

林木の組織培養に関する研究 (XIV)

— クヌギ組織培養苗の順化における VA 菌根菌接種の影響 —

大分林業試験場 佐々木義則
九州大学薬学部 正山 征洋

1. はじめに

組織培養により発根苗を得た後、試験管から取り出し外環境に慣れさせるといった順化の過程が必要となる。この際、温度、湿度、照度等の環境条件、無菌から有菌状態、従属栄養から独立栄養への移行等、試験管内とは著しく異なった変化に遭遇するため培養苗が生育不良あるいは枯損し、順化が困難な場合がある。従来、順化の方法としては物理的制御（湿度等）および化学的制御（栄養剤、CO₂等）が中心であり、生物的制御（微生物等）による順化を試みた研究は少ない。今回、クヌギ組織培養苗の順化において VA 菌根菌を接種し、生育に及ぼす影響を調べた。

本研究を遂行するにあたり VA 菌根菌の資材および情報等を提供していただいたセントラル硝子（株）の伴資英氏および出光興産（株）の野口泰氏に感謝の意を表す。

本研究は地域バイオテクノロジー研究開発促進事業「優良木からの種苗増殖技術の開発」の一環として実施したものである。

2. 材料および方法

実験に用いた発根苗は試験管内で無菌的に得られたおのであり、実験-IおよびIIでは2週間、実験-IIIでは8週間の予備的な順化を行った培養苗を使用した。

実験計画等は表-1に示すとおりで3種類の実験を行った。実験-IおよびIIは人工気象室、実験-IIIは自動ミスト装置付きのガラス室で実施した。人工気象室の環境条件は5,000ルクス、明期16時間、暗期8時間、温度は明期25℃、暗期20℃とし、湿度は90%とした。ガラス室では環境制御は行わなかった。培養土には実験-IおよびIIではパーミキュライト、実験-IIIでは苗畑土を用いた。実験-IおよびIIでは直径7cm、深さ7cm、実験-IIIでは直径12cm、深さ11cmのビニールポットを使用した。実験-IおよびIIにおいては施肥と

灌水を兼ねてハイポネックス（10-3-3）の1,000倍液を1週間に1度、また実験-IIIでは緩効性肥料のウッドエース（12-6-6,15g/個）をポットあたり1個施用した。

実験に用いた VA 菌根菌は、顆粒状に成形されたものであり、それぞれの詳細な内容は表-2に示した。VA 菌根菌は根部に接触する位置に施用し、粉炭（顆粒状活性炭素）は培養土全体に混和した。

表-1 実験計画

実験	要因 (水準)	条件, 実験期間
I	VA 菌根菌 (有, 無)	セラキンコン 1g/ポット 1月17日~4月8日
II	VA 菌根菌 (有, 無) 粉炭 (有, 無)	Dr キンコン 1g/ポット 粉炭 3g/ポット 7月29日~9月9日
III	VA 菌根菌 (有, 無)	Dr キンコン 2g/ポット 6月14日~9月30日

表-2 実験に用いた VA 菌根菌

VA 菌根菌の 名称	菌根菌の 種類	胞子の大きさ (μ)	含有胞子数 (個/g)
セラキンコン	<i>Gigaspora margarita</i>	200~300	20
Dr キンコン	<i>Glomus sp.</i>	20~100	20~200

(注) セラキンコン: セントラル硝子 (株), Dr キンコン: 出光興産 (株), Dr キンコンは胞子のみでなく菌糸も含む。

3. 結果

クヌギ組織培養苗の順化において、VA 菌根菌（セラキンコン）を接種し、12週間後の生育状態を調べた結果を表-3に示した。VA 菌根菌の接種区は対照区に比べて生存率が高く、伸長成長も著しく良好であった。

クヌギ組織培養苗の順化において VA 菌根菌（Dr キンコン）と粉炭を施用した結果は表-4に示した。いず

Yoshinori SASAKI (Ooita Pref. Forest Exp. Stn., Hita Ooita 877-13) and Yukihiro SHOYAMA (Fac. Pharm. Sci., Kyushu Univ., Fukuoka 812)

Studies on tissue culture of forest trees (XIV), Effects of VA mycorrhizal fungi inoculation on acclimatization of plantlets of *Quercus acutissima* propagated *in vitro*.

れの処理区も対照区に比べて生存率が高く、特に粉炭区およびVA菌根菌+粉炭区は生存率が著しく高かった。伸長成長はVA菌根菌+粉炭区が最も旺盛で、次いでVA菌根菌区が良好であった。粉炭区においても伸長成長がやや促進される傾向が認められた。

8週間の順化を行ったクヌギ培養苗にVA菌根菌(Drキンコン)を接種し16週間後の生育を調べた結果は表-5に示した。生存率はVA菌根菌接種区の方が高かった。伸長成長は統計的に有意差はなかったがVA菌根菌接種区の方が良好な傾向が認められた。

4. 考 察

VA菌根菌は多くの植物の根に共生する糸状菌の一種であり、6属、150種が報告されている^{4,6)}。VA菌根菌は土壌中のリン酸やミネラルの吸収を助け、植物の成長を促進したり、環境ストレスに対する抵抗性を高める等の作用を有しているため、作物生産の応用面から注目され、近年は研究例も多い^{4,5,6)}。しかしながら組織培養等で育成した無菌あるいは無菌に近い状態の苗にVA菌根菌を接種してその影響を調べた報告例は少ない。

MOOSE³⁾は無菌のリング苗木にVA菌根菌を接種して殺菌土壌を詰めた鉢で育てると無接種の苗木に比べて成長が促進されることを報告している。WANG et al.⁷⁾は組織培養によって育成したキク科、シノブ科、サトイモ科の培養苗をVA菌根菌を混合した培養土で育成することにより良い結果を得ている。石原¹⁾は組織培養で育成したリングの苗木にVA菌根菌の接種を行っているが、成長への影響については言及していない。

筆者らは今回クヌギの組織培養の順化において2種類のVA菌根菌を接種しその影響を調べてみた。その結果、いずれの場合も生存率が上がり、伸長成長も促進される現象が認められた。またVA菌根菌と粉炭の併用処理により生育が良好になる傾向が認められた。小川⁴⁾は粉炭の施用によってVA菌根菌の感染率が上がり作物の生育が良好になることを報告しており、筆者らもこれと同様の結果が得られた。小池ら²⁾はクヌギ実生苗のポット育苗(有菌条件下)においてVA菌根菌(Drキンコン)の施用量(0,0.5,2.4g/ポット)別の実験を行

っており、その結果伸長成長は2g区が最も良好であり対照区を100とすると157であったという。筆者らがガラス室で行った実験では、小池ら²⁾のような著しい促進効果は認められなかった。これは供試材料の違いおよび非滅菌土壌を使用したこと等に原因があると考えられる。

以上のことからクヌギ組織培養苗の順化においてもリング苗³⁾等の場合と同様でVA菌根菌接種の効果が期待できるものと推察され、今後他の樹種についても検討する必要がある。

引用文献

- (1) 石原愛也：昭和59・60年度科学研究費補助金(一般研究C)研究成果報告書, 1~17, 1986
- (2) 小池英恵ほか：日本緑化工学会都市緑化技術部会・成果報告会発表要旨集, 3, 9~10, 1994
- (3) Mosse, B.: Nature, 179, 922~924, 1957
- (4) 小川真：作物と土をつなぐ共生微生物, pp.241, 農文協, 東京, 1987
- (5) 斎藤雅典：東北農試研究資料, 12, 27~34, 1992
- (6) 鈴木源土・松崎克彦：化学と生物, 32(4), 238~246, 1994
- (7) WANG, H.et al.: J. Amer. Soc. Hort. Sci., 118(6), 896~901, 1993

表-3 クヌギ培養苗の順化におけるVA菌根菌接種の影響(実験-I)

処 理	開始時苗高 (cm)			12週間後苗高 (cm)			生存率 (%)	伸長量 (cm)	比数 (%)
	N.	M.V.	± S.D.	N.	M.V.	± S.D.			
VA菌根菌	20	5.0	±0.6a	19	24.7	±12.2b	95.0	19.7	216
対照	20	5.0	±0.7a	17	14.1	± 6.2a	85.0	9.1	100

(注) N:測定数, M.V.:平均値, S.D.:標準偏差を示す。同一のアルファベット文字がついた平均値間では5%水準で有意差がないことを示す。異なった文字間では5%水準で有意差があることを示す。(表-4, 表-5においても同様)

表-4 クヌギ培養苗の順化におけるVA菌根菌および粉炭施用の影響(実験-II)

処 理	開始時苗高 (cm)			6週間後苗高 (cm)			生存率 (%)	伸長量 (cm)	比数 (%)
	N.	M.V.	± S.D.	N.	M.V.	± S.D.			
VA菌根菌	23	5.5	±2.4a	22	9.2	±4.6ab	95.7	3.7	137
粉炭	23	5.7	±2.8a	23	8.9	±3.8a	100	3.2	119
VA菌根菌+粉炭	23	5.7	±2.4a	23	10.1	±3.8b	100	4.4	163
対照	23	5.3	±2.8a	21	8.0	±4.0a	91.3	2.7	100

表-5 クヌギ順化苗の成長に及ぼすVA菌根菌接種の影響(実験-III)

処 理	開始時苗高 (cm)			16週間後苗高 (cm)			生存率 (%)	伸長量 (cm)	比数 (%)
	N.	M.V.	± S.D.	N.	M.V.	± S.D.			
VA菌根菌	21	13.8	±5.7a	19	84.4	±18.2a	90.5	70.6	110
対照	22	13.2	±5.2a	18	77.3	±18.2a	81.8	64.1	100