

アーバスキュラー菌根菌の緑化用資材化技術の開発

山本 将太*¹ 井上 航*¹ 村上 智哉*¹ 天内 和人*²

Development of materials for re-vegetation using Arbuscular Mycorrhizal Fungi

Syota YAMAMOTO*¹, Wataru INOUE*¹ and Tomoya MURAKAMI*¹
Kazuhiro AMANAI*²

Abstract

The growing body of evidence of the negative impacts that roads and other linear infrastructure have on wildlife and ecosystems suggests that infrastructure represents a major driving factor of biodiversity loss. Therefore, it is important to revegetate the ground in order to prevent biodiversity loss. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) colonize roots and benefit host plants by increasing growth and the ability to withstand or overcome harsh environments. In this study, we developed a revegetation filter using AMF. We mixed the host plant seeds with AMF spores and made the compound into sheets. In the sheets, the host plant roots can be infected with AMF and grow more stably and efficiently. Therefore, the revegetation filter we developed can be used in revegetation effectively.

Key Words : arbuscular mycorrhizal fungi, revegetation filter

1. 結論

現在, 世界中で環境問題に対する関心が非常に高まってきている. 特に土木分野においては, 道路や橋の新設によって多くの切土や盛土による露出した地盤が生まれているため, これらの法面を緑化し, 自然を修復する技術を確立することは重要な課題である.

しかしながら, これらの地盤は乾燥が激しい, 土壌が硬い, 土壌の養分供給能力が低いなどの問題を抱えていることが多い. さらに露出した地盤は, 空気との接触による酸化や, 降雨によって酸性に傾く可能性が高い¹⁾. そのような地盤を緑化する方法として, 炭酸カルシウム工法や暖衝遮断, 緑化マット工法など様々な緑化工法が考案され成果をあげてきた²⁾. さらに, その手段の一つとしてアーバスキュラー菌

根菌 (AM 菌) の安定的な共生による持続性のある生態的な緑化の方法がある³⁾. AM 菌は植物の根に感染することにより, 宿主植物の成長を促進させたり, 水不足や塩類障害に対する抵抗力を高めたりする効果があるため, 切土や盛土による露出した地盤の緑化に非常に有効である⁴⁾.

しかし, 実際の緑化工事では AM 菌の使用法として, 他の有機資材と攪拌させ地盤に吹付けたり (客土吹付け工), 種子と一緒に吹付け機に投入し攪拌させ吹付ける (種子吹付け工) など, 宿主植物の種子と菌根菌胞子の割合が場所によって定まっておらず, 効率的な緑化ができていない⁴⁾.

そこで本研究では, AM 菌を効率よく活用する為に新たな緑化用資材の開発を試みた. その方法は, 宿主植物種子と菌根菌胞子との混合物を「シート状」に加工するものである. シート状に加工することに

*1 環境建設工学専攻

*2 一般科目 (生命科学)

より、菌根菌胞子と種子の位置固定が可能となり、どの場所でも種子と胞子の割合が同じとなって安定的な菌根菌の感染が可能となる。また、加工の材料は全て土壌微生物によって完全に分解されるものを使用し、緑化後の環境面への配慮も考慮した。

そして、この開発したシートを実際に法面の保護に用いられる緑化用の開放型フィルターに組み込み、法面に敷設することによって、AM 菌を用いた新しい法面の緑化工法の1つとして施行が可能かどうかを調査した。そのために、現場に近い条件で降雨の影響と乾燥の影響を調査し通常のフィルターとシートを付加したフィルターとの実験を行い濁度と水分の蒸発量を比較検討した。

2. 実験概要

2.1 シート性能の評価

(1) 材料と作成工程

開発した資材の宿主植物として *Lotus corniculatus var. corniculatus* (セイヨウミヤコグサ) の種子を使用し、AM菌胞子はDrキンコン (出光興産) を用いた。宿主植物種子と菌根菌胞子は、紙パルプに混合し、これをシート状に整形したのち、室温で24時間乾燥し作成した。

(2) 発芽率

上記の材料で6つのシート加工のサンプルを作り、プランターに設置した。プランターは赤球土を底に敷き、まさ土を8分目まで入れ作成したシートを設置し、その上にバーミキュライトと泥炭を3:7で混合したもので覆って作成した。培養開始後3日、5日、7日、10日の発芽数を、カウンターを用いて測定し発芽率を調査した。シート加工をする前の種子のみの場合も同様に発芽数を測定し発芽率を調査した。発芽率は6サンプルについて測定し、それらの平均をとった。

(3) 菌根菌感染率

菌根菌の宿主植物への感染率の測定は、セイヨウミヤコグサの発芽後、2週間目から開始した。育成したセイヨウミヤコグサの根を、1週間毎に2ヶ月間サンプリングし、トリパンプルー染色を施した後、交点法により調査した。

トリパンプルー染色は、始めにサンプリングした根を試験管に入れて、根が浸る程度の10%水酸化カリウム (KOH) 溶液を注ぎ、根が透明になるまで15分程度加熱する。次にKOH溶液を捨て黄色い色が消失するまで水道水で洗い、試験管に戻し5%の塩酸を根が浸

る程度入れ5分程度おき塩酸を捨てる。そして、1%トリパンプルー溶液を乳酸で20倍に希釈したものを試験管に入れ、10分間加熱し、トリパンプルー溶液を捨てラクトグリセロール溶液 (乳酸:グリセロール:水、体積比=85.7:6.3:8.0) を入れて2日以上放置して脱色後、実体顕微鏡を用いて根の感染の確認を行う。交点法はシャーレをラクトグリセロール溶液で満たし、そこに染色した根を広げていれ、シャーレの裏に格子 (1mm, 2mm, 3mm間隔) の入ったOHPシートを置き、実体望遠鏡を用いて格子と根の交わっている部分が感染しているか否かを確認しそれぞれの数をカウントする。感染率の導出は以下の公式 (1) に従う。

$$C = (C_c / C_a) \times 100 \quad (1)$$

Cは感染率 (%), C_c は感染の認められた交差数, C_a は全交差数を表している。また, C_a は100以上である必要があるため, 100に満たない場合は格子の目の粗さを調節してやり直す。感染率は1週間毎に4サンプルについて測定し、それらの平均をとった。

2.2 現場試験

2.2.1 降雨試験

(1) 土の物理的性質

本実験には山口県周南市の法面崩壊現場より採取したまさ土を用いた。図1に実験に使用したまさ土の粒径加積曲線を、表1に物理的性質を示す。まさ土の粒径加積曲線は勾配が緩やかになっており、粒径が広範囲に渡って分布している。また、粒径0.075mm以下のシルト分を約10%含んでいることがわかる。図2に示す締固め曲線より、最適含水比は9.51%、最大乾燥密度は2.00g/cm³である。なお、締固め試験の際の突固め回数は1層につき25回であり層数は3層、ランマーの重量は4.5kgである。

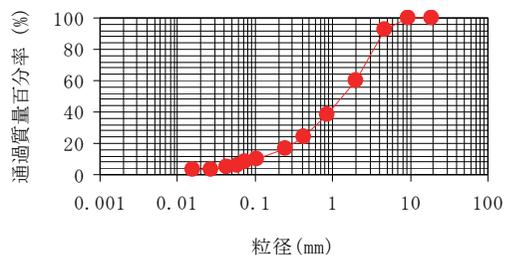


図1 まさ土の粒径加積曲線

表1 まさ土の物理的性質

| | | |
|--------|------------------------------------|------|
| 土粒子の密度 | ρ_s (g/cm ³) | 2.64 |
| 均等係数 | U_c | 20.0 |
| 曲率係数 | U_c' | 1.80 |
| 最適含水比 | W_{opt} (%) | 9.51 |
| 最大乾燥密度 | ρ_{dmax} (g/cm ³) | 2.00 |

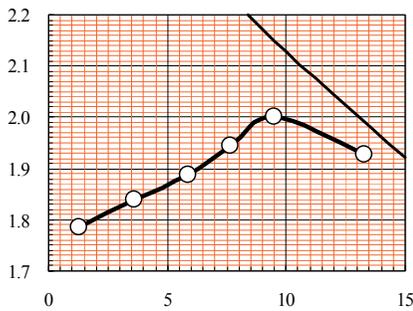


図2 まさ土の絞固め曲線

(2) 緑化用フィルター

本実験では、裸地、一般的な緑化用開放型フィルターを使用した場合、開放型フィルターの裏面に開発したシートを付加したフィルター(改良フィルター)を使用して降雨試験を行った。各フィルターの表面と裏面をそれぞれ写真1, 2に示す。フィルターは保護ネットと撥水性繊維で構成されており、厚さが8.0mmでやや厚めである。

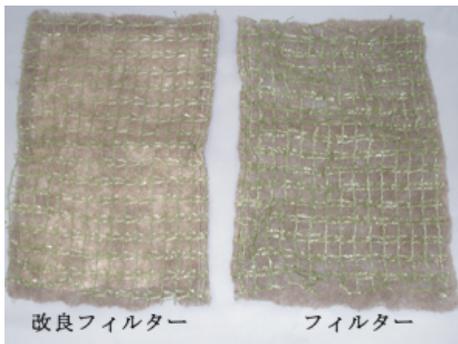


写真1 フィルター表面

このフィルターは実際の工事現場でも用いられ、

主に土壌浸食防止、濁水防止の役割を果たす。また、種子吹付工との併用も可能になっている。ポリエステル製の微細な撥水性繊維を使用しており、水を弾く性質を持っている。吸いきれなくなった水はフィルターの繊維内を通り、排水される。



写真2 フィルター裏面

(3) 降雨実験

実際の法面の土砂を使用し、降雨による地盤の流出物の影響を調査した。

本実験では、まさ土が最大乾燥密度の95%以上の締固め度を得られる施工含水比になるように締固め法面を作成し、降雨装置に設置した後に傾斜を $\theta = 30^\circ$ に調節した。そして、降雨装置を使用して人工的に雨を降らせ、各時間での供試体表面の流出水を採取して濁度を測定した。図3, 4に法面の形状の断面図と平面図を示す。斜面の寸法は縦90cm, 横60cm, 厚さ6cmとし、フィルターは合計12個の釘で固定した。1回の実験時間は2時間とし、濁度の基準値は赤土流出防止条例⁵⁾より200ppmとし、流出水を採取する時間は10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120分後とした。濁度の測定には濁度計を使用し、降水量は50mm/hと100mm/hの2種類で実験を行った。

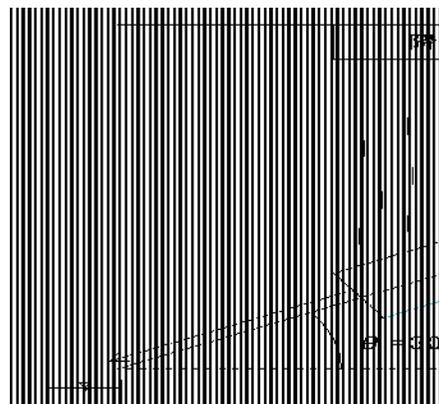


図3 降雨試験機の法面形状

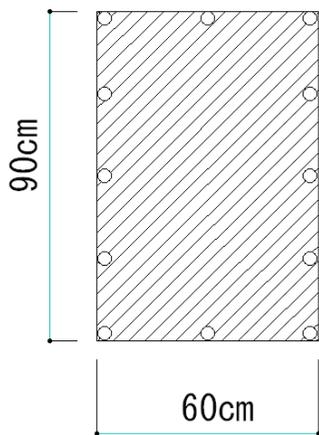


図4 法面平面図

2.2.2 含水比試験

(1) 土の物理的性質

本実験に用いた試料は、前記の降雨実験で用いた試料と同じものを使用した。締固め試験も同様に突固め回数は1層につき25回とし層数は3層、ランマーの重量は4.5kgである。

(2) 緑化用フィルター

緑化用フィルターは前に記述したものと同様のものを用いた。本実験は、降雨実験でも記した一般的な緑化用開放型フィルター、改良フィルター、開発したシートおよび裸地の4種類の条件で実験を行った。

(3) 含水比試験

実際の法面に近い条件で緑化用開放型フィルターが地盤表面の乾燥に対してどのような影響を与えるのかを調査した。

本実験に用いた試料は、まさ土が最大乾燥密度の95%以上の締固め度を得られる施工含水比になるように、プラスチック容器に締固めて法面の地盤表面を作成した。容器の寸法は縦20cm、横27cm、厚さ10cmで容量が約4.2ℓのものを使用した。そして、水を含ませた後に爪楊枝で9点支持をして、地盤とフィルターを密着させた。爪楊枝の材質は竹でできたものを用い、実際の現場での竹杭の役割とした。そして、1時間毎に供試体の重量を測定し水の蒸発量を調査した。各条件の供試体は5つずつ用意し、その平均から地盤表面の乾燥具合を比較した。写真3に地盤の表面乾燥試験開始時の状況を示す。



写真3 表面乾燥試験

3. 実験結果

3.1 シートの性能

3.1.1 発芽率

シート加工を施した種子の10日後の発芽状況を写真4に、種子のみの場合とシート状に加工した場合の発芽率の推移を図5に示す。シート状に加工した場合の発芽率と、種子のみの場合の発芽率を比較したところ、どちらも7割前後発芽し、あまり変化は見られなかった。このことから、シート状に加工した後も発芽率には影響がないことがわかる。ただ、初期の発芽数が種子のみの植生よりも低下している。

この結果はシートの作成過程に種子が受ける温度変化に原因があると考えられる。種子の発芽は、種子自身が持つ休眠性と環境要因によって巧みに調節されていて、温度変化もその要因の1つにあたる⁶⁾。つまり、種子がシートの作成の際に水に触れ、また乾燥するという過程で、発芽調節のメカニズムの休眠状態になんらかの影響がでたものと考えられる。



写真4 植生後の発芽状況

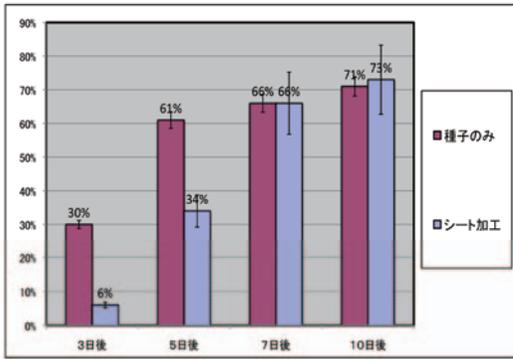


図5 発芽率の比較

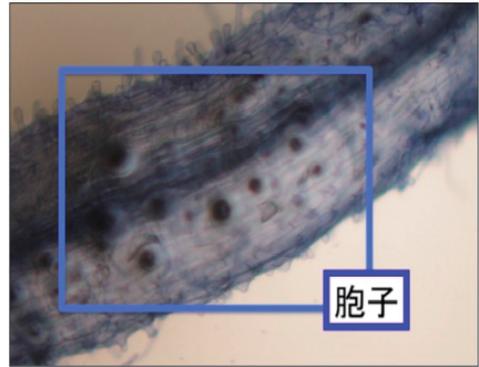


写真5 菌根菌の感染状況

3.1.2 菌根菌の感染状況

開発したシートから発芽した植物根のAM菌根菌の感染率の推移を図6に示す。2週間経過した段階では20%程度だった感染率も、6週間経過後には50%以上となっていることが確認され、胞子の形成も確認された(写真5)。

菌根菌胞子は土壤中に存在している間、温度と水分条件が揃えば発芽し、菌糸を伸ばして植物根に辿り着くまでの間は、ほとんど分岐せずに菌糸をまっすぐに伸ばし続ける。この時、もし近くに宿主植物根がない時は胞子中の栄養分が尽きないうちに伸びるのを休止する。宿主植物の根が近くにある場合は、根から発せられる菌糸誘導因子に反応し激しく分岐して新たな菌糸を次々と形成し、根に向かって放射状に菌糸の束を伸ばすことによって確実に根の表面に辿り着こうとする⁷⁾。今回の試験で、シート状に加工した後でも、これらの発芽能力や菌糸の伸長、感染能力が失われないことが明らかになった。

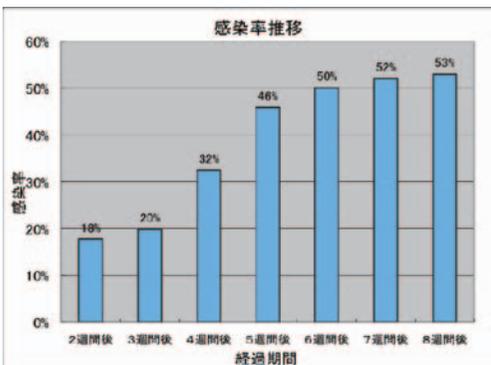


図6 感染率の推移

3.2 現場試験

3.2.1 降雨試験

フィルターによる保護を行わず、裸地法面で降雨実験を行った。写真6のように、実験開始前は平滑だった法面が、降水量50mm/hの雨を2時間降らせた後は写真7のように、降水量100mm/hの雨を2時間降らせた後は写真8のように、それぞれ激しい浸食を受けた。図7に示すとおり、降水量50mm/hと100mm/hの両方で実験開始10分後には最大の濁度を記録した。これは50mm/hの降雨で、赤土流出防止条例の基準値の約7倍、100mm/hでは約10倍の値である。50mm/hの場合では実験開始40分後に濁度が基準値を下回ったが、100mm/hの場合では2時間で基準値を下回ることにはなかった。この実験により、裸地法面は何もしないと基準値を大きく超える濁度が出るということが明らかになった。つまり、法面の崩壊を抑えるにはフィルター等による保護が必要であることが明らかである。



写真6 実験開始前(裸地)



写真7 実験終了後（裸地：50mm/h）



写真8 実験終了後（裸地：100mm/h）

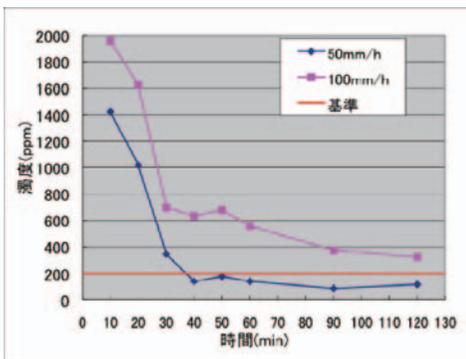


図7 時間と濁度の関係（裸地）

次に、一般的な開放型緑化用フィルターを法面に敷設して降雨実験を行った。図8に示すとおり、降水量50mm/hの場合では濁度の最大が200ppmを下回ったが、降水量100mm/hの場合では開始20分の間は200ppmを上回った。写真9に開始前のフィルターの状態を、写真10、11に実験終了後のフィルターの状態を示す。実験終了後のフィルターには大きな変化は見られない。フィルターが降雨による衝撃を抑えたた

め法面は侵食こそされなかったが、地盤の細粒分が抑えきれずに流出し濁度が大きくなったと考えられる。

この結果より、一般的な緑化用フィルターの場合には100mm/hの降雨では、初期の濁度を抑えることが出来ず、フィルター自体を重くしたりするなど、何らかの方法により法面との密着性を向上させる必要があることがわかる。



写真9 実験開始前（フィルター）



写真10 実験終了後（フィルター：50mm/h）



写真11 実験終了後（フィルター：100mm/h）

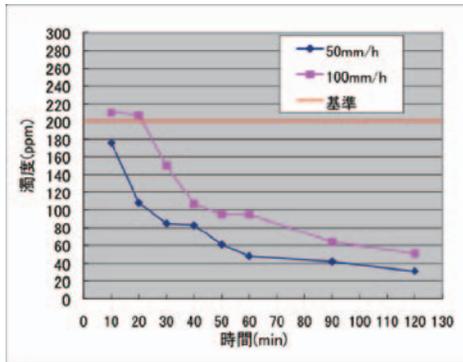


図8 時間と濁度の関係 (フィルター)

次に、改良フィルターを法面に敷設して降雨実験を行った。図9に示すとおり、降水量50mm/h, 100mm/hのどちらの場合でも、実験開始直後から実験終了まで濁度が200ppmを上回ることがなかった。写真12に開始前のフィルターの状態を、写真13と写真14に実験終了後のフィルターの状態を示す。実験終了後のフィルターには改良前の一般的な開放型緑化用フィルターと同じく、大きな変化は見られない。これに対し、改良フィルターは、フィルターが降雨の衝撃を緩和し法面の侵食を抑える事ができることに加えて、シートがフィルターよりも地盤と密着する表面積が広いこと細粒分を流出しにくくしていることで濁度を低く保つことが出来るのではないかと考えられる。

今後の研究としては、土砂が許容できる水量を上回った時に起こる越流に対してどういった挙動を示すのか確認する必要がある。また、その試験でも通常のフィルターと改良フィルターの比較検討をする必要がある。



写真12 実験開始前 (改良フィルター)

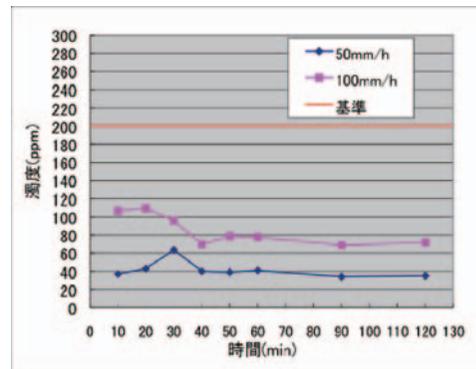
写真13 実験終了後 (改良フィルター：
50mm/h)写真14 実験終了後 (改良フィルター：
100mm/h)

図9 時間と濁度の関係 (改良フィルター)

3.2.2 含水比試験

地盤の表面乾燥試験開始から終了時までの12時間の気温、湿度の変化を図10、図11にそれぞれ示す。測定した日は常に気温が30℃を超え、湿度は雲に覆われて14時を過ぎたあたりから徐々に上がっていた。

各条件での時間と水の減少量の関係を図12に示す。裸地の場合は13時30分頃、シートのみの場合には15

時頃、一般的な緑化用開放型フィルターの場合は17時頃、改良フィルターの場合は19時頃に完全に乾燥している。この結果から、シートとフィルターを個々に敷設すると裸地と比べて1時間30分と3時間30分の乾燥を防ぐ効果があることが明らかになった。そして、両方を組合せて敷設した場合は5時間30分と乾燥を防ぐ時間が長くなることが明らかになった。

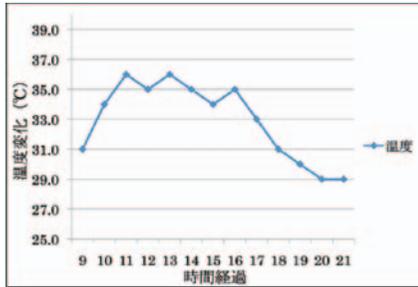


図10 気温と時間経過との関係

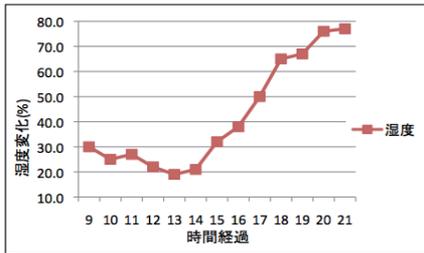


図11 湿度と時間経過との関係

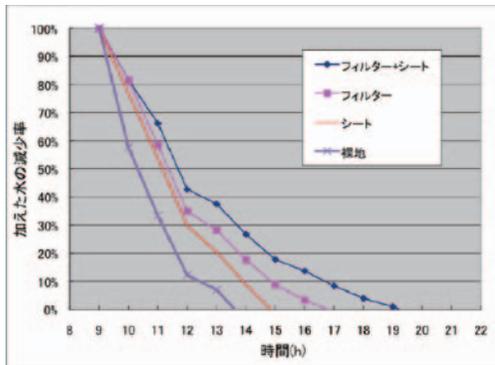


図12 時間と水の減少量との関係

4. 結論

本研究で開発したシートとフィルターの性能調査および現場試験をした結果、以下のことが明らかとなった。

- (1) 種子とアーバスキュラー菌根菌胞子をシート状に加工した後も、種子の発芽率は最終的に変化が無く、菌根菌も宿主植物根に効率よく感染する事が

可能である。

- (2) フィルターにシートを組込んだ改良フィルターは、一般的な開放型緑化用フィルターよりも地盤に触れる表面積が大きいため、密着性が高く、降雨の影響による濁度を初期の段階から抑える事が出来る。
- (3) 改良フィルターは、一般的な開放型緑化用フィルターよりも地盤表面の乾燥を防ぐ時間が長く、通より安定的な植生が可能である。

今後は、宿主植物種子と AM 菌胞子の割合を変化させ植生試験を行い、距離と感染率の関係を調べる必要がある。さらに、シート状に加工した場合の感染率と土壌に吹付けた場合の感染率の推移を比較し、シート状に加工する利点をより明確にすることが必要である。

さらに、改良フィルターが越流に対してどのような挙動を示し、どのくらいの流量まで濁度を抑えることが可能なのか検討していく必要もある。

謝辞

本研究を行うにあたり、御指導、御助言、御協力を頂いた徳山工業高等専門学校土木建築工学科上俊二教授、福田靖技官、ならびに地盤工学研究室の皆様にご心より感謝申し上げます。

文献

- 1) 日本緑工学会：環境緑化の辞典，pp. 254-259，朝倉書店，2005
- 2) 国土交通省東北地方整備局：酸性土壌ののり面の緑化について，pp. 1-4，2005.
- 3) 松崎克彦：アーバスキュラー菌根菌とその利用，農業および園芸，84(1)，pp. 170-175，養賢堂，2009.
- 4) 全国特定法面保護協会：法面緑化工の手引き，84(1)，pp. 5-10, 125-133，山海堂，2006.
- 5) 藤原東雄，福田靖，上俊二，桑嶋啓治，常村忠生：開放型フィルターによる斜面の安定，pp. 1-8，2005.
- 6) 川上直人：種子の休眠・発芽と温度-発芽調節メカニズムの解明をめざして-，pp. 514-517，日録工誌，2009.
- 7) 秋山康紀・林英雄：アーバスキュラー菌根共生における宿主認識シグナル物質ストリゴラクトン，pp. 141-149，2006.

(2014. 09. 22 受理)