高木 (Photo 4a)。高さ 15～20 m に達することもある。湿地、水湿のある低地に生える。北海道から、本州、四国、九州に生息。

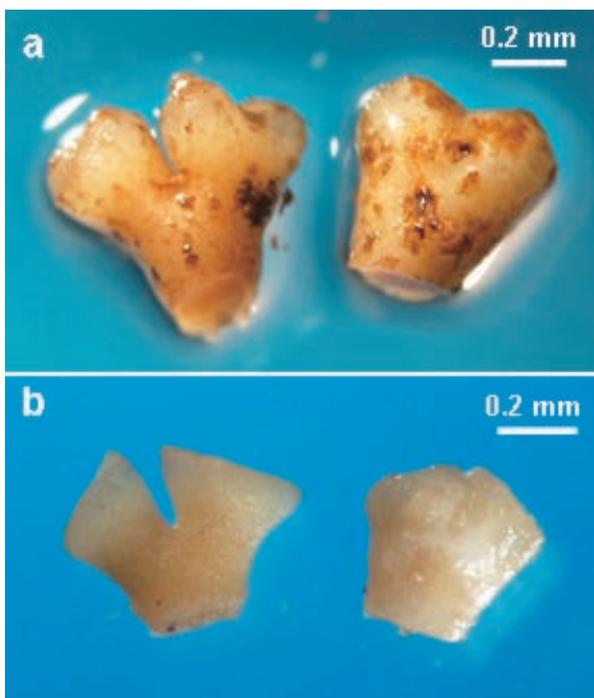


Photo. 3. ドクウツギ根粒. a. 皮を剥す前の根粒裂片, b. 皮を剥し、裂片先端部を切除した根粒裂片.

Root nodules of *Coriaria japonica*. a. root nodules b. root nodules peeled off their outer periderm and removed the tip of nodule lobe.

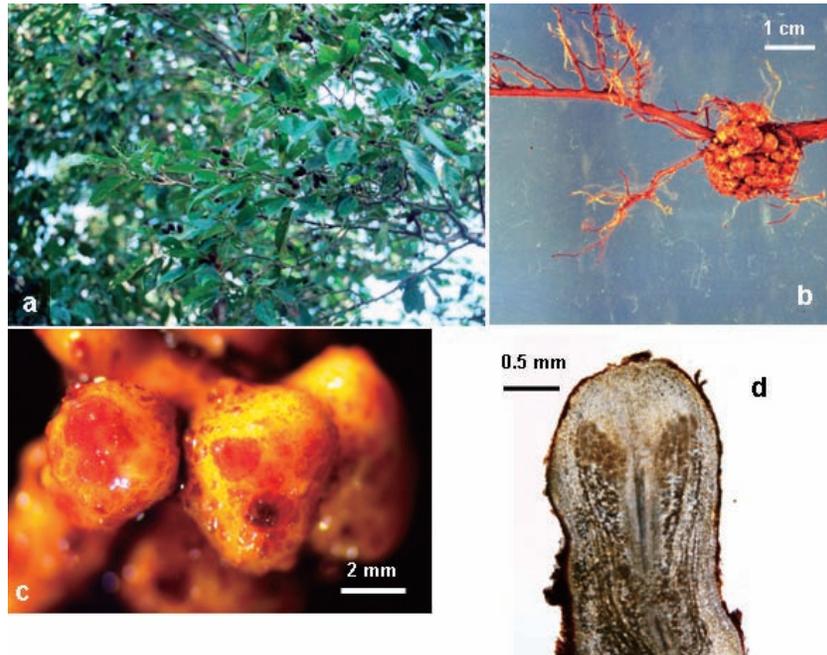


Photo. 4. a. ハンノキ. b. 根粒, c. 根粒裂片, d. 裂片断面. (撮影または採取地. a; 茨城県土浦市, b-c; 茨城県真壁町, d; 茨城県つくば市)
 a. *Alnus japonica*, b. a root nodule, c. nodule lobes, d. longitudinal section of a nodule lobe.



Photo. 5. a. ヤマハンノキ, b. 地表に露出した根粒, c. 根粒, d. 根粒裂片, e. 裂片断面. (撮影または採取地. a; 三重県菰野町, b-e; 茨城県北茨城市)

a. *Alnus hirsuta* var. *sibirica*, b. root nodules on the ground, c. root nodules, d. nodule lobes, e. longitudinal section of a nodule lobe.

7.1.2 ケヤマハンノキ (*A. hirsuta* Turcz.)

落葉高木。高さ 20 m にもなることもある。乾湿いずれの土地にも生育する。北海道から九州まで広く分布する。砂防用に植栽される。変種にヤマハンノキ (var. *sibirica* (Fischer) C.K.Schn.) (Photo 5a) があり、分布はケヤマハンノキと同じである。

7.1.3 ヤシャブシ (*A. firma* Sieb. et Zucc.)

落葉小高木 (Photo 6a)。高さ 10 m 前後、ただし大木では 20 m にもおよぶ。本州 (福島以南)、四国、九州に分布。山地に生え、崩壊地における砂防用にも植栽される。

7.1.4 オオバヤシャブシ (*A. sieboldiana* Matsumura)

落葉小高木 (Photo 7a)。高さ 5 ~ 10 m であるが、大きいものは 15 m にもなる。海岸近くの山地に生える。本州 (福島県から和歌山県の太平洋側) および伊豆諸島に分布。砂防用に植栽される。

7.1.5 カワラハンノキ (*A. serrulatoidea* Callier)

落葉低木 (Photo 8a)。川岸などに生える。本州 (東海以西) に分布する。

7.1.6 根粒

根粒表面は、鮮橙色から薄茶色であり、裂片先端部のほうが明るい色になっている。表面は褐色の鱗片に覆われている (Photos 4-8)。裂片の形状は、種によって異

なり、同一種でも、生育環境によって異なる。ハンノキの根粒裂片は、比較的大きく、先端部近くでは、径 4 ~ 5 mm にもなり、形状は、太い円筒~塊状をしている (Photo 4b, c)。ハンノキは湿地に生息することが多いが、その様な場所での根に形成される根粒は、裂片が塊状になっていることが多い。逆に、ヤシャブシやオオバヤシャブシでは、裂片は径 2 mm 程度の円筒形をしている (Photos 6b, 6c, 7b, 7c)。ヤマハンノキにおいては、裂片の形状はその中間のような形状をしている (Photo 5b-d)。カワラハンノキにおいては、裂片は更に細くなり、径 0.5 ~ 0.8 mm 程度になっている (Photo 8b, c)。裂片の内部は、白色~薄黄色であるが、ハンノキやケヤマハンノキなどの根粒では、切断後、短時間で褐変する。

根粒の中心は維管束が伸びており、その周囲の細胞に菌が感染している。しかし、裂片先端部は菌に感染していない (Photos 4d, 5e, 6d, 7d, 8d)。ハンノキやヤマハンノキの根粒においては、裂片の先端部位には、通常の根の先端同様に赤色に染まった部位、すなわち、感染していない根の成長点となる部位が認められる。

7.1.7 フランキア菌

ハンノキ属の根粒から分離した菌株については、これまで、5 種 19 菌株を得ている。これらは肉眼では、多くが白色~薄灰色をしているが、薄紫色をしたものもある (Photo 1a, b)。顕微鏡下でのフランキア菌の菌糸、胞子塊、小胞体の形状は、分離した樹木の種に依存した明瞭な違いはない。福本ら (1992) は、オオバヤシャブシ根粒か



Photo. 6. ヤシャブシ, b. 根粒, c. 根粒裂片, d. 裂片断面。(撮影または採取地: a-c; 茨城県真壁町, d; 茨城県つくば市)
a. *Alnus firma*, b. a root nodule, c. nodule lobes, d. longitudinal section of a nodule lobe.

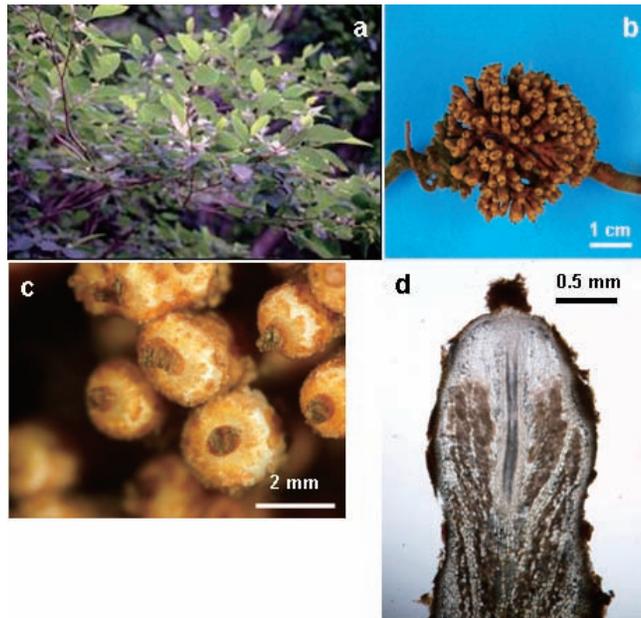


Photo. 7. a. オオバヤシャブシ, b. 根粒, c. 根粒裂片, d. 裂片断面.
(撮影または採取地. a; 茨城県常陸大宮市, b-d; 茨城県かすみがうら市)

a. *Alnus sieboldiana*, b. a root nodule, c. nodule lobes, d. longitudinal section of a nodule lobe.

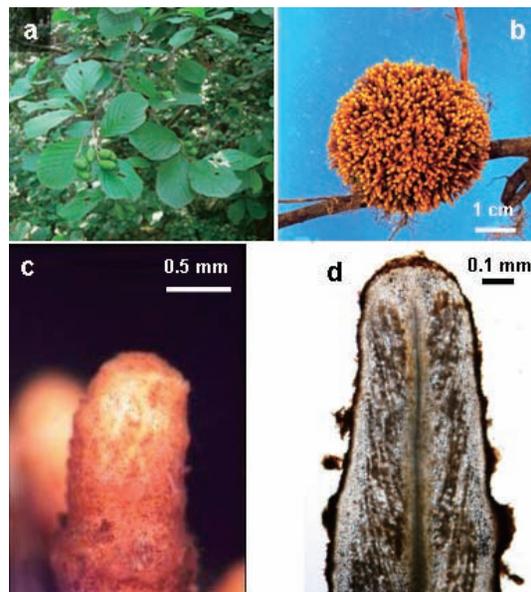


Photo. 8. a. カワラハンノキ, b. 根粒, c. 根粒裂片, d. 裂片断面.
(撮影および採取地. 茨城県かすみがうら市)

a. *Alnus serrulatooides*, b. a root nodule, c. a nodule lobe, e. longitudinal section of a nodule lobe.

らの分離菌が白色の綿毛状であると報告している。

7.2 ヤマモモ属 (*Myrica*)

わが国には、2種が知られている。これら2種から菌を分離した。

7.2.1 ヤマモモ (*M. rubra* Sieb. et Zucc.)

常緑高木 (Photo 9a, b)。高さ 20 m、胸高直径 1 m にも達する。雌雄異株。暖地の山地に生える。本州 (房総

半島南部および福島県以西)、四国、九州、沖縄に分布。果実は 6~7 月に赤く熟する。果実を食用とする大粒品種による山林果樹としての栽培が、徳島、高知、和歌山で盛んである。治山事業にも用いられる。

7.2.2 ヤチヤナギ (*M. gale* L. var. *tomentosa* C. DC.)

落葉低木 (Photo 10a, b)。寒地の湿地に生える。高さ 0.3~0.6 m になる。雌雄異株。本州 (三重県以北)。北海



Photo. 9. a. ヤマモモ, b. 果実, c. 根粒, d. 根粒裂片, e. 裂片断面.
(撮影および採取地, 茨城県つくば市)
a. *Myrica rubra*, b. fruits, c. root nodules, d. nodule lobes, e.
longitudinal section of a nodule lobe.

道に分布。枝や果実には、やや香気がある。

7.2.3 根粒

ヤマモモおよびヤチヤナギの根粒先端から根が再分化している (Photos 9c-e, 10c-e)。根粒の色は、肌色から薄桃色であり、褐色の鱗片に覆われている。径は 1 mm 程度である。ヤマモモ根粒内のフランキア菌感染細胞の分布は、維管束の周辺部分の比較的薄い層に分布している。

7.2.4 フランキア菌

ヤマモモ属根粒からの分離菌は桃色をし (Photo 1d)、培地の色を淡褐色にさせるものもある。Hiyoshi ら (1988) は、ヤマモモからの分離菌は、輝赤色をしていると報告している。

7.3 グミ属 (*Elaeagnus*)

わが国には、14 種が知られている (北村・村田 (1971))。このうち 3 種から菌を分離している。以下に、その 2 種について記述する。

7.3.1 アキグミ (*E. umbellate* Thunb.)

落葉低木 (Photo 11a, b)。日当たりの良い川原や原野に群生することが多い。枝分かれして、高さ 2~3 m に

達することもある。北海道 (渡島半島)、本州、四国、九州などに分布。果実は、10~11 月に赤く熟する。変種に、海岸生のマルバアキグミ (var. *rotundifolia* (Makino) Kitamura) がある。

7.3.2 ナワシログミ (*E. pungens* Thunb.)

常緑低木 (Photo 12a, b)。暖地の海岸近くに生える。高さ 2.5 m になる。本州 (伊豆半島以西)、四国、九州に分布する。小枝はしばしば刺になる。5 月頃に果実は熟する。

7.3.3 根粒

先端部は白色から薄いクリーム色。先端部以外は、濃褐色の鱗片に覆われている (Photos 11c, 11d, 12c, 12d)。裂片の大きさは、ナワシログミでは 1.5~3 mm、アキグミでは 1~2 mm である。

7.3.4 フランキア菌

1 変種をふくむ 3 種のグミ属根粒から、これまで、8 菌株を分離している。菌は薄いピンク色をしており (Photo 1c)、また培地の色が次第に茶変するものもある。福本らは (1995)、ナワシログミから分離した菌株が白色の綿毛状をしていることを報告した。

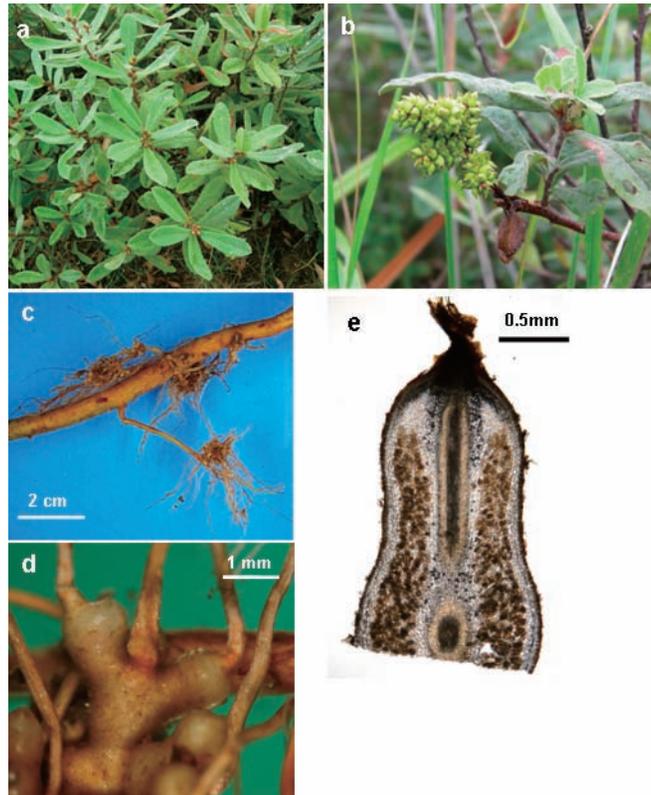


Photo. 10. a. ヤチヤナギ, b. 果実, c. 根粒, d. 根粒裂片, e. 裂片断面.
 (撮影または採取地. a-b;北海道苫小牧市, c-e;青森県六ヶ所村)
a. Myrica gale var. *tomentosa*, b. fruits, c. root nodules, d. nodule lobes, e. longitudinal section of a nodule lobe.

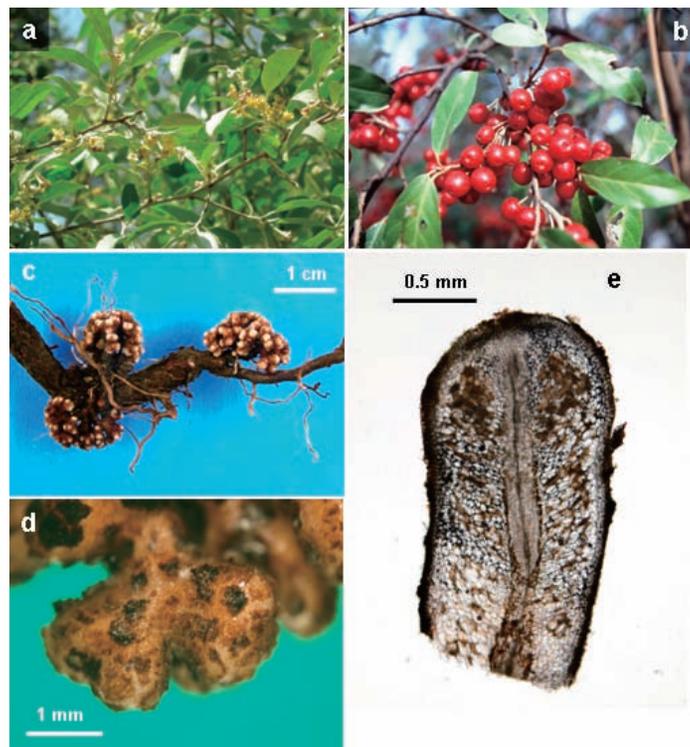


Photo. 11. アキグミ. a. 花, b. 果実. マルバアキグミ. c. 根粒, d. 根粒裂片, e. 裂片断面.
 (撮影または採取地. a;茨城県つくば市, b;富山県黒部市, c-e;茨城県東海村)
Elaeagnus umbellata, a. flowers, b. fruits, *E. umbellata* var. *rotundifolia*, c. root nodules; d. nodule lobes; e. longitudinal section of a nodule lobe.



Photo. 12. a. ナワシログミ, b. 花, c. 根粒, d. 根粒裂片, e. 裂片断面.
(撮影および採取地, 茨城県つくば市)

a. *Elaeagnus pungens*, b. flowers, c. a root nodule d. nodule lobes, e. longitudinal section of a nodule lobe.

7.4 ドクウツギ属 (*Coriaria*)

わが国には、ドクウツギ 1 種のみが知られている。菌の分離は試みられてきたが、菌の分離は出来ていない。

7.4.1 ドクウツギ (*C. japonica* Asa Gray)

落葉低木(Photo 13a, b)。川岸、山地、海浜などに生える。地際からよく枝分かれし、高さ 1~2 m になる。北海道、本州(近畿以東)に分布する。果実は、赤色から紫黒色に熟する。果実だけでなく、枝や葉も有毒である。

7.4.2 根粒

ドクウツギの根粒は、全体が薄黄土色をしており表面は、薄茶色の鱗片に覆われている(Photo 13c-f)。径は 1.5~2 mm 程度、ハンノキの根粒のように個々の裂片が密集した形状をしている。根粒内部では、維管束は、根粒の中心を伸びず、偏在しており、感染細胞は、維管束を均一に取り囲んで分布はしていない。

7.4.3 フランキア菌

ドクウツギ根粒からの菌の分離の報告はない。海外においては、*C. nepalensis* Wall. 根粒からのフランキア菌の分離が報告されている(Chaudhary & Mirza, 1987; Hu ら, 1996)。

7.5 モクマオウ属 (*Casuarina*)

モクマオウ属は、以前は、モクマオウ科の唯一の属であったが、4 属に分けられている。モクマオウ科には 65 種が知られ、オーストラリアや東南アジアなどに分布する。わが国には、4 種程度のモクマオウ属樹木が、防風林等として、明治以降、沖縄や小笠原に導入されてきている。そのうち、トキワギヨリュウ(*C. equisetifolia* L.)の根粒から菌を分離している(山中, 1997; Tani ら, 2003)

7.5.1 トキワギヨリュウ (*C. equisetifolia*)

常緑高木(Photo 14a)。オーストラリア北部などに自生し、世界各地に広く栽培されている。高さは 20 m ぐらいに達する。

7.5.2 根粒

トキワギヨリュウの根粒は、ヤマモモからの根粒と同じように、裂片先端部から根が再分化する(Photo 14b, c)。裂片の大きさは、径 0.7~1 mm 程度である。

7.5.3 フランキア菌

これまで、3 菌株を得ている。いずれも、白色から薄灰色である。分離菌を液体培養すると、ガラス容器に菌体が接着する場合がある。

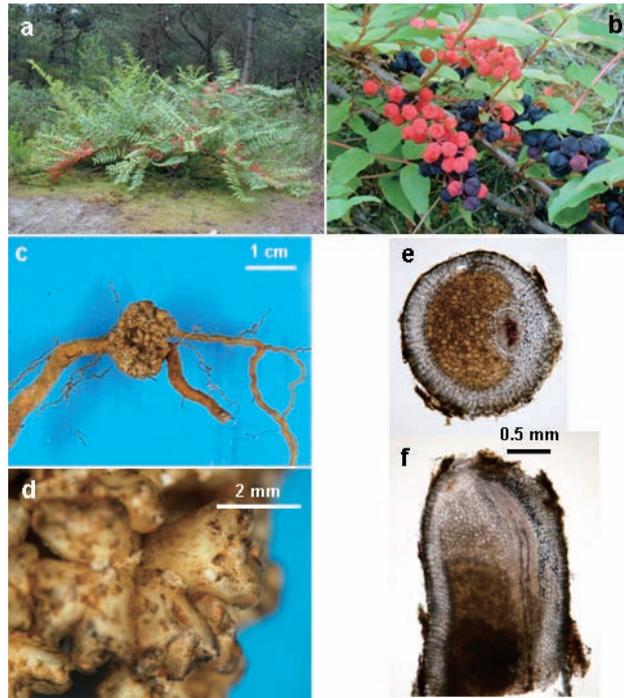


Photo. 13. a. ドクウツギ, b. 果実, c. 根粒, d. 根粒裂片, e. 裂片横断面, f. 裂片縦断面. (撮影および採取地. a-f; 茨城県東海村)

a. *Coriaria japonica*, b. fruits, c. a root nodule, d. nodule lobes, e. cross section of a nodule lobe, f. longitudinal section of a nodule lobe.

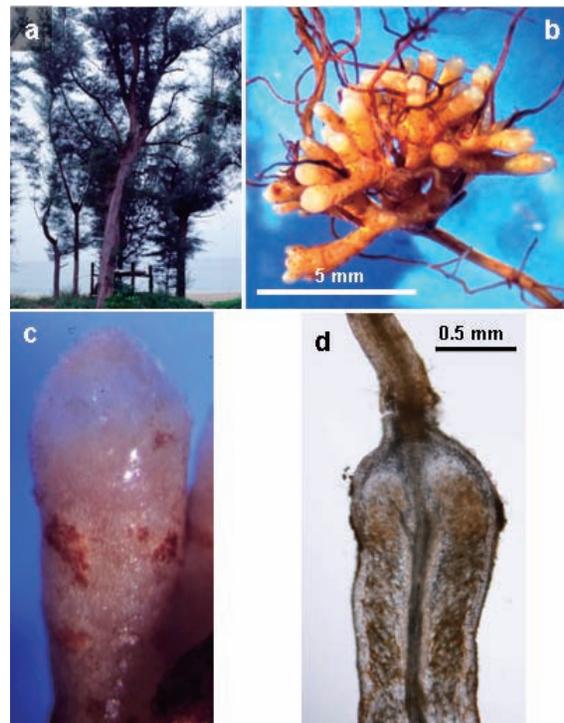


Photo. 14. a. トキワギョリュウ, b. 根粒, c. 根粒裂片, d. 裂片断面. (撮影および採取地. 沖縄県竹富町)

a. *Casuarina equisetifolia*, b. root nodules, c. a nodule lobe, d. longitudinal section of a nodule lobe.

7.6 ヒッポファエ属 (*Hippophaë*)

ヒッポファエ属は6種が知られ、中国、モンゴル、インドなどのアジア地域から、イギリス、フランス、北欧諸国などのヨーロッパ地域まで、広い地域に自生するが、日本には自生しない(石井 2003)。

7.6.1 シーベリー (*Hippophaë rhamnoides* L.)

落葉低木 (Photo 15a, b)。スナジグミや沙棘(サジー)とも呼ばれる。中国、ロシアおよびヨーロッパにおいて自生し、果実や葉を利用するため、また砂防用に植栽されている(石井, 2003)。日本には、近年、果樹として導入された。

7.6.2 根粒

シーベリーの根粒は、グミ属の根粒と同様に、先端部は白色から薄いクリーム色をし、基部は、濃褐色の鱗片に覆われている (Photo 15c-e)。径は、1~2 mm 程度である。

7.6.3 フランキア菌

国内に生息する個体からの分離と接種試験による根粒形成は報告されていない。

8. おわりに

フランキア菌の研究は、1978年に初めて純粋培養の報告がなされて以降、菌と樹木に関する生態、生理、進化および系統分類などの多岐にわたる様々な研究が取り組まれてきている。後者については、分離培養が不可能であっても、根粒内に生息するフランキア菌を直接に解析することが可能である。また2007年には、3

つの菌株のゲノム塩基配列が決定された(Normandら, 2007)。一方、放線菌根性植物には、ヤマモモやシーベリーなどの果樹や、ハンノキなどの緑化樹としての有効利用が期待されるものもあり、今後は、実用化に向けた研究の進展が期待される。

謝辞

本研究においては、日本各地での放線菌根性樹木の根粒の採集が不可欠であった。それに関して、以下の方々に多大なご協力を賜った。ここに感謝申し上げる：琉球大学農学部・新里孝和教授、沖縄県森林資源研究センター・伊禮英毅氏、長野県環境保全研究所・須賀丈氏、農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター・石井現相氏、および森林総合研究所の多くの職員の方々に。本研究の一部は、独立行政法人生物資源研究所・平成7年度微生物遺伝資源探索収集調査による。

引用文献

- Baker, D.D. (1987) Relationships among pure cultured strains of *Frankia* based on host specificity, *Physiologia Plantarum*, **70**, 245-248.
- Baker, D.D. and Schwintzer, C.R. (1990) Introduction. In Schwintzer C.R. and Tjepkema J.D. (eds.) "The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants", Academic Press, San Diego, 1-13.
- Benson, D.R. and Dawson, J.O. (2007) Recent advances in the biogeography and genecology of symbiotic *Frankia* and its host plants, *Physiologia Plantarum*, **130**, 318-330.
- Benson, D.R. and Silvester, W.B. (1993) Biology of



Photo. 15. a. シーベリー, b. 果実, c. 根粒, d. 根粒裂片, e. 裂片断面。(撮影および採取地、北海道札幌市)

a. *Hippophaë rhamnoides*, b. fruits, c. root nodules, d. nodule lobes, e. longitudinal section of a nodule lobe.

- Frankia* strains, actinomycete symbionts of actinorhizal plants, *Microbiological Reviews*, **57**, 293–319.
- Callaham, D., Del Tredici, P. and Torrey, J.G. (1978) Isolation and cultivation in vitro of the actinomycete causing root nodulation in *Comptonia*, *Science*, **199**, 899–902.
- Chaudhary, A.H. and Mirza, M.S. (1987) Isolation and characterization of *Frankia* from nodules of actinorhizal plants of Pakistan, *Physiologia Plantarum*, **70**, 255–258.
- 福本勉・石沢謙哉・武藤直紀 (1992) 試験管内養液栽培法による窒素固定菌フランキアの純粋分離と根粒形成, *日本土肥誌*, **63**, 325–331.
- 福本勉・和田富吉・武藤直紀 (1995) ナワシログミに共生する窒素固定菌フランキアの純粋分離, *日本土肥誌*, **66**, 490–498.
- 橋詰隼人・中田銀佐久・新里孝和・染郷正孝・滝川貞夫・内村悦三. (1993) 図説実用樹木学, 朝倉書店, 東京, 214p.
- 林弥栄編 (1985) 山溪カラー名鑑日本の樹木, 山と溪谷社, 東京, 751p.
- Hiyoshi, T., Sasakawa, H., Yatazawa, M. (1988) Isolation of *Frankia* strains from root nodules of *Myrica rubra*, *Soil Science and Plant Nutrition*, **34**, 107–116.
- Hu, C., Zhou, P. and Zhou, Q. (1996) Biological characterization of *Coriaria* strains, *Acta Microbiologica Sinica*, **36**, 132–137.
- Huss-Danell, K. (1997) Actinorhizal symbioses and their N₂ fixation, *New Phytologist*, **136**, 375–405.
- 石井現相 (2003) 新しい小果樹ヒッポファエ栽培マニュアル, 北海道農業研究センター研究資料, **62**, 1–32.
- Jeong, S.C., Ritchie, N.J. and Myrold, D.D. (1999) Molecular phylogenies of plants and *Frankia* support multiple origins of actinorhizal symbioses, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **13**, 493–503.
- 北村四郎・村田源 (1971) 原色日本植物図鑑・木本編 I, 保育社, 大阪, 453p.
- 北村四郎・村田源 (1979) 原色日本植物図鑑・木本編 II, 保育社, 大阪, 545p.
- Lechevalier, M.P. (1983) Cataloging *Frankia* strains, *Canadian Journal of Botany*, **61**, 2964–2967.
- Lechevalier, M.P. and Lechevalier, H.A. (1990) Systematics, isolation, and culture of *Frankia*. In Schwintzer C.R. and Tjepkema J.D. (eds.) “*The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants*”, Academic Press, San Diego, 35–60.
- Myrold, D.D. (1994) *Frankia* and the actinorhizal symbiosis. In Weaver, R.W., Angle, S. and Bottomley, P. (eds.) “*Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*”, Soil Science Society of America, Madison, 291–328.
- Newcomb, W. (1981) Fine structure of the root nodules of *Dryas drummondii* Richards (Rosaceae), *Canadian Journal of Botany*, **59**, 2500–2514.
- 西山幸司 (1992) 微生物の保存法, “新編土壌微生物実験法”, 土壌微生物研究会編, 養賢堂, 東京, 138–142.
- Normand, P., Queiroux, C., Tisa, L.S., Benson, D.R., Rouy, Z., Cruveiller S. and Médigue, C. (2007) Exploring the genomes of *Frankia*, *Physiologia Plantarum*, **130**, 331–343.
- Quispel A. (1990) Discoveries, discussions, and trends in research on actinorhizal root nodule symbioses before 1978. In Schwintzer C.R. and Tjepkema J.D. (eds.) “*The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants*”, Academic Press, San Diego, 15–33.
- Schwintzer, C.R. (1990) Spore-positive and spore negative nodules. In Schwintzer C.R. and Tjepkema J.D. (eds.) “*The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants*”, Academic Press, San Diego, 177–193.
- Schwintzer, C.R. and Tjepkema, J.D. (1990) *The Biology of Frankia and Actinorhizal Plants*. Academic Press, San Diego, 408p.
- Shibata, K. (1902) Cytologische Studien über die endotrophen Mykorrhizen, *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik*, **37**, 643–684.
- Swensen, S.M. (1996) The evolution of actinorhizal symbioses: evidence for multiple origins of the symbiotic association, *American Journal of Botany*, **83**, 1503–1512.
- Tani, C., Sasakawa, H., Takenouchi, K., Abe, M., Uchiumi, T., Suzuki, A. and Higashi, S. (2003) Isolation of endophytic *Frankia* from root nodules of *Casuarina equisetifolia* and infectivity of the isolate to host plants, *Soil Science and Plant Nutrition*, **49**, 137–142.
- 植村誠次 (1952a) ハンノキ属の根瘤に関する研究 (第2報) ハンノキ属根瘤形成の時期並びに2, 3金肥施肥の影響について, *林試集報*, **62**, 41–52.
- 植村誠次 (1952b) ハンノキ属の根瘤に関する研究 (第3報) ハンノキ属無菌苗養成に関する2, 3の実験, *林試集報*, **62**, 53–66.
- 植村誠次 (1952c) ハンノキ属の根瘤に関する研究 (第4報) ハンノキ属根瘤より放射状菌 (Actinomycetes) の分離に関する試験, *林試研報*, **52**, 1–18.

- 植村誠次 (1952d) ハンノキ属の根瘤に関する研究 (第5報) ハンノキ属根瘤より *Streptomyces* の分離に関する2, 3の新手法について, 林試研報, **57**, 209-226.
- 植村誠次 (1961) ハンノキ属の根瘤から分離された放射状菌に関する研究—研究成果7, 農林水産技術会議事務局, 東京, 90p.
- 植村誠次 (1977) 根粒菌と根粒植物. “アーバンクボタ 14号 森林土壌の生態”, クボタ, 大阪, 22-25.
- Wall, L.G. (2000) The actinorhizal symbiosis, *Journal of Plant Growth Regulation*, **19**, 167-182.
- 山中高史 (1997) 沖縄における放線菌根菌 (フランキア菌) の探査と収集, 微生物遺伝資源探索収集調査報告書, **9**, 1-6.
- 山中高史・岡部宏秋 (1995) ヤマハンノキの根粒から分離されたフランキア菌, 日林誌, **77**, 269-271.
- 山家義人・岡部宏秋 (1993) 根粒菌及び内生菌根菌の増殖法・接種法の開発, “主要マメ科樹木等の生理機構の解明と育苗技術の開発に関する研究—研究成果289”, 田崎清・森川靖編, 農林水産技術会議事務局, 東京, 33-40.