

マメ科作物の緑肥機能およびその菌根形成

1996年

名古屋大学大学院 農学研究科
農学専攻 博士後期課程
作物科学研究室

矢野勝也

和 1250125

目次

緒論	1
第1章 緑肥作物として施用したサンヘンブならびにラッカセイが後作コムギの生育および窒素吸収に及ぼす影響	
1. 緒言	14
2. 材料と方法	15
3. 結果	16
4. 考察	19
5. 摘要	21
6. 図表	23
第2章 ラッカセイ根系における菌根形成	
第1節 ラッカセイ根系における菌根の分布	
1. 緒言	30
2. 材料と方法	31
3. 結果と考察	33
4. 摘要	38
5. 図表	39
第2節 ラッカセイ根系の形態的構造に及ぼす菌根形成の影響	
1. 緒言	48
2. 材料と方法	49
3. 結果	50
3. 考察	52
4. 摘要	54
5. 図表	55

第3章	菌根菌の局所接種に対するラッカセイおよびキマメ根系の形態的反応	
1.	緒言	61
2.	材料と方法	61
3.	結果	63
4.	考察	65
5.	摘要	68
6.	図表	69
第4章	キマメの生育に対する不攪乱土壌ストレスの菌根形成による緩和	
1.	緒言	74
2.	材料と方法	75
3.	結果	77
4.	考察	80
5.	摘要	84
6.	図表	85
総合考察		92
謝辞		105
引用文献		106
報文目録		122

緒論

生態系としての耕地は、絶えず人間の行為によって攪乱されることで遷移の初期段階を維持しており、そのことが比較的単純な作物群落の形成を可能にしている。耕耘、灌漑、施肥、除草剤・殺菌剤・殺虫剤の散布等の耕種技術は、作物に対するストレス因子を除去することが目的ではあるが、それらは圃場に投入された生態系攪乱のためのエネルギーとみなすこともできる。過去から現在に至るまで内容に変遷は見られても、耕地には様々な物質やエネルギーが投入され続けたのは、耕地生態系を維持するために必要だからである。このように、耕地は人為的なエネルギーが投入されることによってはじめて成立する生態系であり、そのエネルギーを投入しなければ遷移の極相を迎えることになるだろう。したがって、今後も人類がその食糧の確保のために耕地を必要とするならば、そこには絶えず何らかの形でエネルギーが投入されねばならない。

ところで、単一作物の連作とそれを可能にする化学肥料や農薬の投入は、近代農業がもたらした作物生産効率を高める一つの技術形態である。さらに、これらの投入物に対して望ましい反応を示すように改良された多収性品種の開発に伴い、作物収量が第2次世界大戦以降飛躍的に増大し、現在の私たちの生命を支える基盤を提供している。しかし一方では、これらの農業技術に起因した種々の問題が近年社会的に大きな関心を喚んでいる。すなわち、化学肥料や農薬の多投入による地力低下あるいは耕地上壌から流出する農薬や肥料がもたらす環境汚染、単一作物の連作による特定養分の欠乏ならびに特定病原生物・害虫の大発生、過剰な耕起がもたらす土壌の侵食等が顕在化している。また、地球規模で生じている環境破壊やそれに伴う異常気象の農業生産に及ぼす影響が懸念されているが、農業生産活動自体もその原因の一つとみなされている。

近年の環境に対する世界的な関心の高まりは、作物生産体系に対する新たな視点を要求している。今後も益々増大すると予想される食糧需要に対して、現代の私たちに求められていることは、高い生産性と並んで将来にわたって安定した生産基盤を保障しうる農業技術の確立である。

そのための技術的なアプローチとして、Odum (1989) は農業生態系におけるエネルギーや物質の投入を減少させる必要性を強調している。とくに、今後の地球生態系を維持する上で、少なくとも耕地生態系内でのエネルギー、物質循環は他の生態系に影響を及ぼさないよう制御すべき時期にある(秋田, 1993a)。しかしその際に重要な点は、先述したように耕地生態系を維持するためには必ずエネルギーの投入が必要なことである。したがって、今後も人類の食糧を供給するために耕地を必要とするならば、その生態系へのエネルギーの投入を単に抑制するのではなくて、他の生態系に対して影響が少ない、より合理的な投入方法を改良・確立すべきである。

その意味では、耕地生態系へのエネルギーや物質の投入が、高度な情報や知見に裏付けられる必要性が生じている。農業生産が工業生産と大きく異なる点はその生産の多くを生物に依存することであり、その生産現場である耕地生態系においては作物を中心とした種々の生物間の相互作用が極めて重要な役割を果たすことである。したがって、現在強く求められているのは、この生物間の相互関係を安易に排除していくのではなく、生態系内において技術的に制御することであり、生物学的な知見に基づく農業体系の確立である(Bethlenfalvay, 1992; National Research Council, 1989)。本研究は、作物生産性の向上と環境への調和を両立する上で、この作物を中心にした生物間の相互作用を作物生産技術に組み込むことを目指した。具体的には、耕地生態系に投入される肥料の低減を図るために、根系を介した作物と二つの土壤微生物(根粒菌、菌根菌)との共生関係を利用することである。

耕地生態系に投入される肥料を例にすると、窒素、リン、カリの3大要素は、速効性の無機態で施用された場合、作物による回収率は必ずしも高くない(窒素・カリで20~50%, リンでは10%以下)。その原因の一つは、これらの無機態肥料が作物の要求とは無関係に土壤溶液中に溶出するのに対して、作物はそれぞれの生育段階に応じて要求量が異なることが挙げられる。したがって、作物が実際に必要とする以上の肥料が、耕地生態系には投入され続けてきた。この結果、作物に吸収されなかった要素が耕地土壌に蓄積したり、あるいは地下水・河川等の系外へと流出したりすることが問題となる。

そこで、養分供給の最適化と養分吸収の効率化が重要な課題として位置づ

けられる（前，1995）．その具体例としては，作物の要求に見合って溶出するように設計された緩効性肥料（渡辺・知念，1995）あるいは肥効調節型肥料の開発（藤田・渡辺，1995），また，施肥方法についても養分吸収効率を高めるために，全面・全層施肥よりも根系が吸収しやすい場所への局所施肥等の改善が図られてきた（三本，1968；南條ら，1995）．これらの技術は，作物が必要とする養分量を確保しながら，耕地に投入される肥料の量的な低減に貢献しうると考えられる．

さらに重要なのは，耕地土壌そのものの特性としての地力の問題である．本来，施肥はある目標収量を達成するために，養分の天然供給量の不足分を補充する目的で行われる．しかし，昨今では作物の施肥による過剰害を引き起こすほど投入される傾向がある．この速効性の無機態肥料への過度な依存により，堆厩肥等の有機物施用は減少したが，このことが地力の著しい低下を招き，化学肥料の依存度をさらに強めさせるという悪循環をもたらしている．したがって，化学肥料の施用量を低減させるためには，地力の増進を図ることが重要な課題である．それには土壌の有機物含有量を高めることが必要となるが，堆肥を製造するための手間と時間はその導入を阻む大きな障壁となっている（松崎，1995）．

作物生産において，有機物施用に期待するところは大きい．現在のように堆肥製造に制約が多い条件では，耕地生態系に施用される有機物としての作物残渣や緑肥の役割が重要性を増している．とくに，窒素固定能を有するマメ科作物は緑肥として重要である（Mappaona, 1995; 塩谷, 1991a）．本研究では，化学肥料の低減をより具体的に推し進めるためには地力の増進が不可欠であり，その際には共生的窒素固定能を有するマメ科作物の緑肥としての利用が効果的であると考えた．

多くの作物がその窒素源を土壌中に存在するアンモニア態あるいは硝酸態に依存しているのに対して，マメ科植物は土壌細菌の一種である根粒菌（*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*）との共生によって大気中の80%近くを占める窒素分子を直接還元して利用している．1886年にHellrigelが，マメ科植物は土壌中の窒素だけでなく大気中の窒素ガスを利用することを実験的に証明し，さらにこの能力が植物のみでは不可能で土壌中の細菌と共生

することで初めて可能になることを見いだした。一方、マメ科作物が地力維持に大きく貢献することは、古代から経験的に知られていた。すでにギリシャ・ローマ時代にテオフラストス（紀元前375～258）が、マメ科植物は土壌を“再び力づけるもの”と述べており、当時、ソラマメを緑肥として土壌にすき込むことが行われていた（前田，1987）。

植物栄養の中で最も重要な窒素を、大気中から直接得ることができるマメ科作物は、耕地生態系の窒素収支に果たす役割も極めて大きい。共生窒素固定能を持たないマメ科以外の作物では、作物体を収穫せずにすべてを土壌に還元しても、炭素以外の物質収支は系内において変化しない。しかし、作物は何らかの形でその一部が収穫されるので、物質収支はマイナスになることが通常であり、施肥が耕地生態系において不可欠な理由はここにある。しかし、マメ科作物を緑肥として土壌に還元することは、窒素収支に関してはプラスになりうるのである。このマメ科植物の優れた機能は、地球環境においても大きな役割を果たしている。今日、生物が固定する窒素は 170×10^6 トン／年とも見積もられているが、この数字は工業的に固定される窒素の3倍（Ishizuka, 1992）、地球上における窒素固定量全体の70%を占めると推定されている（Paul, 1988）。さらに生物学的窒素固定量の内、農耕地で固定される量は 90×10^6 トン／年で、そのほとんどはマメ科作物と根粒菌による共生的窒素固定である（Burns & Hardy, 1975）。

一方、緑肥作物に求められている機能は、単に主作物に対する施肥量の軽減だけでなく、土壌物理性の改善や連作障害の防止にもある（塩谷ら，1990）。さらに生態的な病害防除の立場からは、特定の病害生物の密度の低減を期待して栽培される場合もある（Reddy et al., 1986；塩谷，1991b）。本研究で用いたマメ科作物は、ラッカセイ、サンヘンブおよびキマメであるが、これらはいずれもある種のネコブセンチュウに対抗性を持つことが知られている（近岡ら，1982；Reddy et al., 1986；佐野・中園，1986）。しかし、これらを含めてマメ科作物が緑肥として期待されるのは、共生的な窒素固定を行う点が大きい。

三宅（1986）によれば、施用した有機物の存在形態には次の3種類がある。

1) マルチ材として地表におかれる、2) 新鮮な植物体または分解がある程

度進んだ堆肥として土壤中にすき込まれる，3) 分解してかなり安定な腐植として存在する．マメ科作物の緑肥利用には，後作物に対する窒素の供給が重視されるが (Groya & Sheaffer, 1985; Hargrove, 1986; Valvel & Peterson, 1992)，長期的な時間の推移ではいずれの有機物も3) の安定な腐植となり，そこから徐々に無機化する窒素として放出される (Allexander, 1991)．しかし，比較的短期間に無機化する窒素量は，有機物量 (Moschler et al., 1967)，窒素含有量 (Ebelher et al., 1984)，C・N率 (Aulakuh et al., 1991; Whitehead, 1970) 等の施用する有機物の理化学性によって異なる．したがって，マメ科作物を緑肥として利用する1) や2) の形態において，比較的短期間で窒素の供給を期待する場合には，施用するマメ科作物のこれらの特性について把握する必要がある．本研究では，この点を明らかにすることを一つの課題とし，窒素施肥量の低減に向けたマメ科緑肥作物の可能性と問題点をまず検討した．

ところで，マメ科作物は窒素が制限要因となりにくい反面，他の元素が相対的に制限要因となりやすい作物である．通常の耕地土壌では，カリの欠乏は比較的深刻ではないが，一方のリンは土壌中での移動速度が低く，しばしばアルミニウムや鉄等と結合して不可給化する．また，マメ科作物が行う窒素固定にはリンを比較的多量に必要とする (Israel, 1987)．現在，リンおよびリン酸化合物の原料は，ほとんどすべてリン鉱石に依存しており，その大部分はリン酸肥料として加工されている．リン酸原料としてのリン鉱石はその存在量がほぼ明確にされており，良質なリン鉱石は今後数十年で掘り尽くされると試算されている (藤原・岸本, 1993)．おそらく，今後リンの問題は農業生産を制限する最も深刻な要因となり，その対策を真剣に考える必要がある．

この点に関して本研究では，作物のリン吸収を促進する菌根共生を農業体系に組み込むことに着目した．1885年にFrankがきのこの一種であるトリュフの研究の中で，植物根と真菌の共生体を菌根 (mycorrhiza) と名付けて以来，種々の植物が菌根を形成することが明らかになってきた．菌根には，菌の種類と宿主植物との組み合わせで，マツタケ等のきのこを子実体として樹木に形成される外生菌根，エリコイド，アーブトイド，モノトロポイド菌根，

ラン科の菌根といった、いくつかの種類に分けられている（斎藤，1992）。

本研究では、この菌根の一種であるアーブスキュラー菌根（arbuscular mycorrhiza, 以下では単に菌根と称す）を、耕地土壌に投入される化学肥料の量的低減という観点から意義あるものとして位置づけた。その理由は、1）この菌根を形成する菌根菌の宿主範囲は極めて広く（小川，1987），80%以上の植物種がこの菌根を形成するとされ（Bonfante & Perotto, 1995），様々な農作物で適用可能であること，2）その機能として宿主植物のリンをはじめとした無機養分の吸収を促進すること，3）マメ科作物の窒素固定能を高めうることからであった。とくに，3）のマメ科作物と根粒菌，菌根菌の3者の関係は協調的であることが，多くの研究で報告されている（Barea et al., 1992）。また，興味あることに，根粒菌や根粒菌由来物質が菌根菌の菌糸の発育を促したことも報告されている（Barea et al., 1992）。これらのことから，マメ科緑肥作物の耕地への導入に当たって，この菌根菌と根粒菌との協同作用が固定窒素量を増加させ，さらに後作物に形成された菌根が施用した緑肥からより効率的に養分を吸収することができるならば，化学肥料施用量の低減に大きく貢献しうると思われた。

この菌根形成の最も顕著な機能は，宿主植物のリン吸収を促進することである（Jakobsen, 1995; Mosse, 1973）。リンは，水のマスフローによって輸送されにくく（Itoh & Barber, 1983; Nye & Tinker, 1977），数mm離れていても根は吸収できない場合がある。しかし，菌根菌の菌糸は7 cm以上離れたリンを輸送したことが報告されており（Rhodes & Gerdemann, 1975），1 gの土壌中でその長さが50mにも達する場合がある（Allen & Allen, 1986）。したがって，菌根菌の菌糸は根近傍で生じるリン欠乏土壌域を越えて伸長し，効率的にリンを集めることができると考えられる。菌根菌は，不可給態のリンを可給化する能力はほとんどないとみられているが（小川，1988），不可給態のリンを可給化する能力を持つリン溶解菌との相互作用については検討されている（Linderman, 1992; Puppi et al., 1994）。これらのことは，リンの施肥レベルの低減にとって重要となると思われるが，すでに可給態のリンが多量に存在する土壌においては，菌根が形成されにくいことが問題である。

これは，一個体の根系を二分して一方の根系だけにリンを与えた場合，も

う一方の施肥しない根系でも菌根形成が抑制されたことから、土壌よりもむしろ植物体のリン含有量の増加が直接の原因と考えられる (Menge et al., 1978) . この抑制のメカニズムについては、植物体内のリン含有量の増加による細胞膜の浸透性の変化によると考えられている (Schwab et al., 1991) .

さらに菌根形成は、水分吸収に対しても促進的な効果を及ぼし、耐旱性を増すことが知られている (Barea & Jeffries, 1995) . 最近、トウモロコシを用いた圃場実験においても、宿主植物の耐旱性を有意に高めることが確認されている (Sylvia et al., 1993) . しかしながら、そのメカニズムについては、菌糸による表面積の拡大 (Farber et al., 1991) , リン栄養の改善の影響 (Fitter, 1988; Nelsen & Safir, 1982) , 植物ホルモンレベルの変化 (Allen et al., 1980; Allen et al., 1982; Dannenberg et al., 1992; Dixon et al., 1988; Druge & Schonbeck, 1992) , 根系形態の変化 (Kothari et al., 1990a, 1990b) 等が挙げられているが、結論には至っていない (Sánchez-Díaz & Honrubia, 1994) .

リン以外の土壌養分においても、宿主の窒素や微量元素の吸収効率を増加させることも知られている。また、逆に菌根形成による重金属や塩類集積土壌での吸収の抑制効果が検討されており (Bethlenfalvay & Franson, 1989; Haselwandter et al., 1994; Heggo & Angle, 1990; Mosse et al., 1981; Sylvia & Williams, 1992) , 菌根が宿主植物にとってある種の緩衝作用をもたらす可能性が指摘されている。

また、菌根は作物のみならず土壌に対しても働きかけることが知られている (Miller & Jastrow, 1992) . 菌根菌を接種した植物根では、非接種植物根よりも多くの砂を根面に保持したが、殺菌剤の存在によってその作用が低下することが認められた (Sutton & Sheppard, 1976) . また、土壌中の菌糸の長さや直径が2 mm以上の耐水性団粒の生成との間には強い正の相関が認められ (Tisdall & Oades, 1982) , 菌糸から放出される粘着物質あるいは菌糸の物理的な保持によって団粒の安定性が増すと考えられている。団粒構造の発達過程において、菌糸が直径200 μ m以下の団粒を相互に結合して、より大きな団粒構造の保持に貢献していると考えられているが (Tisdall & Oades, 1982; Tisdall, 1991) , 菌根菌の菌糸の団粒形成に対する貢献度は、宿主で

あるダイズの根系と同程度とする報告がある (Thomas et al., 1993) . この土壌に働きかける機能は、近年非常に重要視されている。とくに、耕地生態系における持続性の鍵を握るのは土壌であり、Bethlenfalvay (1992) は、菌根菌が作物と土壌の二つの系を結びつけている点に注目すべきことを強調している。

菌根の機能には、植物病に対する抵抗性も期待されており、多くの研究が行われてきたが、その効果については一様ではない (Linderman, 1994) . Hooker et al. (1994) も、土壌病原性の真菌類とセンチュウに関しては有効かも知れないと述べるに留まっている。しかし、植物の養分吸収促進、植物根上での定着場所をめぐる病原生物との競合 (Cooper & Grandison, 1987; Dehne, 1982) , 植物根の形態的变化 (Dehne & Schonbeck, 1979) や生理的变化 (Morandi et al., 1984) , ストレスの緩和等によって、間接的に植物自身の病原に対する抵抗性を高めている可能性は否定できない (Linderman, 1994) . また、“菌根圏—Mycorrhizosphere” と呼ばれる根圏環境では、根圏微生物が質・量ともに変化することも知られており (Linderman, 1994) , この影響も考えられる。

なお、耕種技術は菌根菌に対して大きな影響を及ぼす (Johnson & Pfleger, 1992; Kurle & Pfleger, 1994) . 絶対共生微生物である菌根菌は、休閒や非宿主作物 (アブラナ科, アカザ科等) の作付けによって密度が低下する。また、多くの殺菌剤はこの菌に直接影響を及ぼすが、その効果は様々である (Johnson & Pfleger, 1992) . 芳香族およびベンジミダゾール系の殺菌剤の多くは菌根形成を阻害するが、フォセチルおよびメタラキシル系殺菌剤ではしばしば菌根形成を促進することが認められている (Afek et al., 1990, 1991; Groth & Martinson, 1983; Hetrick & Wilson, 1991; Jabaji-Hare & Kendrick, 1985; Nemec, 1980) . これは、菌根菌と拮抗する根圏微生物密度の低下 (Hetrick & Wilson, 1991) , 根からの浸出物質の増加 (Jabaji-Hare & Kendrick, 1985) が原因と考えられている。また、除草剤の影響は小さいとされているが、過剰な散布による菌根形成の阻害も認められている (Johnson & Pfleger, 1992) .

ところで、菌根菌の単独培養は現在まで成功しておらず、同菌の定着・増

殖はもっぱら植物根に依存している。したがって、菌根形成の場としての根の特徴を把握することは、実際の栽培上での菌根利用のみならず、この共生関係を成立させているメカニズムを解明する上でも重要である。菌根形成のパターンは、菌糸が根に接触して根内部へ侵入することから始まり、さらに菌糸は根の細胞間隙を通過して皮層まで到達し、菌根の特徴である樹枝状体 (arbuscule) 、のう状体 (vesicule) の形成へと進む。菌根菌が宿主に感染・定着し、菌根を形成するに至るまでの過程において、菌が植物根を何らかの方法によって認識しているのか、あるいはランダムな菌糸の伸長によって偶然植物根と遭遇しているのかという点は大変興味深い。

胞子の発芽にはpH、温度、水分等の環境条件が影響することが知られているが (Giovannetti et al., 1994a) 、最近では植物根からの浸出物質も影響を及ぼし、いくつかのフラボノイド類が胞子の発芽を刺激する可能性も指摘されている (Bécard et al., 1992) 。しかし、植物根が存在しない寒天培地やろ紙上でも胞子は容易に発芽することから、それらの物質が必須のものとは考えられていない。発芽後の菌糸は、宿主が存在しない条件でもある程度分枝を出しながら伸長するが、数週間程度で伸長が止まる。

菌根菌の菌糸は根からの浸出物質に反応する。例えば、宿主植物の根からの浸出物が存在すると、根そのものが存在しなくても、菌糸の著しい分枝が認められるが (Giovannetti et al., 1993b) 、菌根を形成しない植物種の浸出物では認められない (Giovannetti et al., 1994b) 。浸出物以外に、根からの CO_2 などの揮発性物質も菌糸の伸長を刺激することが報告されている (Bécard & Piché, 1989) 。宿主根に遭遇した菌糸は、宿主の根に侵入する前に根表面に付着器 (appressorium) を形成するが、非宿主植物根では付着器は形成されない (Giovannetti et al., 1993a) 。さらに、ルーピン (非宿主) とエンドウ (宿主) の異種間を接ぎ木した結果、エンドウ根に正常な菌根が形成されなかったことから、地上部の要因も菌根形成に影響を及ぼしうると考えられる (Gianinazzi-Pearson & Gianinazzi, 1992) 。

以上の過程から、胞子から発芽した菌糸は、最初の段階では、ランダムな方向に伸長して宿主となりうる植物根を分泌物等を手がかりに探索し、その分泌物を探し当てると、そこで盛んに分枝を繰り返して根と接触する確率を

高め、条件を満足する根面部位において付着器を形成した後、根内部へと侵入して菌根を形成していくと推論される。

菌根の形成過程に関する知見は、とくに細胞単位のマクロなレベルでは著しい進展を示してきている。しかし、菌根を形成した根系レベルでの理解はほとんど進展していないように思われる。例えば、菌根を形成した植物体の根系は、菌根部位と非菌根部位から構成されているのが通常であり (Harley, 1991), 実際の根系内で菌根がどのような分布パターンで形成されるのかはほとんど明らかになっていない。また、菌根の機能、例えばリンの吸収促進は、根面から土壤中に伸長した菌根菌の菌糸が土壌との接触面積を増加させることに起因するというのが一般的理解である (Harley, 1991)。しかし、植物根無しでは生存できない菌根菌の総体的な機能は、その宿主根系の時間的・空間的な広がりによって第一義的に規定されるはずである。従来の研究では、植物根系と菌根菌を一つの総体としていわば“菌根系”という視点から菌根機能を理解するには至っていない。本研究では、この総体としての菌根機能を把握する上で、宿主根系の広がりをその外部形態から評価する必要性を認めた。おそらく、この根系レベルでのよりマクロな理解が進展しなければ、実際の耕地生態系においてこの共生関係を制御することは困難である。

ところで、マメ科植物は748属、19700種から成る、キク科、ラン科と並んで現在の地球上で、最も繁栄している顕花植物群の一つである (Allen & Allen, 1981; 前田, 1987)。また、その地理的な分布も、非常に広い範囲にわたっていることが知られている。これらのことは、マメ科植物が多様な環境により適応して、種分化・発展してきたことを物語っている。このようなマメ科植物の幅広い環境適応スペクトルを有するメカニズムとしては、次の3点が挙げられる。すなわち、(1) 種子構造の強化、(2) 花器構造の発達、さらに (3) 根粒形成による空中窒素固定能の獲得、である。とくに、共生的に窒素固定能を行うという特徴は、他の植物群ではほとんど例が無く、農業上におけるこの植物群の価値を高くしている。

厳密に言えば、すべてのマメ科植物が根粒を形成し、窒素固定能を有するわけではない。マメ科を構成する3つの亜科、ジャケツイバラ亜科、ネムノキ亜科、マメ亜科の中で、系統発生的に最も原始的と考えられているジャケ

ツイバラ亜科において根粒を形成しない種が多く、逆に最も進化したものと思われるマメ亜科において根粒形成種が最も多い (Allen & Allen, 1981) . このことは、大気の80%近くを占める膨大な窒素分子を、根粒形成による窒素固定によって直接利用可能とすることが、進化・発展の上で極めて重要な役割を果たしてきたことを示唆する。植物栄養分の中でも影響の大きい窒素源を、通常多くの植物は、土壤中に量としてわずかに存在するアンモニア態あるいは硝酸態窒素に依存している。これに対しマメ科植物は、大気中の窒素分子を直接還元して利用可能なアンモニア態窒素を得ることで、それらの生態的地位を向上させたことは容易に想像される。

おそらく、根粒共生はマメ科が分化した比較的初期の段階で成立したものと推察される。一方、菌根 (アーブスキュラー菌根) という共生関係についてその進化的な足跡を辿れば、現在とほとんど同じ構造の菌根が三畳紀の植物の化石から発見されている (Stubblefield et al., 1987) . さらに、菌根菌のリボゾームDNAの塩基配列の解析結果では、この菌の起源は3億5千万~4億6千万年前と推定され、その時期は陸上植物の出現とほぼ同じである (Simon et al., 1993) . したがって、植物が陸地環境へ適応する過程において、この共生関係が大きく貢献した可能性がある (Simon et al., 1993) .

最近、本来宿主となりうる植物で菌根を形成しない突然変異系統が、エンドウとアルファルファで見いだされた (Bradbury et al., 1991; Duc et al., 1989) . この表現型 (myc^-) は劣性遺伝子に支配され、菌根の形成過程を解析する上で有用なモデル植物として用いられている。それらの解析によると、 myc^- 系統は付着器形成以後の根内部での菌糸の伸長を阻害していることが明らかとなった。通常の宿主植物 (myc^+ 系統) は、病原微生物等が体内へ侵入した場合、表皮細胞の細胞壁を肥厚させたり、フェノール、カロースあるいはPRbタンパク等の合成によって侵入に抵抗するが、菌根菌の侵入の際には、これらの排除機構はほとんど機能しないとされる。したがって、 myc^+ 系統は菌根菌の侵入に対してはその排除機構を作動させない遺伝子を備えているが、 myc^- 系統はこの遺伝子を欠損しているために、菌根菌を排除するものと考えられる。

さらに、現在ではこれらの突然変異体は4つのタイプに細分化されている

(Bonfante & Perott, 1995) . それらは菌根菌の菌糸の発育が停止する段階に応じて、 (i) 付着器を形成させない非宿主、 (ii) 付着器は形成させるが内部に侵入を許さない初期myc⁻、 (iii) わずかに内部まで菌糸の侵入を許す後期myc⁻、 (iv) 宿主、 に分けられる。したがって、この菌根形成過程には少なくとも4つの遺伝子が関与しているものと考えられる (Giovannetti et al., 1994a) . 現在まで得られているこれらの突然変異体はいずれもマメ科植物であるが、 (ii) は根粒を着生せず、 (iii) は窒素固定能を欠いた根粒のみを着生する。さらに、上記のmyc⁺系統とmyc⁻系統は他の病原菌、細菌そしてセンチュウに対しては同じような防御反応を示すが、myc⁻系統は基本的に菌根菌と根粒菌の共生微生物に抵抗性を示す点でのみmyc⁺系統と異なっている (Giovannetti et al., 1994a) . このことは、作物根系を介した両共生関係には、ある共通したメカニズムが存在する可能性が高いことを示唆する。

生物の共生関係は複雑で、しばしばシュミレーションモデル上では不安定な系とみなされてきた (Allen, 1991) . しかし、実際の生物の世界では共生関係は豊富に見受けられる。例えば、ミトコンドリアや葉緑体等のオルガネラの起源は、本来自由生活を送っていた好気性細菌や光合成細菌の共生の結果であり、このことが真核細胞という進化した細胞を生み出し、今日の多様な生物種を分化させる基礎となったという細胞内共生説は、現在多くの研究者に支持されている (Welner, 1992) . 共生の大きな特徴は、異なる生物種がそれぞれの能力の余剰分を相手に供給することでストレス因子を互いに緩和し、それぞれの生物種が生態的地位を向上させる点である。逆に言えば、ストレスの無い条件では共生は機能せず、ストレス条件下においてその機能は強く現れると考えられる。

この共生のストレス緩和機能は、今後の模索されるべき農業技術にとっても重要と思われる。これまでの化学肥料、農薬依存型の農業技術に変わって、作物自体の生産機能の改善、とくに環境ストレス耐性の強化や化学肥料依存度の低い多収法に強い期待が寄せられているが (秋田, 1993b) , その方策として、個々の作物遺伝子の改良だけでなく、生物間の相互作用による作物の生態的地位の拡大も考慮すべき課題である。マメ科作物の根系を介した根粒菌および菌根菌との共生関係は、作物根系機能を強化するという点で優れ

た機能を発揮でき、耕地生態系における作物のストレス耐性と深く関わっている。

このような経緯から、本研究では窒素固定能を有するマメ科作物を緑肥として耕地土壌へ還元することを第1章で取り上げ、つづいてマメ科作物の窒素固定能と、緑肥からの養分回収率を高めうる菌根の利用を検討した。そこでは、菌根形成を一個体の根系というマクロなレベルで理解するために、根系内での菌根の分布と根系形態の変化を第2章で評価した。さらに、根系形態の変化を明確にするために、第3章では同一根系内に菌根菌を局所的に接種して根系の形態的反応を解析した。そして第4章では、菌根による不耕起土壌条件下の作物ストレスの緩和を試みた。このように、本研究はマメ科作物の根粒と菌根を根系の重要な構成要素・機能として位置づけ、これらの共生関係を作物生産体系に活用するための基礎的な知見を得ることを目的としたものである。

なお、本研究で扱ったアーブスキュラー菌根は、かつては内生菌根 (endomycorrhiza)、あるいはその形態的な特徴である樹枝状体 (arbuscule) やのう状体 (vesicle) にちなんでVA菌根 (vesicular-arbuscular mycorrhiza) と記述されてきた。しかし最近では、すべてのVA菌根菌がのう状体を形成するわけではないことから、アーブスキュラー菌根 (arbuscular mycorrhiza) という名称も一般化しつつある。現段階において、これらの用語は混在して用いられているが (Smith, 1995; Walker, 1995)、本研究においては、アーブスキュラー菌根を単に菌根と記述することにする。

第1章 緑肥作物として施用したサンヘンブならびにラッカセイが後作コムギの生育および窒素吸収に及ぼす影響

緒言

近年の作物生産の持続性に対する関心の高まりは、現行の様々な作付け体系を再検討する必要性を生み出している。マメ科作物は、土壌細菌の一種である根粒菌と共生的に空中窒素を固定することができる。そこで、古くから土壌窒素を増進する作物として用いられてきた。化学肥料の過剰投入による環境への負荷の増大が問題になっている中で、この窒素固定能の技術的利用は化学肥料の施用量を低減させる可能性を持ち、マメ科作物を組み入れた種々の作付け体系の再構築は、今日的な課題としてその重要性が高まっている。

サンヘンブ (*Crotalaria juncea* L.) は熱帯原産の1年生マメ科作物で、主に繊維作物として、時には飼料作物としても利用されている。このサンヘンブは、特定の植物寄生性線虫の密度低減に効果があることが知られ (Reddy et al., 1986; 佐野・中園, 1986), 線虫対抗機能を有するマメ科緑肥作物として、最近日本においても導入されている。また、サンヘンブは土壌養分の少ないやせた土地においても旺盛な生育を示し、かつ高い乾物を生産できる。一方、南米に起源を持ち、現在温帯や熱帯を中心に世界的に広く栽培されているラッカセイ (*Arachis hypogaea* L.) も線虫対抗性が報告されている (近岡ら, 1982; 佐野・中園, 1986)。このラッカセイは匍匐性のため被覆作物としても機能し、窒素含有量も高いことから緑肥作物としての価値も高いと考えられる。そこで本章では、両作物の緑肥作物としての機能について検討を加えた。

マメ科作物を緑肥として利用するためには、それらの窒素固定能を把握するとともに、施用した緑肥の後作物に対する窒素の貢献度を評価することが重要である。しかし、この両マメ科作物に関して、これらの点についてはあまり調べられていない。

したがって本章では、1) サンヘンブおよびラッカセイの固定窒素量、2) 緑肥として施用したこれらの作物の後作コムギの生育に及ぼす影響、3) これらの緑肥作物の固定した窒素の後作コムギへの貢献度を評価することを目的とした。

材料と方法

1. 圃場試験

1991年ならびに1992年の二年間にわたって試験を行った。試験地土壌は灰色低地土 (silty loam, Haplaquept) に分類され、 $\text{pH}(\text{H}_2\text{O})$ は5.5、全炭素は0.58%、全窒素は0.07%、電気伝導度は $27\ \mu\text{scm}^{-1}$ であった。1991年5月27日に、サンヘンブ (*Crotalaria juncea* L., 品種：コブトリソウ) とラッカセイ (*Arachis hypogaea* L., 品種：千葉半立), さらに対照作物として根粒非着生系統ラッカセイ (*A. hypogaea* L., 品種：タラポト) を圃場に播種した。また、緑肥作物を栽培しない裸地区もあわせて設けた。播種後2週間目にそれぞれの作物を間引き、サンヘンブについては1区画当たり40個体 (8個体/条 \times 5条), 両ラッカセイ品種については1区画当たり52個体 (13個体/条 \times 4条) とした。これらの区画を完全無作為法にしたがって配置し、各処理区毎に2反復とした。基肥として硫安、過リン酸石灰、塩化カリウムを成分量としてNを 3g m^{-2} , P_2O_5 を 10g m^{-2} , K_2O を 10g m^{-2} の割合で全層施用した。また、各種根粒菌は播種後に接種した。すなわち、あらかじめ冷凍保存していた菌株 (クロタラリア菌 USDA 3024, ラッカセイ菌 A2R1) から1白金耳をYMB培地300mlに懸濁し、 25°C , 暗黒条件下で7日間振とう培養 (80rpm) したものをを用いた。得られた根粒菌懸濁液900ml (300ml \times 3) を水道水で希釈し、それぞれの区画へ40ml m^{-2} の割合でじょうろを用いて均一に散布した。

播種後3ヶ月目に当たる8月25日と5ヶ月目の10月26日に、それぞれの区画から生育中庸な5個体を採取した。植物体の採取に際しては、圃場に立毛状態で水道水で土壌をていねいに取り除きながら、できる限り根ならびに根粒の脱落が無いように留意し、根系全体も含めた1個体をそのまま採取した。採取した個体を器官別に 70°C で48時間乾燥し、乾物重を測定した。得られた乾燥試料を粉碎し、N.C. ANALYZER (SUMI-GRAPH NC-80 住友化学工業社製 反応炉温度： 830°C , 還元炉： 550°C , カラム：外径5 mm ステンレススチールカラム, カラム充填剤：シリカゲルおよびモレキュラーシーブ, インジェクション温度： 100°C , カラム温度： 70°C , キャリヤーガス：ヘリウム, 流量80 ml min^{-1})により、全窒素含有率および全炭素含有率を測定した。

圃場の各区画において、調査個体以外の抜き取らなかった個体については、11月8日に地上部を刈り取った。地上部の収穫物を押し切り機で約5cmに切断した後、各区画の地表面に均一に広げ、耕耘機ですき込んだ。

1991年11月15日に、コムギ (*Triticum aestivum* L. 品種：農林61号) 種子を、裸地区を含む全ての区画に 6 g m^{-2} の割合で1区画5条、条間36cmにて条播した。すき込んだ緑肥作物の窒素の貢献度を推定するために窒素施肥は行わず、過リン酸石灰、塩化カリウムを成分量として P_2O_5 を 10 g m^{-2} 、 K_2O を 10 g m^{-2} の割合で播種直前に播種溝に施用した。

1992年5月29日に、各区画毎にコムギの地上部を収穫した。収穫物は網室内で風乾し、子実収量と収量構成要素ならびに地上部風乾重を調査した。また、全窒素および全炭素の含有率を、前述のN.C.-ANALYZERで測定した。

2. 緑肥の分解速度の測定

すき込んだ緑肥の分解速度を推定するために、ポット試験を行った。ガラス室内で3ヶ月間栽培したサンヘンブとラッカセイを、 70°C で48時間乾燥させた後に、両作物の全植物体およびサンヘンブの茎部のみをそれぞれはさみで細かく切断した。このように調整した各試料1.00 gを2枚のガラス繊維ろ紙（直径70mm, ADVANTEC社製）にはさみ、ペーパーボンドでろ紙を接着して封入した。ガラス繊維ろ紙に封入した試料を、あらかじめ2mmのふるいを通した試験圃場の土壌を充填したビニールポット内に埋設した。これらのポットをパンケースに入れ、その底には水道水を常に一定の水位で満たし、 23°C 、暗黒条件で分解させた。埋設した試料を、4週目まで1週間毎に土壌から回収した。回収した試料は、ろ紙ごと水洗して土壌を除去し、 70°C で48時間乾燥させた。つづいて、試料をガラス繊維ろ紙からていねいに取り出し、各試料の乾物重と全窒素含有率ならびにC-N率を前述のN.C.-ANALYZERで測定した。この試験の反復数は各処理および各時期につきそれぞれ3反復とした。

結果

1. 緑肥作物の乾物生産量と固定窒素量

播種後3ヶ月目と5ヶ月目における緑肥作物の乾物重を、第1・1図に示した。

播種後3ヶ月目の乾物重では、サンヘンブとラッカセイの間に有意な差異は認められなかった（第1-1 a 図）。緑肥作物のすき込み時期に相当する播種後5ヶ月目の全乾物重では、サンヘンブがラッカセイよりも有意に優った（第1-1 b 図）。サンヘンブは播種後3ヶ月目から5ヶ月目までの間に乾物重を3倍程度増加させたが、そのほとんどは、茎部によるものであった。その結果、播種後5ヶ月目におけるサンヘンブの乾物重に占める茎部の割合が約70%であった。一方、ラッカセイの乾物重はこの間に1.5倍程度増加したが、その多くは莢実によるもので約40%の割合を占めた。対照として栽培した根粒非着生ラッカセイの乾物重は、サンヘンブならびにラッカセイ（根粒着生）と比較して有意に低かった。

播種後3ヶ月目と5ヶ月目における各緑肥作物の窒素含有量を第1-2図に示した。両時期とも、ラッカセイの窒素含有量がサンヘンブの窒素含有量よりも有意に高かった。播種後5ヶ月目において、サンヘンブの窒素含有量の約50%は茎部に由来するものであり、ラッカセイの窒素含有量では莢実によるものが50%を超えた（第1-2 b 図）。乾物重と同様に窒素含有量でも根粒非着生ラッカセイは、サンヘンブならびにラッカセイ（根粒着生）と比較して極めて低い値を示した。

播種後3ヶ月目と5ヶ月目における各緑肥作物のC・N率を第1-1表に示した。その値は、サンヘンブでは3ヶ月目の25.8から5ヶ月目の39.3へと大きく増加したが、ラッカセイでは3ヶ月目で18.7、5ヶ月目で20.8とほとんど変化しなかった。なお、C・N率の作物間の差異は、いずれの時期においても有意であった。

サンヘンブとラッカセイの固定窒素量およびその寄与率を第1-2表に示した。なお、この固定窒素量は、根粒非着生ラッカセイを対照とした差引法によって推定したものである。すなわち、根粒非着生ラッカセイの窒素含有量を土壌由来の窒素量として、根粒を着生するそれぞれのマメ科作物の窒素含有量から差し引いた値をそのマメ科作物が固定した窒素量とした。ラッカセイはサンヘンブに比べて、いずれの時期においても固定窒素量が明らかに高く、播種後3ヶ月目で 12.8 g m^{-2} 、5ヶ月目では 18.1 g m^{-2} となった。一方、サンヘンブの固定窒素量は、3ヶ月目において 6.2 g m^{-2} 、5ヶ月目では 12.5 g m^{-2} であった。また、

植物体の全窒素含有量に占める固定窒素量の寄与率は、播種後3ヶ月目と5ヶ月目のサンヘンブでは56.9%と61.6%，ラッカセイでは73.1%と69.9%であった。

2. 緑肥を施用した後作コムギの生育と窒素吸収

緑肥施用後の圃場各区画で生育した節間伸長期のコムギの写真を第1-3図に示した。コムギ地上部の生育の差異は、区間で明らかに異なっていた。すなわち、ラッカセイ区がサンヘンブ区よりもやや上回り、これら二つの区に比較して根粒非着生ラッカセイを緑肥として施用した区ではコムギの生育は明らかに劣った。さらに、緑肥を施用しなかった裸地区におけるコムギの生育は、極めて貧弱であった。

各処理区におけるコムギの収量、収量構成要素ならびに地上部の風乾重と全窒素含有量を第1-3表に示した。処理区の中で最も収量が高かったのは、ラッカセイ区であった (233 g m^{-2})。サンヘンブ区ではラッカセイ区と比較してその収量は有意に低かった (189 g m^{-2})。また、根粒非着生ラッカセイ区の収量は著しく低く (102 g m^{-2})、また、緑肥を施用しなかった裸地区では、根粒非着生ラッカセイ区よりもさらに有意に低かった (76 g m^{-2})。穂数は収量とほぼ同様の傾向を示したが、一穂粒数においてはサンヘンブ区とラッカセイ区がほぼ同じで高く、根粒非着生ラッカセイ区はやや劣った。裸地区の一穂粒数は、これら3つの処理区と比較して明らかに少なかった。また、1000粒重においては各区間の差異は認められなかった。一方、地上部全体の乾物重は収量と同様の傾向を示した。地上部の窒素含有量においてもラッカセイ区が高く、サンヘンブ区、根粒非着生ラッカセイ区が続き、裸地区は明らかに低かった。

3. 土壌にすき込まれた緑肥の分解速度

土壌中での緑肥の乾物重、窒素含有量そしてC:N率の経時的変化を第1-4図に示した。すべての緑肥試料において、4週間で乾物重および窒素含有量の減少が認められた。とくに、分解開始から1週目までの減少が顕著で、その後は比較的緩やかに減少した。また、それらの減少の程度は、各試料間で明らかに異なった。乾物重についてみると、ラッカセイ全植物体は1週目で約50%まで減

少し、最後の4週目では40%以下に減少した。サンヘンブ全植物体は1週目で約70%に減少し、4週目では分解開始時の約60%となった。一方、サンヘンブの茎部は、1週目で約80%近くまでしか減少せず、さらに4週目においても約70%までの減少に留まった。また、各試料の窒素含有量の推移も、乾物重と同様に1週目における減少が顕著であり、その後の変化は小さかった。

さらに、C・N率の経時的変化は3種類の試料間で異なる様相を示した。つまり、分解前にC・N率の高かったサンヘンブ茎部（約50）は、1週目にその値をおよそ80まで急激に増加させたが、その後はほとんど変化しなかった。また、もともとC・N率の低いラッカセイ全植物体（約16）は、4週目までの間そのC・N率をほとんど変化させなかった。さらに、分解開始時にはラッカセイ全植物体とほとんどC・N率が同じであったにもかかわらず、サンヘンブ全植物体（約17）では緩やかに上昇し、4週目では40近くに達した。

考察

本章においては、後作コムギに対するマメ科緑肥作物の貢献度を窒素面から解析した。その際に、すき込んだマメ科緑肥作物の固定窒素量を、土壌に対する新たな窒素源として重要視した。そこで、窒素固定能を持たない対照作物の窒素吸収量を土壌由来窒素とし、それをマメ科緑肥作物の全窒素吸収量から差し引く、差引法によって推定した。この方法では対照作物の選定によっては、固定窒素量を正しく推定できない。したがって、発育パターンや根系形態など、とくに窒素吸収に関わる性質が、固定窒素量を推定する作物にできるだけ近い対照作物を選定することが重要である。そこで、本章では対照作物として根粒非着生系統ラッカセイのタラポトを用いた。この結果、ラッカセイの固定窒素量は播種後3ヶ月目で 12.8 g m^{-2} 、5ヶ月目では 18.1 g m^{-2} と推定された（第1-2表）。また、固定窒素量の全吸収窒素に対する寄与率は、それぞれの時期で73%と69%であった。これらの数値は、 ^{15}N 希釈法によって算定されたこれまでの報告とよく一致した（屋敷ら、1991）。一方、サンヘンブの根粒非着生系統が見いだされていないために、サンヘンブの固定窒素量をラッカセイの根粒非着生系統を対照作物として推定した。この点に関しては問題が残されており、今後さらに検討を要する。

4 処理区間でコムギの収量が最も高かったのはラッカセイ施用区であり、続いてサンヘンブ施用区であった。この差異は、主に緑肥作物の窒素含有量の違いによるものと考えられる。事実、乾物重ではサンヘンブ (1704 g m^{-2}) がラッカセイ (1112 g m^{-2}) を明らかに上回ったにもかかわらず (第1-1 b 図), 逆に窒素含有量ではラッカセイ (25.9 g m^{-2}) がサンヘンブ (20.3 g m^{-2}) よりも有意に高かった (第1-2 b 図)。さらに、緑肥作物に対する施肥窒素量 (3 g m^{-2}) はわずかであったことから考えると、緑肥作物の窒素含有量の差異は主として固定窒素量に起因するものと思われる。

すき込んだ緑肥からの無機態窒素の放出は、土壤微生物による有機物分解の結果として起こる (Alexander, 1991)。窒素の無機化速度に関与する要因として、有機物のC:N率が重要で、このC:N率は植物種やその齢あるいは器官によって異なる。一般に、高いC:N率の植物体は低いC:N率のものより分解がより遅い (Aulakh et al., 1991; Ranells & Waggoner, 1992)。とくに、C:N率が25から30を超える有機物の分解の際には、有機物に含まれる窒素量だけでは微生物の基質として不足し、土壤中の無機態窒素も同時に微生物に取り込まれる (Allison, 1966)。この結果、後作物が深刻な窒素飢餓に陥る場合が知られている。本研究においては、すき込まれたラッカセイのC:N率は約20と低い値であったのに対して、サンヘンブのC:N率は約40と高かった (第1-1 表)。したがって、このサンヘンブの高いC:N率もサンヘンブ区においてコムギの窒素吸収量が低かったもう一つの要因と考えられた。

サンヘンブのC:N率が高い原因は、主に木化した茎部が植物体の乾物重の大きな部分を占めたことによる (第1-1 b 図)。実際にガラス繊維ろ紙を用いた分解試験において、サンヘンブ茎部の分解は極めて緩慢であった (第1-4 図)。さらに、リグニン、セルロースあるいはヘミセルロース等の細胞壁構成物質の比率も、その有機物の分解に影響を及ぼすことが知られている (Ranells & Waggoner, 1992)。ほとんどC:N率が同じであっても、サンヘンブはラッカセイに比べより緩慢な分解速度を示したことは (第1-4 図)、これらの細胞壁物質の量または組成がそれぞれ異なっていることを示唆するものと考えられた。

つづいて、マメ科緑肥作物と後作コムギの窒素吸収量から、施用した緑肥窒素の後作コムギによる窒素回収率を算出した (第1-4 表)。結果はサンヘンブ

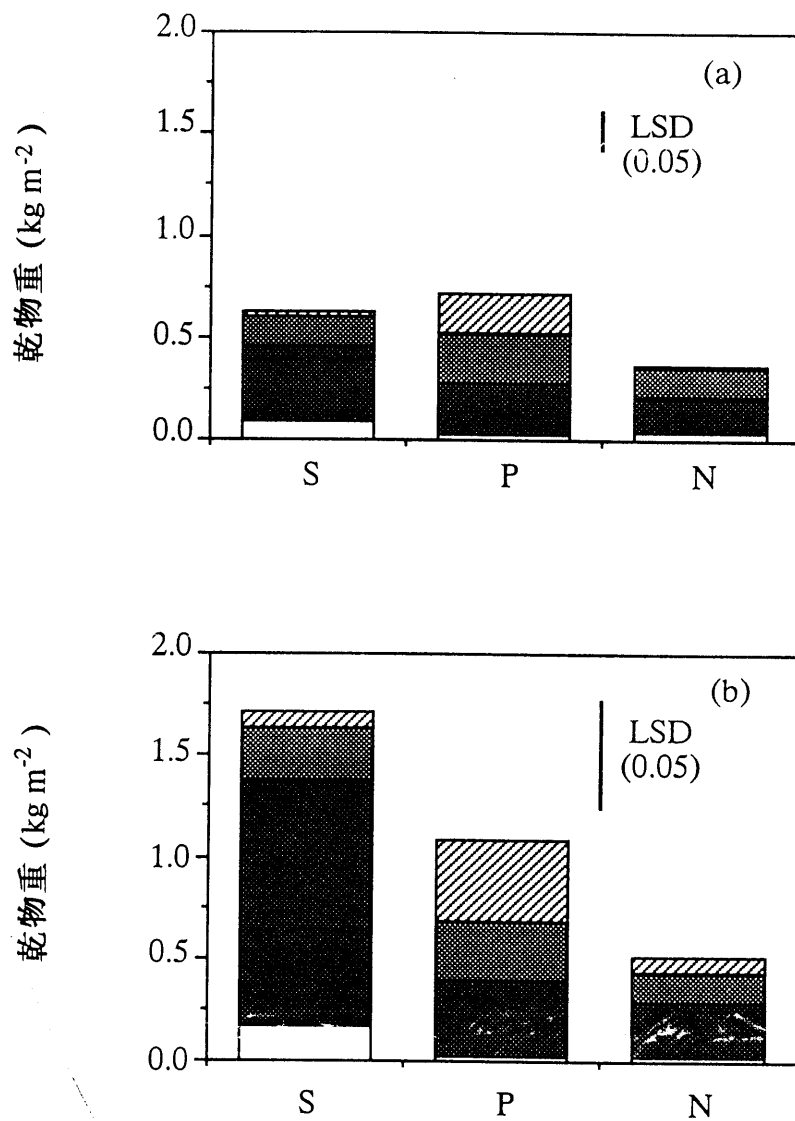
の9.4%に対し、ラッカセイでは11.2%とやや高い値を示した。しかし、これらの緑肥を利用して化学肥料の施用量を軽減させるためには、この回収率をさらに向上させる必要があると思われた。

以上の結果から、マメ科作物を緑肥として施用する場合、より多くの固定窒素量を土壤に還元する意味では、より生育後期まで栽培した作物体をすき込む方が有利である。しかし、本章のような生育後期におけるすき込みでは、直後の後作コムギに対する緑肥としてサンヘンブよりもラッカセイが優れた。これはラッカセイの方がサンヘンブよりも単位面積当たりの固定窒素量が多いこと、さらにはサンヘンブの乾物の多くがC-N率の高い茎で占められており、無機化の速度が遅いことが考えられる。したがって、例えば密植によってサンヘンブの茎部の割合を低下させることで、その分解速度を増大させる可能性もある。逆に、熱帯土壤においては有機物の分解が早いので、有機物含有量に大きく左右される地力の維持という点からは、むしろサンヘンブがラッカセイよりも優るかもしれない。

摘要

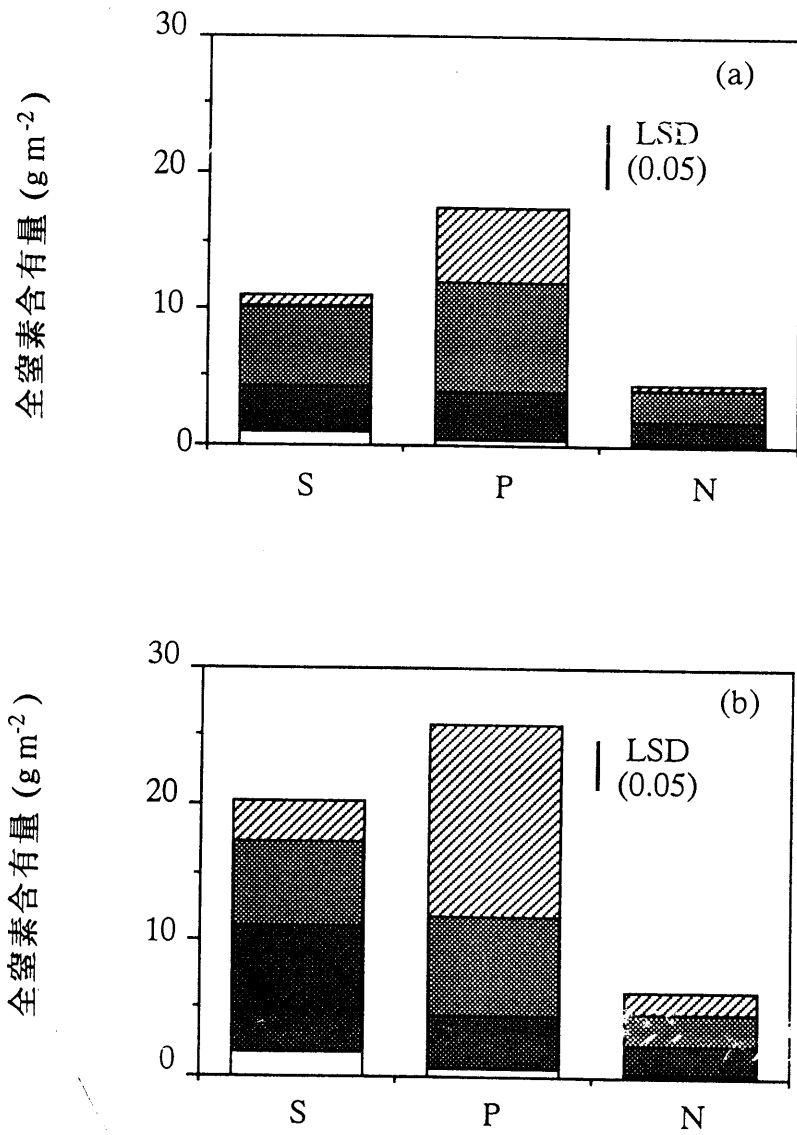
夏作マメ科作物のサンヘンブ（品種：コブトリソウ）およびラッカセイ（品種：千葉半立）を緑肥としてすき込み、後作コムギ（品種：農林61号）の生育ならびに窒素吸収について比較検討した。すき込み時における緑肥作物の乾物生産量は、サンヘンブがラッカセイよりも優った。一方、全窒素含有量はラッカセイがサンヘンブよりも優った。すき込み時のC-N率はラッカセイにおいて約20であったのに対してサンヘンブでは約40と高く、全乾物重に占める茎の割合が著しく高かった。両マメ科作物の固定窒素量を根粒非着生ラッカセイ（品種：タラポト）を対照作物とした差引法によって推定した結果、ラッカセイの方が（ 18.1 g m^{-2} ）、サンヘンブ（ 12.5 g m^{-2} ）よりも有意に高かった。全吸収窒素に対する固定窒素の割合はいずれのマメ科作物ともに60から70%の範囲にあった。後作コムギの収量ならびに窒素吸収量は、ラッカセイ区がサンヘンブ区よりも優った。後作コムギによる緑肥窒素の回収率は、サンヘンブ区で9.4%、ラッカセイ区で11.2%であった。ガラス繊維ろ紙法によって分解速度を測定した結果、C-N率の高いサンヘンブの方が分解は遅いことが明らかで

あった。以上のように、両マメ科作物を緑肥としてすき込んだ場合、後作コムギへの窒素供給作物としては、ラッカセイがサンヘンブよりも優った。



第1-1図 播種後3ヶ月目(a)および5ヶ月目(b)における緑肥作物(S, サンヘンプ; P, ラッカセイ; N, 根粒非着生ラッカセイ)の乾物重.

□, 根; ■, 茎; ▨, 葉; ▩, 莢実



第1-2図 播種後3ヶ月目(a)および5ヶ月目(b)における緑肥作物(S, サンヘンプ; P, ラッカセイ; N, 根粒非着生ラッカセイ)の窒素含有量.

□, 根; ■, 茎; ▨, 葉; ▩, 莢実

第1-1表 緑肥作物の播種後3ヶ月目と5ヶ月目におけるC-N率.

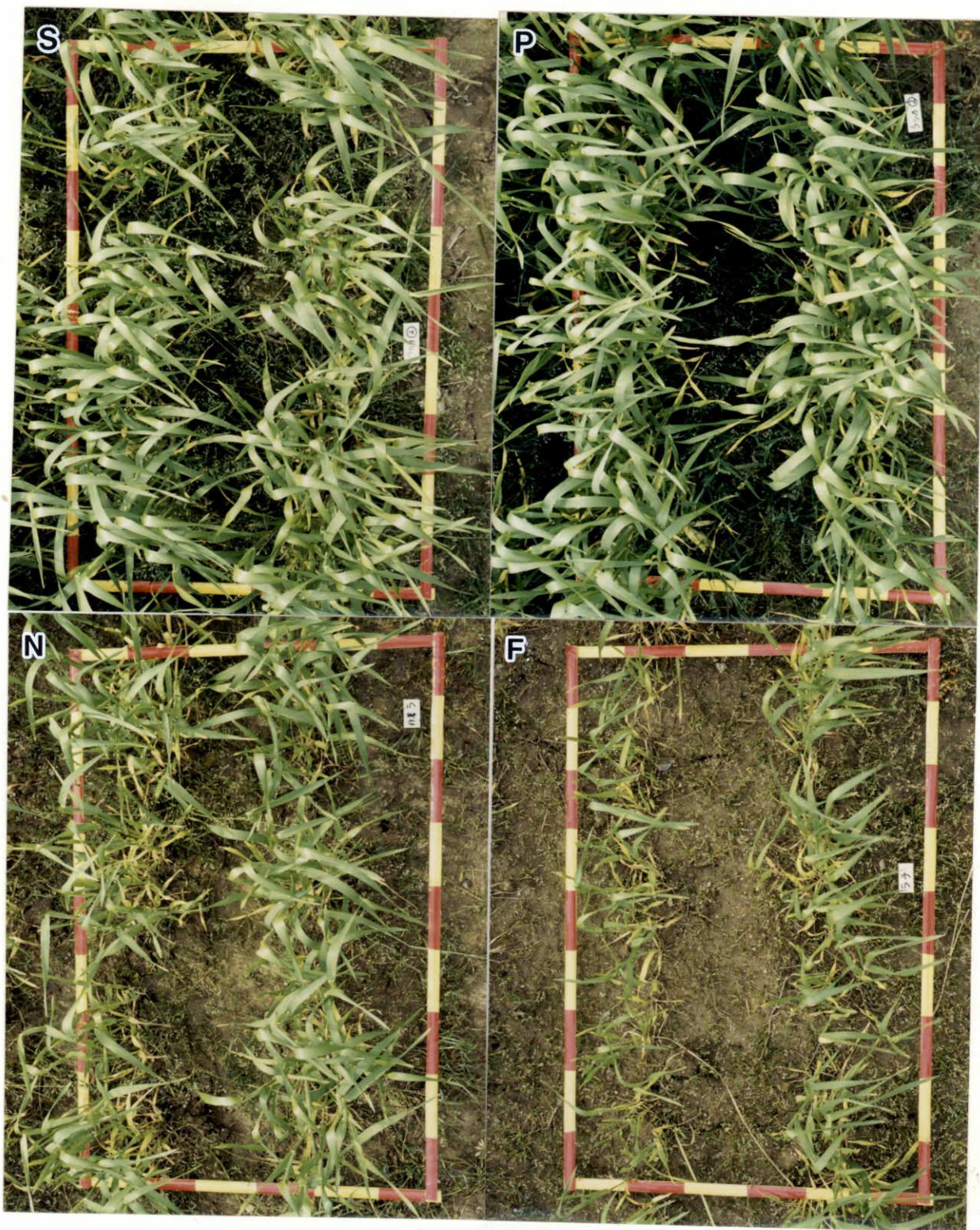
作物	播種後3ヶ月目	播種後5ヶ月目
サンヘンブ	25.8	39.3
ラッカセイ	18.7	20.8
根粒非着生ラッカセイ	31.6	27.2
LSD (0.05)	2.5	4.9

第1-2表 根粒非着生ラッカセイを対照作物とした場合のサンヘンブとラッカセイの固定窒素量および固定窒素寄与率.

作物	全窒素含有量 (g m ⁻²)	固定窒素量 ¹⁾ (g m ⁻²)	固定窒素寄与率 (%)
播種後3ヶ月目			
サンヘンブ	10.9	6.2	56.9
ラッカセイ	17.5	12.8	73.1
根粒非着生ラッカセイ	4.7	—	—
播種後5ヶ月目			
サンヘンブ	20.3	12.5	61.6
ラッカセイ	25.9	18.1	69.9
根粒非着生ラッカセイ	7.8	—	—

1) 固定窒素量 = 各作物の全窒素含有量 - 非着生ラッカセイの全窒素含有量

2) 固定窒素寄与率 = (固定窒素量 / 全窒素含有量) × 100

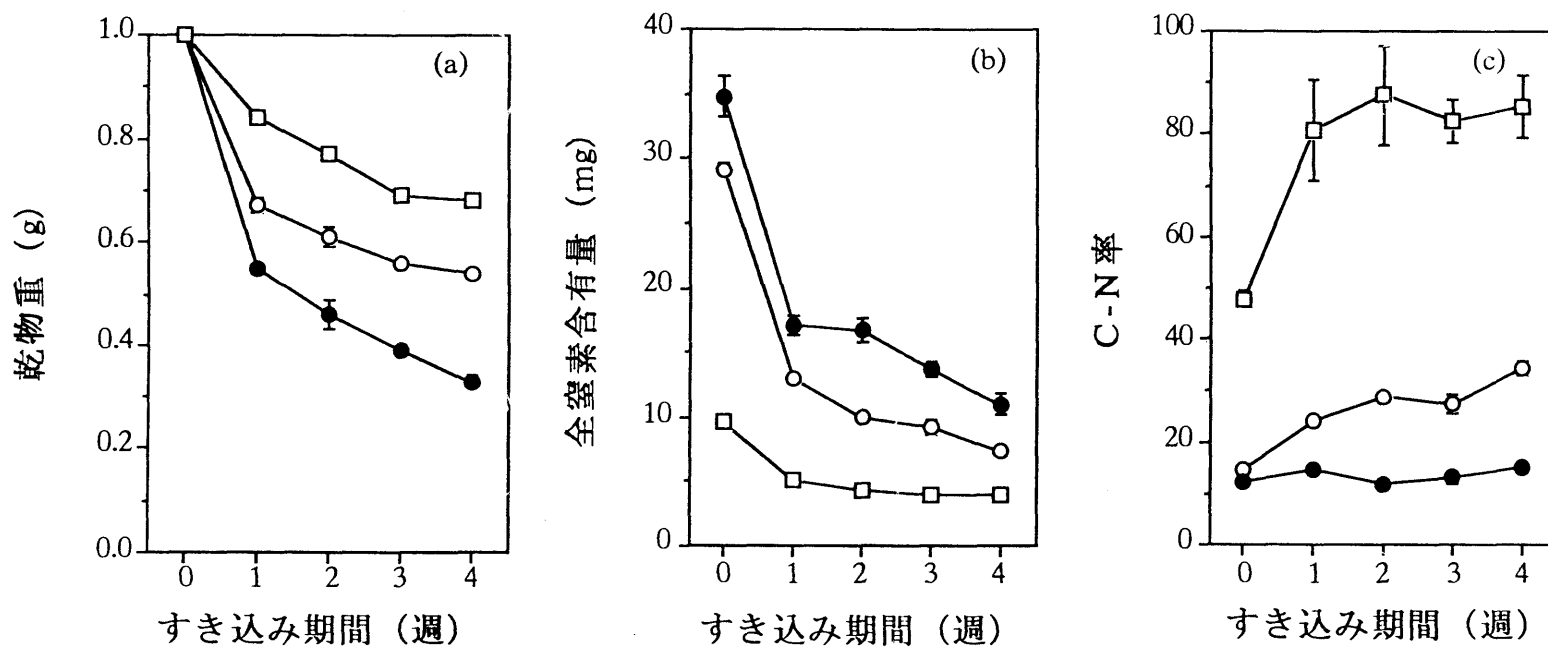


第1-3図 緑肥を施用した圃場各区画における節間伸長期のコムギ.

S, サンヘンプ区 ; P, ラッカセイ区 ; N, 根粒非着生ラッカセイ区 ;
F, 裸地区

第1-3表 緑肥作物を施用した後作コムギの収量，収量構成要素および地上部の風乾重と窒素含有量.

緑肥作物処理区	収量 (g m ⁻²)	一穂粒数 (no.)	1000粒重 (g)	穂数 (no. m ⁻²)	地上部風乾重 (g m ⁻²)	地上部窒素含有量 (g m ⁻²)
サンヘンブ区	189	28.1	36.2	186	455	3.6
ラッカセイ区	233	29.1	37.8	212	587	4.6
根粒非着生 ラッカセイ区	102	25.8	37.0	107	273	2.8
裸地区	76	21.0	35.8	101	167	1.7
L S D (0.05)	23	2.5	2.5	26	78	0.8



第1-4図 土壤にすき込まれた緑肥試料の乾物重 (a)，窒素含有量 (b) およびC-N率の (c) 経時的变化。各値は3反復の平均値±標準誤差を示す。

○，サンヘンプ全植物体；●，ラッカセイ全植物体；□，サンヘンプ基部

第1-4表 後作コムギの窒素吸収に対するすき込まれた緑肥作物の寄与.

緑肥処理区	緑肥作物窒素量 (g m ⁻²)	コムギ窒素量 (g m ⁻²)	窒素回収率 ¹⁾ (%)
サンヘンブ	20.3	3.6	9.4
ラッカセイ	25.9	4.6	11.2
裸地区	—	1.7	—

1) 窒素回収率 =
$$\frac{\text{緑肥処理区のコムギ窒素量} - \text{裸地区のコムギ窒素量}}{\text{緑肥作物の窒素量}} \times 100$$

第2章 ラッカセイ根系における菌根形成

第1節 ラッカセイ根系における菌根の分布

緒言

前章では、サンヘンブおよびラッカセイを緑肥作物として、それらの施用効果を窒素面から解析した。その際に、化学肥料の投入量をさらに低減させるためには、マメ科緑肥作物の窒素固定能を高めることと、後作物の養分吸収能を高めることが重要と思われた。本章では、この二つの問題を解決しうる作物の根系を介したもう一つの共生系である菌根に関して取り上げる。

菌根は植物根と糸状菌の共生体である。菌根を形成した植物では、リンをはじめとする種々の無機養分の吸収が促進されることが知られている。この共生関係を構築するためには、植物根と菌の双方でいくつかの条件を満足する必要がある。したがって、根系内における菌根形成部位の分布を調査することは、その共生関係を確立するために必要な根の条件を理解する上で、重要な手がかりを与えるものと考えられる。

ところで、ある一個体の植物の根系は、形態的にも機能的にも異なる様々な型の根から構成されている (Yamauchi, 1993; Zobel, 1991)。さらに個々の根についてみると、基部から根端に向けてそれぞれ固有の時間を持った齢の勾配が存在している。最近の研究では、根軸の根端側と基部側とでは形態的のみならず機能的にも大きく異なることが示唆されている (Galamay et al., 1992; St. Aubin et al., 1986; Wenzel et al., 1989)。とくに、菌根菌との共生に関連する根の機能としては、根圏における根からの浸出物質が菌根菌の一種の *Gigaspora margarita* の菌糸の伸長を促進したことが報告されている (Bécard & Piché, 1989)。また、これらの浸出物質が根端近くから多く分泌されていることも知られている (Rovira & Davey, 1974)。

これらの事実、菌根を形成する能力は、個々の根の間で異なるのと同時に、1本の根においてもその根軸上の位置によって異なることを強く示唆している。その点に関して、Hepper (1985) はリーキとクローバを用いた興味ある実験を行った。つまり、初めから菌根菌 (*Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe) が存在する土壌で生育させた植物体の根系と、初めはその菌が存在

しない土壌で生育させ、途中から菌の存在する土壌へ移植した植物体の根系との間で菌根の形成を比較したのである。その結果、同じ齢の植物体であっても、移植個体の根系では根軸の基部側で菌根形成が観察されず、根端側のみでその形成が認められたのに対して、初めから菌が存在する土壌で生育した根系は比較的根軸の基部側まで菌根を形成した。さらにAmijee et al. (1993) は、リーキとクローバを菌根菌の存在しない根箱土壌で21日間生育させ、そこに菌根菌が存在する土壌を接触させることによって、根系構造を破壊せずに菌根を形成させた。そして、接触後14日目に根系を採取した。その結果、いずれの作物根系においても、接触時に根端であった根軸部位付近で菌根形成が最大となることを示した。

これまでの菌根の発達に関する数学モデルでは、一本の根軸上における菌根形成の確率はどの部位でも等しいと仮定してきた。しかし、上記の二つの実験からは、ある根系における菌根の分布はランダムではなく、根の条件、とくに齢によって規定されていると考えるべきであろう。ところで、これまでの菌根部位の分布と根の齢との関係を調べたいいくつかの研究は、主根、1次側根、2次側根間の差異 (Smith et al., 1986; Walker & Smith, 1984)、あるいは根端側の重要性 (Amijee et al., 1993; Smith & Walker, 1981; Walker & Smith, 1984) を指摘している。しかし、とくに側根に関して、根の齢と密接に関係している母根上での発生位置との関係には全く注意が払われてこなかった。

そこで本章ではとくに側根に注目し、根軸上の位置 (根の部位の齢) に加えて、その根の母根軸上での発生位置 (根全体の齢) にも着目して、菌根形成の分布パターンを調査することにした。ここでの目的は、ラッカセイ根系における側根軸上の菌根形成の分布パターンを定量的に評価し、さらに母根軸上の位置によってその分布パターンがどのように異なるかを明らかにすることである。

材料と方法

1. ラッカセイの生育

ラッカセイ (*Arachis hypogaea* L., 品種: 千葉半立) を根箱 (20 cm×25 cm×5 cm) を用いて、自然光型グロースチャンバー内 (30℃/20℃, 昼/夜) において生育させた。使用土壌は、2mmのふるいを通した非滅菌・無施肥の木曽川壤

質砂土（砂87%，シルト9.6%，粘土3.4%，41mgトルオーグリン kg^{-1} ）であった。この土壤に、根箱当たり約200個の*Gigaspora margarita* Becker & Hall胞子を含んだ10 gの菌根菌接種源（セラキンコン，セントラル硝子社）をあらかじめ混合し、各根箱に充填した。ラッカセイ種子を次亜塩素酸ナトリウム（0.5%活性塩素）に5分間浸漬して表面殺菌し、滅菌水で3回洗浄した。表面殺菌した種子を30℃で催芽させ、1993年8月20日に根箱土壤に播種した。播種後4日目に間引いて1根箱1個体とした。週に一度根箱全体をそのまま水槽に30分間浸漬することによって灌水した。播種後16日目にKono et al. (1987b)の方法にしたがって、構造を保った状態で根系を採取した。採取した根系サンプルは、FAA（容量で、ホルマリン1：酢酸1：70%エタノール18）中に保存した。4つの根系サンプルの内、平均的なものを3つ選んで以下の測定を行った。

2. 根系を構成する根と菌根形成部位の数と長さの計測

それぞれの根系サンプルにおいて、主根基部を基準として発生位置を記録しながら全ての1次側根を主根から切り離し、それぞれの1次側根とそこから発生した2次側根の長さを直接物差しで測定した。これらの根系は3次側根まで分枝していたが、3次側根の発生は極めてわずかであったので、2次側根として扱うことにした。菌根形成部位の観察のために、側根を切断せずにPhillips & Hayman (1970)の方法にしたがって染色した。すなわち、各側根を10%水酸化カリウム水溶液に入れ、オートクレイブ中（121℃，1.2気圧で10分間）で透明化し、10倍に希釈した過酸化水素水で十分に脱色した。次に、0.05%トリパンプルー・ラクトフェノール溶液に透明化した試料を浸漬し、オートクレイブを用いて90℃，約5分間染色した。さらに、染色試料をラクトフェノール溶液に入れてオートクレイブで90℃，約10分間加温し、余剰の染色液を取り除いた。検鏡に際して脱色が不十分な場合、ラクトフェノール溶液でさらに加温した。このようにして調整した側根において、倍率20～40の実体顕微鏡下で個々の菌根形成部位を観測した。ここでは、菌根部位を内部菌糸（internal hyphae）または樹枝状体（arbuscule）が観察された根の部分と定義し、その長さや根端および基部からの最短距離を併せて測定した（第2-1図）。これらの測定はmm単位で行い、1mm未満の長さは1mmとして扱った。なお、本試験

においては非滅菌土壌を用いたが、同じ土壌で生育させた菌根菌非接種ラッカセイでは、菌根の形成がほとんど認められなかった（第2章2節 参照）、土着菌の影響は無視することとした。

3. 1次側根軸上での菌根部位の分布パターン

本研究で採取した根系（16日齢）では、1次側根が菌根形成の主たる場であったので（第2-1表 参照）、この側根を対象に以下の操作を行った。

各側根の主根上の位置、そして長さならびにその根における菌根部位の長さと根軸上での位置が記録された根系図を各根系サンプル毎に作成した。主根軸上における1次側根の発生位置と菌根形成の関係を明らかにする目的で、根系図上でそれぞれの1次側根をそれらの主根上での発生位置に基づいて次のようにグループ分けした。主根の長さは平均230mmであり、主根の基部（0mm）から50mmまでの根軸から発生した1次側根を一つのグループとし、同様に50・100mm、100・150mm、150～200mmの4つのグループ（主根断片）に分けた。さらに各主根断片において、そこから発生している各1次側根軸の長さを基部を0%、根端を100%として、0～10%の根軸部分を10%、10～20%の部分を20%のように分割し、各10%部分毎に菌根部位の出現頻度を数えた。3個体の根系サンプルから得られたこれらのデータを各主根断片および各根軸部分別に合計して、1次側根軸上の菌根の形成頻度とした。

結果と考察

16日齢のラッカセイ根系における構成根別の長さと数、およびそれぞれの構成根上で形成された菌根部位の長さと数を第2-1表に示した。根系全体の総根長は10mを越え、その約70%は1次側根によって、残りの約30%は2次側根によって占められていた。主根の長さは230mmであり、総根長に対する割合はほとんど無視できる値であった。根系を構成した総根数は1042本で、その内訳は根長の傾向とは逆に1次側根が15%、2次側根が85%近くを占めていた。この第2-1表のデータを基に1本当たりの平均根長を計算してみると、1次側根は46mm、2次側根は4mmであった。なお、この時期では根粒の形成はほとんど認められなかった。

一方、これらの構成根上に形成された菌根部位についてみると、根系全体で201本の根において形成が認められ、その内訳は1次側根が71%、2次側根が29%であった。また、2次側根上での感染部位はおよそ1本当たり1個であったのに対して、ほとんどの1次側根では1本当たり複数の菌根部位が認められた。菌根部位の数は根系全体で253個であり、その内41%は1次側根上に59%は2次側根上に認められた。菌根部位の総長は根系全体で735mmに達し、全根系の総根長の8%であった。菌根部位長の66%は1次側根上で認められ、残りが2次側根上のものであった。個々の菌根部位の平均長は、1次側根軸上では4.6mm、2次側根軸上では1.5mmであった。一方、主根上での菌根形成は透明化が困難で、3個体の内の1個体のみで観察された。そこでは、根端付近で5mm程の菌根部位が確認された。このように、菌根部位の多くが1次側根軸上で形成されていたので、以下の解析は1次側根軸を対象に行った。

1次側根の根端および基部から個々の菌根部位までの最短距離の頻度分布を第2-2図に示した。根端からの距離でみると、最も短い5mm以下の階級での頻度が最も高く、距離が長くなるにつれて急激に頻度が減少した（第2-2 a 図）。基部からの距離では、同じく基部から5mm以内の最も短い距離において最も高い頻度を示した。そして、根端からの距離で見られたような急激な減少ではないが、距離が長くなるにつれて緩やかな減少傾向を示した（第2-2 b 図）。この二つの結果は、菌根の形成が根端付近で最も高くなる一方で、基部付近でも高くなるという一見矛盾した印象を与える。それは、側根間で長さが異なるのと同様に菌根部位にも様々な長さのものがああり、しかも1本の根軸上には複数の菌根部位が存在することに原因があった。

過去の研究では、根軸上の菌根部位の分布を全て根端からの距離によってのみ評価している（Amijee et al., 1993; Brundrett et al., 1984; Brundrett & Kendrick, 1990; Smith et al., 1986; Smith et al., 1992）。しかし、第2-2図から明らかのように、この評価法では1個体の根系を構成する様々な長さの側根軸上を対象にして、菌根部位の分布の特徴を定量的に把握するのは困難である。

そこで、この問題を解決するために、各側根軸について基部を0%、根端を100%とし、それぞれの10%部位毎に菌根の出現を頻度として数えた。このように根長を相対化することによって、長さの異なる側根軸上における様々な長

さの菌根部位の分布の特徴を把握することができると考えた。さらに、これらの1次側根を主根軸上での発生位置によって4群に分けた（詳細は材料と方法を参照）。こうして1次側根軸・主根軸に対する菌根形成の頻度分布を3次元で示したのが第2・3図である。菌根形成の分布パターンは、4つの側根群の間で異なり、とくに根端側（60～100%部位）の差異が顕著であった。それに対し、それらの根軸の基部側（10～50%部位）では、これら4つの側根群で大きな差異が認められなかった。具体的には、主根軸の最も基部側から発生した相対的に齢の進んだ側根群（主根軸0～50mm）では、その側根軸基部から根端に向かって向頂的に菌根の形成頻度が高まった。しかし、そのような傾向は主根軸のより根端側から発生した若い側根群（主根軸150～200mm）ほど不明瞭になり、最も若い側根群では菌根部位の分布の局在性はほとんど認められなかった。

ところで、菌根形成の程度を表す指標には感染率（菌根形成率）がよく用いられる。この感染率は、根系の一部を対象に根を細かく切断し、それぞれの切断根毎に菌根形成の有無を調べて、全切断根数に対する菌根を形成した切断根数の割合で表示されたものである。ここでは、それぞれの切断根の中で菌根部位がどの程度認められるかを考慮しない場合が多いので、ほとんどの場合過大評価となるという指摘がある（McGonigle et al., 1990b）。また、この方法では固有の長さを持つ菌根部位の発達程度を正確に表現することはできない。換言すれば、菌根の発達程度は、根系内におけるその出現頻度と個々の菌根部位の長さの2つの要因で正確に表されるはずである。しかし、通常の感染率では前者のみによって推定されるところに大きな問題がある。これに対し、本研究におけるデータの取り方によれば、菌根部位の出現頻度と長さの2つの側面から菌根の発達程度を捉えることが可能である。

そこで、第2・3図で示された菌根の分布の特徴が、これら2つの要因のどちらに強く規定されているのかを評価するために、1次側根軸上の相対位置別に菌根部位の数と長さを調べた。まず、側根軸に沿った菌根部位の出現頻度（数）の分布を検討するために、それぞれの菌根部位の中心点をその部位の位置とし、側根軸の各10%部位に属した中心点の頻度を示したのが第2・4図である。その結果、基本的には第2・3図の頻度分布とよく類似したパターンを示した。しかし、最も主根基部側から発生した齢の進んだ側根群は、第2・3図と比較して根端近辺

でより鋭敏に増加する分布パターンを示した。

つづいて、菌根部位の長さの要因を検討するために、個々の菌根部位の中心点の側根軸上における相対位置をX軸にとり、それに対応させた菌根部位の長さをY軸にとった散布図を第2-5図に示した。最も主根基部側から発生した齢の進んだ側根群では、10mmを越える長い菌根部位が多く認められた（第2-5 a 図）。それらの中心点は根端側の60～90%において多く見出され、最も長かった45mmの菌根部位は74%位置で認められた。一方、基部側の0～60%と最根端の100%付近においては、多くの菌根部位の長さは10mm未満であった。他の3つの側根群では、主根軸の根端側から発生した側根群ほど10mm以上の長さの菌根部位の数は少なかった（第2-5 b, 2-5 c, 2-5 d 図）。ここで第2-4図と第2-5図の結果をまとめてみると、主根軸の基部側から発生した齢の進んだ側根群では、菌根部位の形成は最根端付近で最も盛んであるが、より発達した長い菌根部位の中心は最根端よりもやや基部寄りで多く認められた。しかし、他の3つのより若い側根群では、その様な傾向は明瞭ではなかった。したがって、第2-3図で示された菌根形成の分布パターンは、主にその菌根部位の数によって規定されていたが、より齢の進んだ側根群ほど菌根部位の長さの影響をさらに含む傾向が示された。

以上の解析では、根軸上の位置を相対値によって表現してきたので、根軸の実際の長さと菌根形成や根軸上の分布パターンとの関係は不明であった。言い換えれば、長さの異なる側根間では菌根部位の分布パターンも異なる可能性がある。そのことを確認するために、第2-3図の頻度分布を側根軸の長さ別に6階級に分けて描き直したものが第2-6図である。その結果、4つの側根群のそれぞれで、根軸の長さによって分布パターンが異なる傾向は認められなかった。例えば、最も主根軸の基部側から発生した古い側根群には、30-60mm, 60-90mm, 90-120mmの根軸長階級のものが多く含まれ、これらが上述したようなこの側根群の特徴的な分布パターンを規定していた（第2-6 a 図）。しかし、これらの根軸長階級は、他の3つの側根群でも認められたが、その分布パターンは古い側根群とは異なった（第2-6 b, 2-6 c, 2-6 d 図）。したがって、1次側根軸上での菌根形成パターンは、根軸の長さよりもむしろ、主根軸からの発生位置により強く規定されていると思われた。

そこで、側根軸の長さと菌根部位の長さおよび数との相関を各側根群別に第2-7図、第2-8図にそれぞれ示した。根軸の長さと菌根部位の数の間の相関関係は、最も主根軸根端側の若い側根群のみで有意であり（第2-7 d 図）、他の側根群では有意な相関が得られなかった（第2-7 a, 2-7 b, 2-7 c 図）。さらに、根軸の長さと菌根部位の長さとの間にはどの側根群においても有意な相関関係は得られなかった（第2-8図）。これらの事実は、1次側根軸の長さが菌根形成に関連していなかったことを示している。したがって、本研究で採用した側根軸の相対的位置による菌根分布パターンの評価方法の合理性を支持している。

本研究は、根系内の菌根の分布パターンの規則性を明らかにした。とくに、1次側根軸上の位置、またその側根の主根軸上での発生位置と菌根形成のパターンとの間に密接な関係が見出されたということは、根の齢が菌根形成を大きく規定していることを意味する。その関係を規定するメカニズムとしては、次のようなことが考えられる。まず、1次側根軸上に沿って向長的に菌根形成頻度が高まる分布パターンは、根軸に沿った齢の勾配に求めることができるだろう。根の加齢は細胞壁のリグニン化ならびにスベリン化を伴うが、これらの変化は菌根形成を阻害すると考えられている（Amijee et al., 1993）。このことによって、1次側根軸の基部側において菌根の形成頻度が低下する現象は説明できそうである。だが、なぜ比較的古い主根軸基部側から発生した側根群のみで、根端側の形成頻度が高まったのかは説明できない。

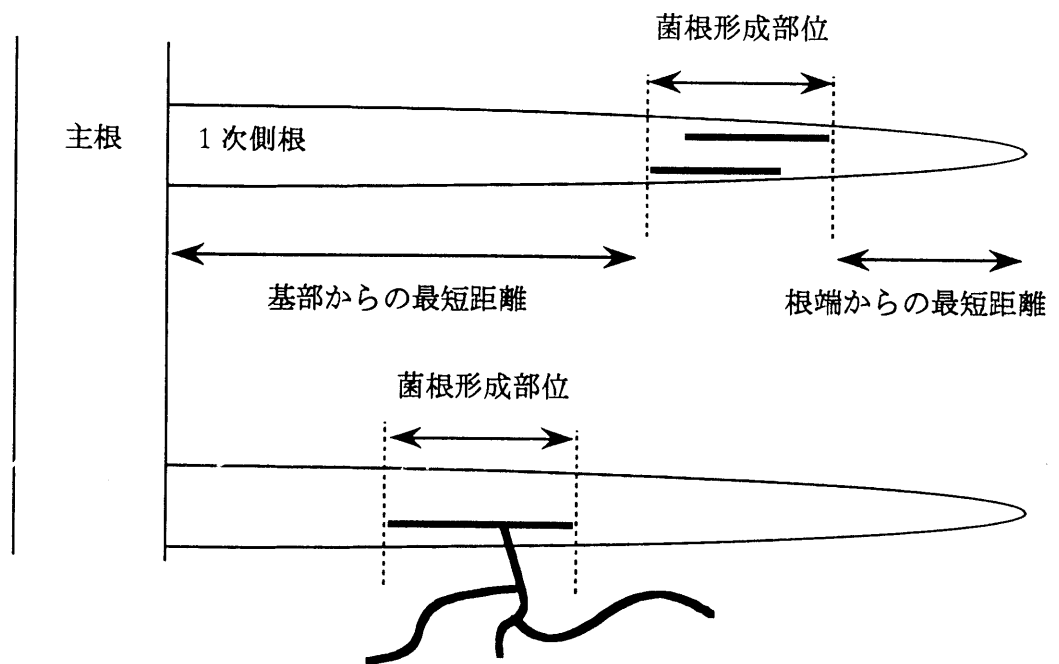
もう一つの考えられる原因は、Amijee et al. (1993) が指摘したように、菌根菌の接種源に対する接触時間の差異であろう。すなわち、比較的古い側根は物理的にそれだけ長く感染源に接することができる。この研究では、主根軸基部側から発生した側根は、主根軸根端側から発生したものよりも古いと仮定してきた。この仮定は多くの場合に当てはまると考えられているが、常に正しいとは限らない。しかし、本研究においては、長い菌根部位の多くが古い側根群で認められたことから（第2-5 a 図）、この仮定が誤りではなかったものと考えた。なぜなら、長い菌根部位を形成するためには、それだけ長い時間が必要であるはずだからである。そうであるならば、古い側根の新しい部位（根端側）においてより菌根形成頻度が高くなったことは、側根の加齢に伴った現象と捉えることが可能である。緒言にも述べたように、菌根菌は根端からの浸出物質に反

応することが知られており、古い側根はそれだけ菌根菌を誘因する浸出物質を土壌中に残した可能性がある。あるいは、古い側根と新しい側根ではその浸出物質の浸出速度や組成が異なる可能性もある。菌根の分布を規定するメカニズムは、今後の重要な検討課題であろう。

結論として、本研究は16日齢のラッカセイ根系において、まず1次側根が主な菌根形成の場を提供していたことを明らかにした。そして菌根部位は根系内で決して均一に分布しているわけではなく、その側根軸上の位置間で形成頻度が異なり、またその側根の発生位置によってその分布パターンが大きく異なることを示した。その分布パターンは、主根軸上でより基部側から発生した、起源が古い側根で形成頻度が高く、しかもその古い側根軸上ではより新しい根端側で形成頻度が高いというものであった。菌根の形成過程をさらに理解するためには、これ以降の根系形成の動態に伴ってどのように変化するのか詳細に調査する必要がある。

摘要

植物根と糸状菌の共生組織であるアーブスキュラー菌根の分布を、生育初期のラッカセイ (*Arachis hypogaea* L.) 根系で調査した。アーブスキュラー菌根菌 (*Gigaspora margarita* Becker & Hall) を非滅菌土壌へ均一に接種し、その土壌を充填した根箱を用いて、植物体を自然光型グロースキャビネット内で16日間生育させた。形成された菌根部位の全長の66%は1次側根上で認められ、残りは2次側根で形成された。一方、主根においては菌根形成はほとんど認められなかった。1次側根軸上での菌根形成の頻度は、根端に向かって向頂的に増加することが明らかとなり、とくにその傾向は、主根軸の基部側から発生した比較的齢の進んだ1次側根において顕著であった。そのエイジの進んだ1次側根では、根端に最も近い部位において菌根の形成数は最大であったが、比較的長い菌根部位の多くはそこからやや基部寄りで形成されていた。しかし、主根軸のより先端側から発生したより若い側根では、そのような向頂的に増加する分布パターンは次第に不明瞭となった。以上のことから、1次側根に形成される菌根の分布やその発達、主根軸に沿った側根の発生位置と密接に関連することが明らかとなった。

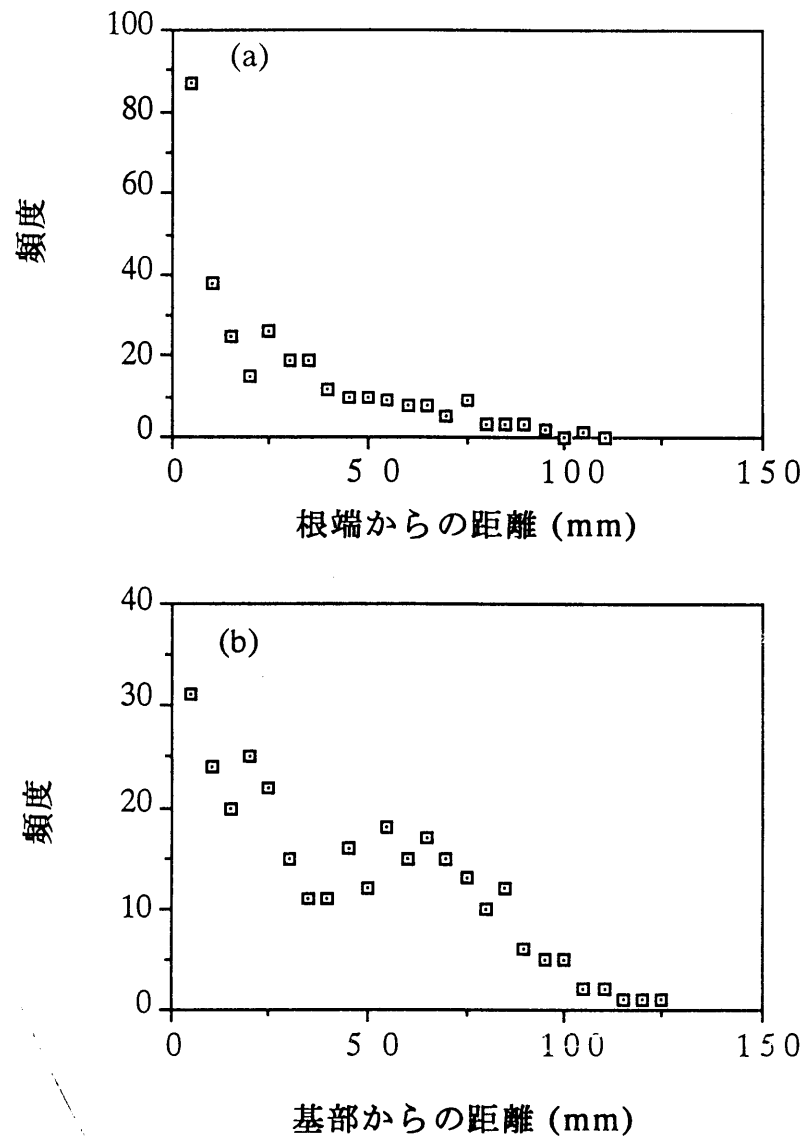


第2-1図 1次側根上に形成された菌根部位およびその位置関係.
(—) は, 菌根菌の菌糸を示す.

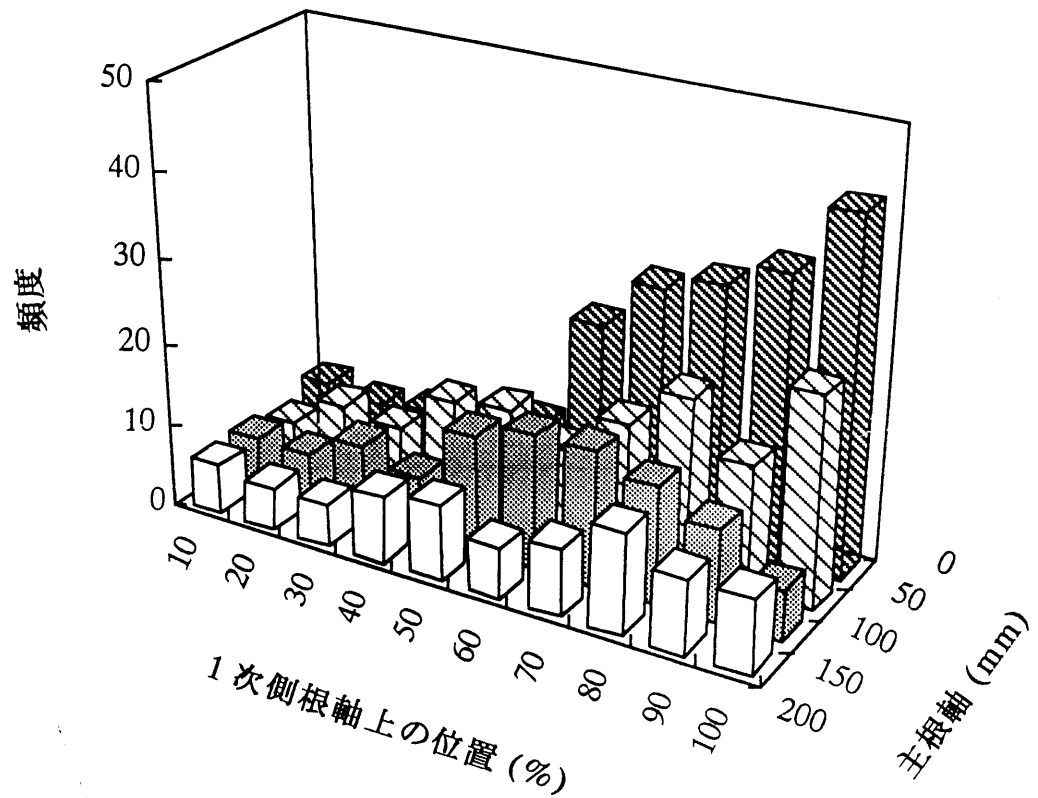
第2-1表 16日齡ラッカセイ根系の各構成根別総根長，総根数および菌根形成.

構成根	総根長 (m 個体 ⁻¹)	総根数 (個体 ⁻¹)	菌根形成根数 (個体 ⁻¹)	菌根部位数 (個体 ⁻¹)	菌根部位長 (mm 個体 ⁻¹)
主根	0.23 ± 0.03	1	0.3 ± 0.3	0.3 ± 0.3	1.7 ± 1.7
1次側根	7.15 ± 1.60	154 ± 39	58 ± 8	104 ± 15	488 ± 152
2次側根	3.56 ± 1.14	887 ± 122	143 ± 42	149 ± 45	244 ± 102
全根系	10.95 ± 2.39	1042 ± 153	201 ± 39	253 ± 47	735 ± 200

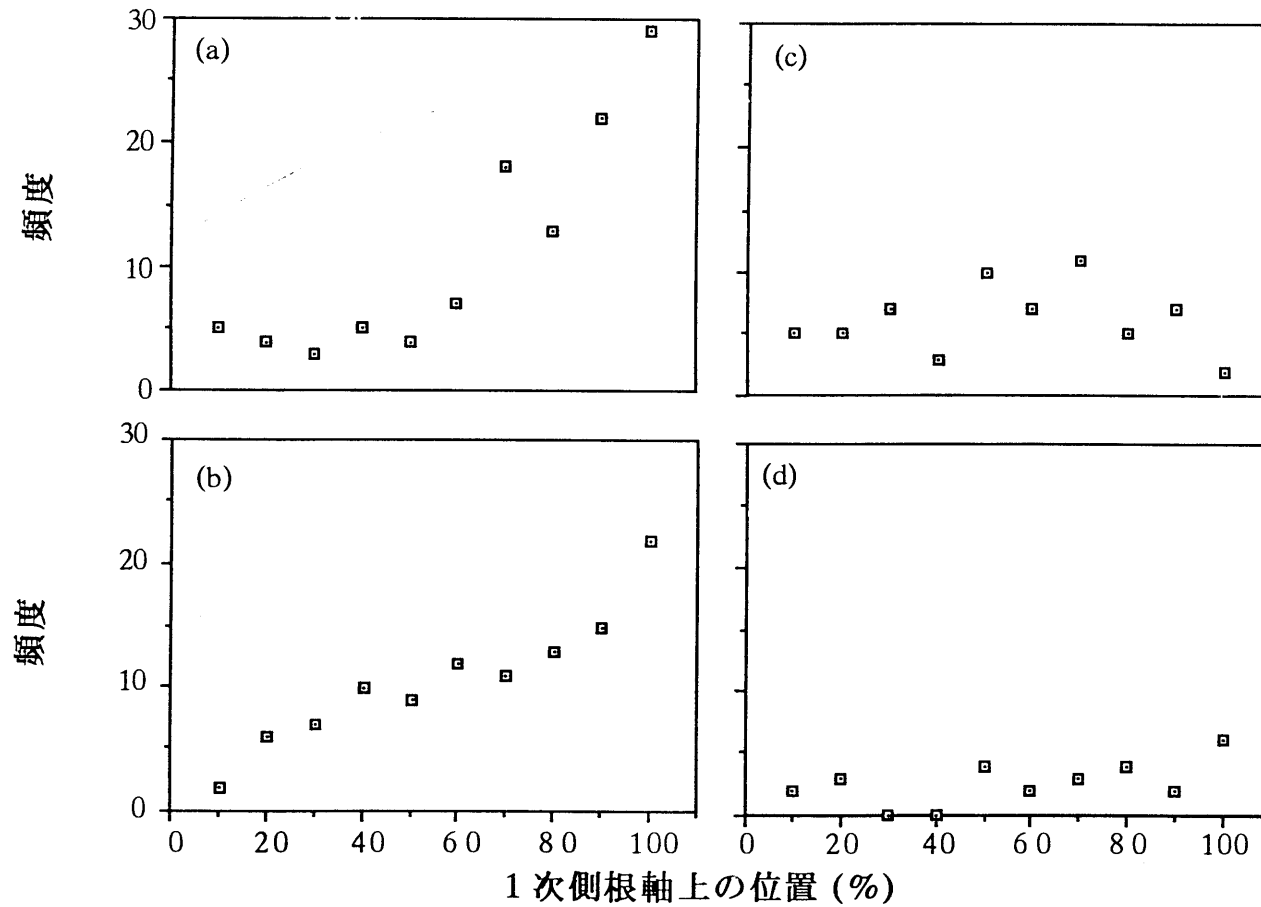
各値は3個体の平均値 ± 標準誤差を示す.



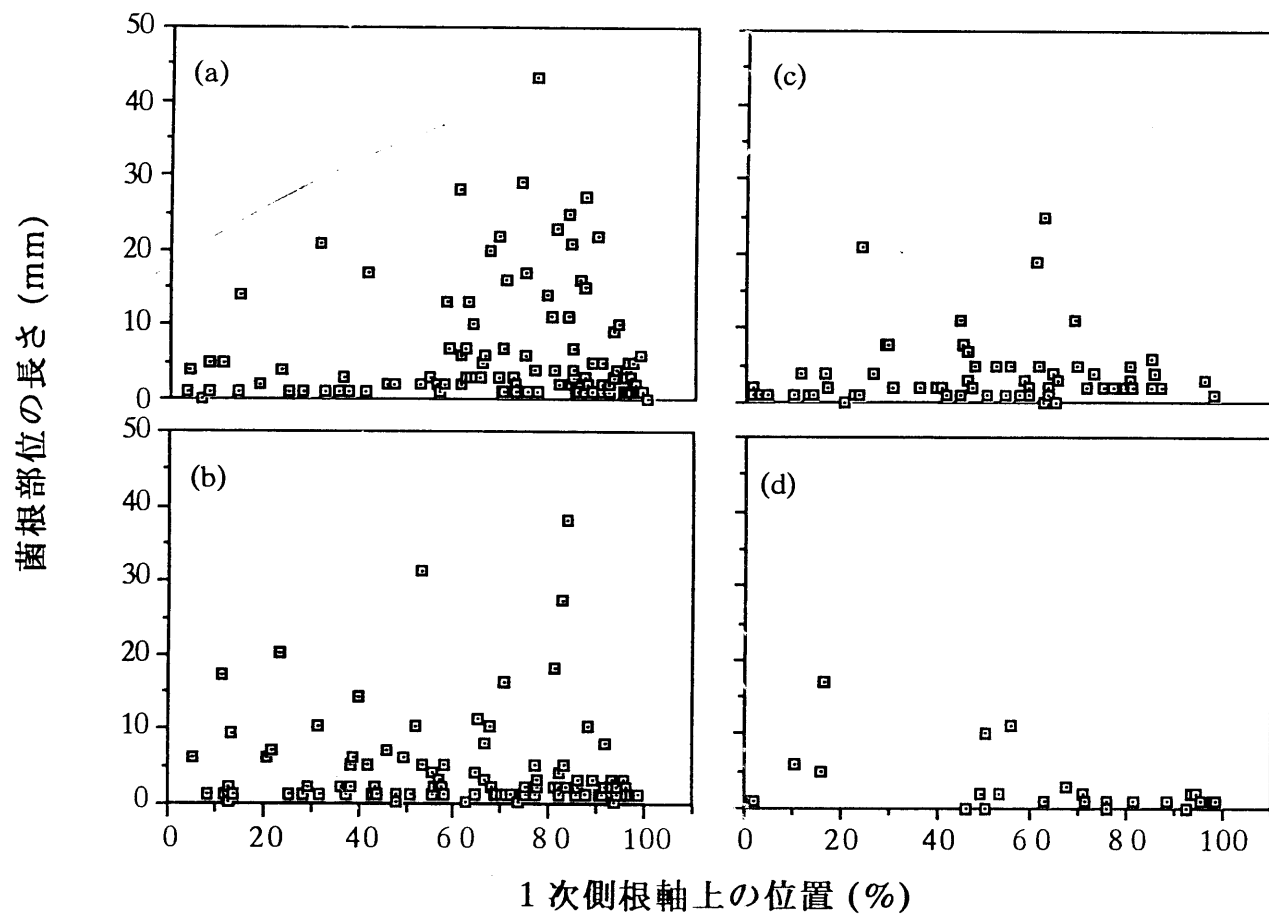
第2-2図 1次側根上に形成された菌根部位とその側根の根端 (a) および基部 (b) との距離の頻度分布.



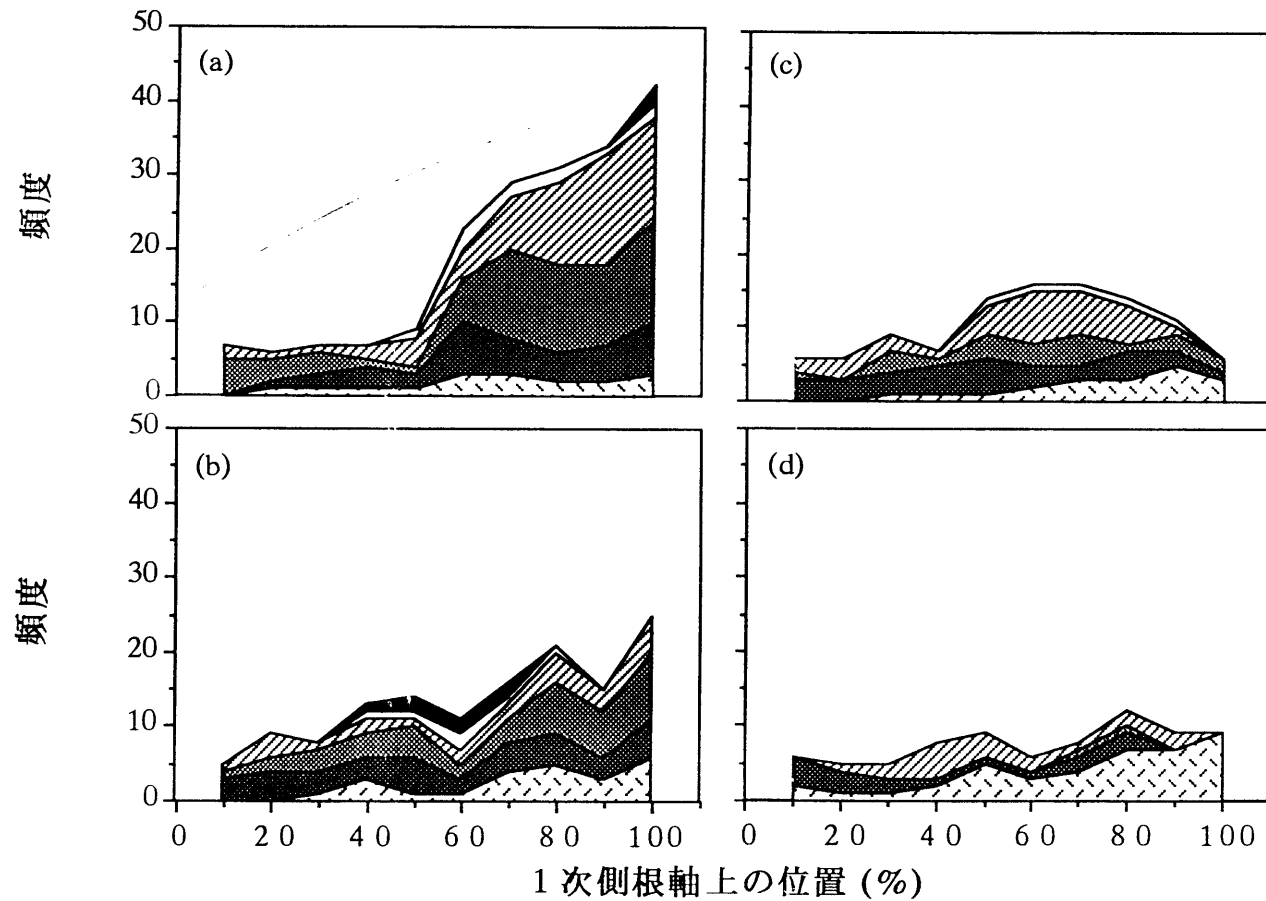
第2-3図 16日齡ラッカセイ根系の1次側根軸上における菌根出現の頻度分布. 1次側根軸上の位置は, その側根の基部を0%, 根端を100%としたときの相対値を示す. 1次側根は, 主根軸からの発生位置別に主根基部からの距離で0mmから50mmの間に発生した側根群, 50mmから100mmまでの側根群, 100mmから150mmまでの側根群, 150mmから200mmまでの側根群に分けた.



第2-4図 16日齢ラッカセイ根系の1次側根軸上における菌根部位数の頻度分布. 1次側根軸上の位置は, 10%が最も基部, 100%が最も根端部位としたときの相対値を示す. 1次側根は, 主根軸からの発生位置別に主根基部からの距離で0mmから50mmの間に発生した側根群 (a), 50mmから100mmまでの側根群 (b), 100mmから150mmまでの側根群 (c) 150mmから200mmまでの側根群 (d) に分けた.

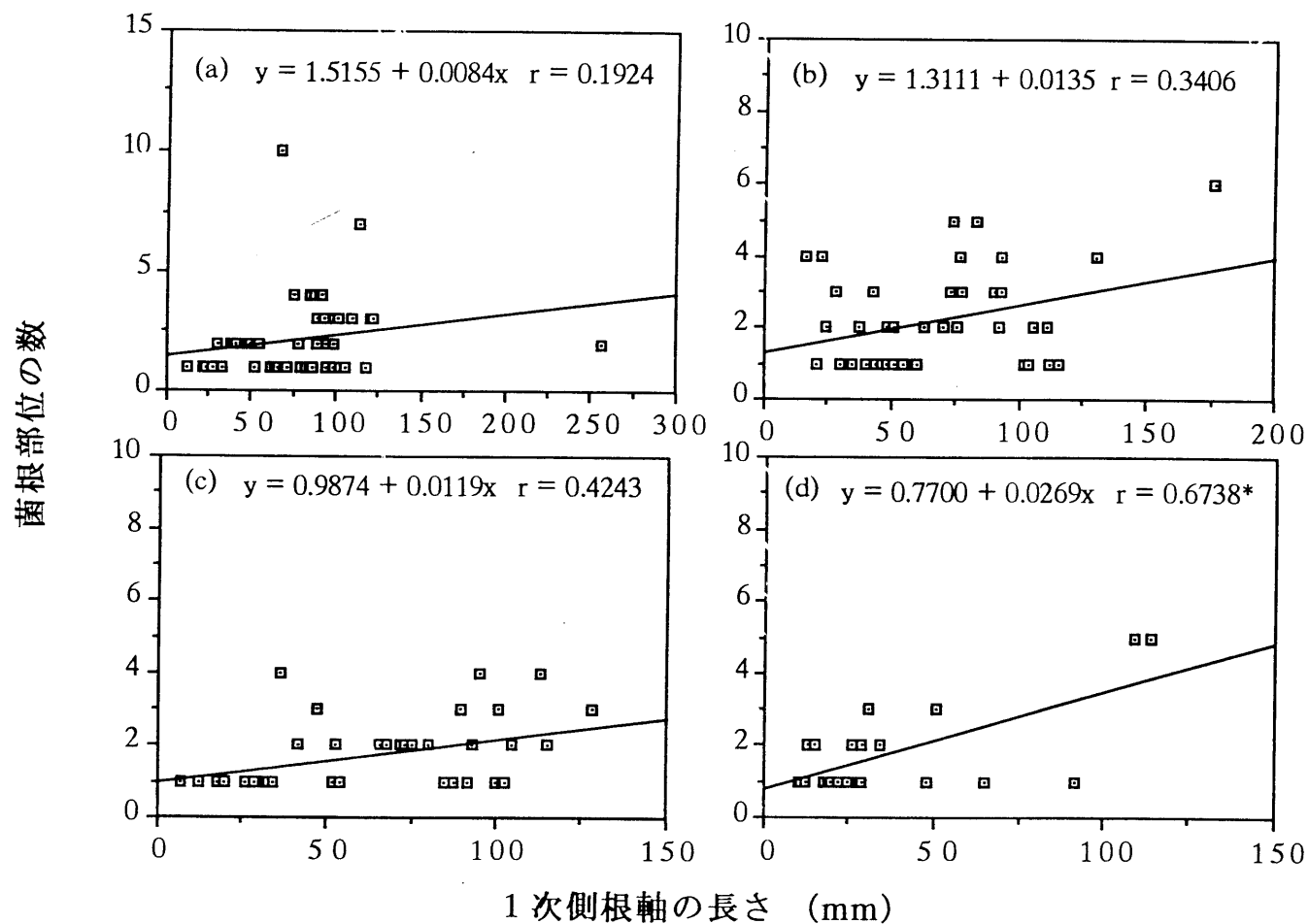


第2-5図 16日齢ラッカセイ根系の1次側根軸上における菌根部位の長さとその根軸上の位置との関係. 1次側根軸上の位置は, 0%が最も基部, 100%が最も根端部位としたときの相対値を示す. 1次側根は, 主根軸からの発生位置別に主根基部からの距離で0mmから50mmの間に発生した側根群 (a), 50mmから100mmまでの側根群 (b), 100mmから150mmまでの側根群 (c) 150mmから200mmまでの側根群 (d) に分けた.

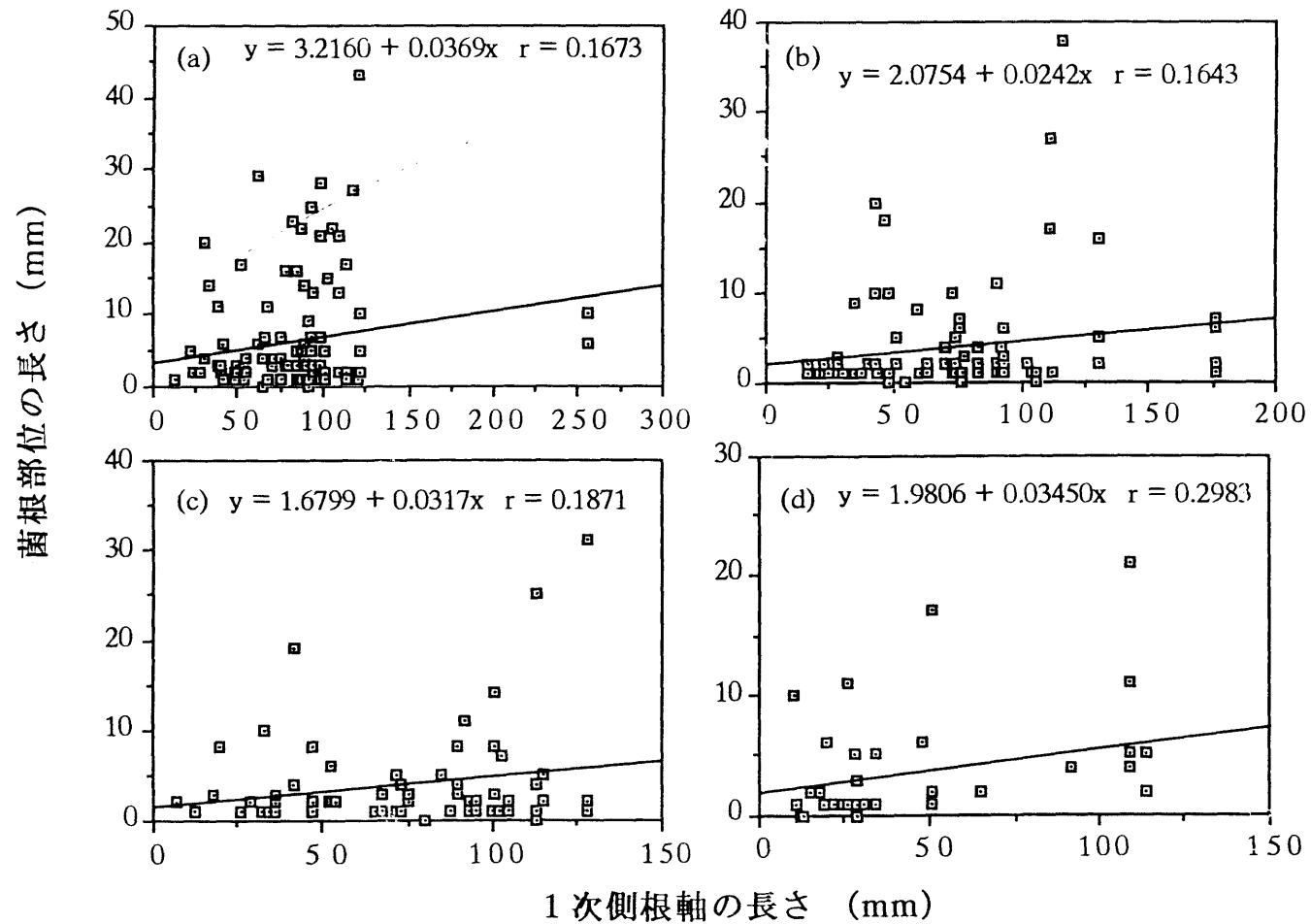


第2-6図 16日齢ラッカセイ根系の1次側根軸上における菌根部位出現頻度の分布と根軸の長さとの関係。1次側根軸上の位置は、10%が最も基部、100%が最も根端部位としたときの相対値を示す。1次側根は、主根軸からの発生位置別に主根基部からの距離で0mmから50mmの間に発生した側根群（a）、50mmから100mmまでの側根群（b）、100mmから150mmまでの側根群（c）150mmから200mmまでの側根群（d）に分けた。

30mm以下の長さ、□；30から60mmの長さ、▨；60から90mmの長さ、▩；90から120mmの長さ、▧；120から150mmの長さ、■；150mm以上の長さ、■



第2-7図 16日齡ラッカセイ根系の1次側根軸の長さとその側根軸上で形成される菌根部位の数との関係。1次側根は、主根軸からの発生位置別に主根基部からの距離で0mmから50mmの間に発生した側根群（a）、50mmから100mmまでの側根群（b）、100mmから150mmまでの側根群（c）150mmから200mmまでの側根群（d）に分けた。*は0.05水準での有意性を示す。



第2-8図 16日齢ラッカセイ根系の1次側根軸の長さとその側根軸上で形成される菌根部位の長さとの関係。1次側根は、主根軸からの発生位置別に主根基部からの距離で0mmから50mmの間に発生した側根群 (a), 50mmから100mmまでの側根群 (b), 100mmから150mmまでの側根群 (c) 150mmから200mmまでの側根群 (d) に分けた。

第2章 ラッカセイ根系における菌根形成

第2節 ラッカセイ根系の形態的構造に及ぼす菌根形成の影響

緒言

種々の環境要因は、根系形態に様々な影響を及ぼす。とくに土壤環境はそれらの環境要因の中で、最も大きな影響を及ぼすものの一つであり、物理的 (Galamay et al., 1992; Iijima et al., 1991; Kono et al., 1987a; Pardales et al., 1991), 化学的 (Ohdan et al., 1995; Pardales et al., 1992) さらに生物的 (Cooper & Grandison, 1987) な影響を通じて根系形態を変化させる。一般に、養水分吸収等の根系の機能は、その形態的な特徴によって第一義的に規定される。したがってある土壤環境における、根系機能を評価する上で、その形態的な情報は不可欠である。

菌根菌は共生体としての機能を備えた菌根を、多くの植物種で形成させることが知られている (Harley, 1991)。比較的最近まで、この菌根の形成は根系の形態変化を伴わないと考えられてきた (Harley & Smith, 1983)。しかし、最近のより詳しい根系形態の解析の結果、その見解に対して疑問が抱かれている。例えば、根系の分枝構造に着目する数学的解析として、Fitter (1985) が提唱したトポロジー解析によって、菌根植物と非菌根植物の根系形態は、分枝パターンが異なることが明らかにされた (Fitter, 1985; Hetrick et al., 1988)。さらに Berta et al. (1990) は、菌根を形成した植物の根系は非菌根植物のものと比較してより短い根軸からより多くの側根を発生させることを示し、このような形態変化は、菌根を形成した根における根端生長点の分裂活性の低下によると結論した。さらに彼らは、それまでの研究が菌根、非菌根植物の根系形態の差異を見出せなかった理由について考察した。つまり、これまでの多くの研究では、根系発達の指標として全根系の新鮮重あるいは乾物重、総根長または R/S 比を用いてきた (Berta et al., 1993)。しかし、これらのパラメータは根系の形態的な特徴を表現するには不適當であり (Berta et al., 1990)、根系の構造や機能に対する有意義な情報を得るためには、より詳細で形態学的なアプローチが必要と指摘した (Berta et al., 1993)。

前節でも述べたように、植物は様々な構成根によって、その根系を構成して

いる。これらの構成根は形態的、生理的さらに遺伝的にも異なることが知られている (Zobel, 1991)。Yamauchi (1993) は、ある植物根系の構成根はそれらの起源、齢、活性そして機能においてそれぞれ異なり、根系形態の解析に際してはこれらの差異を十分に踏まえる必要があることを強調した。もし、これらの構成根が菌根形成に対して異なる形態的反応を示せば、その結果として根系形態は変化するであろう。

前節では、16日齢のラッカセイ根系において菌根の分布を詳しく解析した。ここでは、そのラッカセイの根系形態の変化を、菌根菌を接種しなかったラッカセイ根系との比較によって解析した。とくに、構成根の違いを明らかにするために、3つの構成根（主根、1次側根および2次側根）を対象に、それぞれの形態的变化を調査した。

材料と方法

1. ラッカセイの生育

前節で用いたラッカセイ (*Arachis hypogaea* L., 品種：千葉半立) を菌根菌接種区とした。対照として、土壤に菌根菌の接種源を混合しなかった根箱で同様に生育させたラッカセイを供試した。対照区の生育条件は接種区と同じであった。播種後16日目の根系採取に際して、地上部の草丈、葉面積を測定してから、70℃で48時間乾燥させて乾物重を測定した。

2. 根系形態の解析

それぞれの根系サンプルにおいて、側根の付いたままで主根を基部から10mm毎に切断した（主根断片）。得られたそれぞれの主根断片において、そこから発生した1次側根の長さとな数を測定し、さらにその1次側根から発生した2次側根の長さとな数についても調査した。3次側根まで分枝していたが、その発生は極めてわずかであったので、2次側根として取り扱った。

1次ならびに2次側根に関して得られたデータについて、主根軸に沿ったそれらの分布パターンに及ぼす菌根菌接種処理の影響を調べるために、次のような統計学的解析を行った。つまり、それぞれの根長とな数および平均根長の分散要因を接種処理と主根軸上の位置（主根断片）の二つの要因に分けた二元配置

分散分析を行った。ここで、二つの主効果の交互作用が有意ならば、ある特定の主根軸上での接種効果が認められたことになり、主根軸に沿った側根の長さや数の分布パターンは菌を接種した根系としない根系との間で有意に異なると結論される。また、交互作用は有意でないが、接種処理の効果が有意であれば、根軸に沿って等しく接種の効果が認められたことを意味する。この点に注目して根系形態を解析した。

結果

1. 地上部の生育と菌根菌の感染率

接種区ならびに非接種区ラッカセイの地上部の生育を第2-2表に示した。両処理区ラッカセイの草丈、葉面積、乾物重のいずれにおいても処理区間での有意な差異は認められなかった。

各根系構成根（主根、1次側根、2次側根）および全根系の総根長に占める菌根部位の長さの割合（感染率）を第2-3表に示した。接種ラッカセイの菌根感染率は、全根系で8.1%、1次側根で8.0%、2次側根で9.4%であった。また、主根における感染率は0.6%と小さかった。本研究では非滅菌土壌を用いたので、非接種ラッカセイにおいても若干の土着菌による感染が認められた。しかし、その程度はどの構成根および全根系においても、接種ラッカセイと比較して明らかに低かった。

2. 構成根の総根長および総根数

各構成根ならびに全根系での総根長（a）と総根数（b）を第2-9図に示した。主根および1次側根長の3個体の平均値は、接種と非接種ラッカセイではほとんど差がなかった。2次側根長では、接種ラッカセイが非接種ラッカセイよりやや小さい値を示した。結果として、全根系の総根長は接種ラッカセイの方が非接種ラッカセイよりもやや短かった。しかし、これらの差異は0.05水準では有意でなかった。

根長と同様な傾向が、根数においても認められた。つまり、1次側根における両処理ラッカセイはほとんど同じ数値を示し、2次側根の数では接種ラッカセイが非接種ラッカセイに比べて少なく、全根系での根数は接種ラッカセイで

やや低い値を示した。しかし、根長と同様にこれらの差異はいずれも0.05水準では有意でなかった。

3. 主根軸に沿った側根の発育

先に説明したとおり、1次および2次側根の主根軸に沿った長さや数の分布に及ぼす接種処理の影響を解析するために、両側根の根長、根数そして平均根長の分散要因を、接種処理、側根の主根軸上の位置に分けて分散分析を行った。その結果の要約を第2-4表に示した。菌根菌接種の主効果は両側根の根数と1次側根の平均根長に対して有意であった。もう一方の主効果である主根軸上の位置は、いずれのパラメータに対しても0.001水準で有意であった。このことは、主根軸に沿った側根の長さや数の分布は一定ではなく、主根軸上の位置によって異なることを示している。また、接種処理と主根軸上の位置との交互作用が、いずれの項目においても0.05水準では有意ではなかった。このことは、先に述べたように、菌根菌の接種によって側根の発育は影響を受けたが、その効果は主根軸上のそれぞれの発生位置で等しいとみなせることを意味している。そこで、以下の結果の記述においては、菌根菌接種の効果についてのみ取り上げることにする。

接種および非接種ラッカセイ根系における、1次側根の根長（a）および根数（b）の主根軸に沿った分布パターンを第2-10図に示した。非接種ラッカセイ根系では主根基部側から根端側に向かって、根長は比較的なめらかに減少した。一方、接種ラッカセイ根系においては根長は不規則な推移を示し、基部付近でピークを示した後減少し、主根軸140mmの近辺で再び増大しながらその後減少した。しかし、両根系間には根長の分布に有意な差異はなかった（第2-4表）。根数に関しては、とくに主根軸上の50mmから200mm部位の間で接種ラッカセイが非接種ラッカセイに比べて高く推移しており、結果的には接種による0.05水準の有意な効果が認められた（第2-4表）。

つづいて、両処理区のラッカセイ根系における2次側根の根長（a）および根数（b）の主根軸に沿った分布パターンを第2-11図に示した。非接種ラッカセイに比較して接種ラッカセイ根系における根長は低い値で推移する傾向を示し、とくに主根軸の50mm付近ではその傾向が顕著であった。しかし、全体と

しては0.10水準の影響は認められたものの、0.05水準では有意でなかった（第2-4表）。また根数については、非接種ラッカセイ根系では主根軸に沿って、向頂的になめらかに減少したのに対し、接種ラッカセイ根系では大きな変動を伴った分布パターンを示した。また、根長でみられた傾向と同様に、根数においても主根軸上30mmから80mm部位までの間では、接種ラッカセイ根系の根数は非接種のものよりも顕著に少なかった。この根数の分布においては、接種処理による効果を0.05水準で検出できた（第2-4表）。

ところで、第2-10 a 図および第2-11 a 図に示した1次、2次両側根の根長のデータは、主根軸の各10mm主根断片から発生していたそれぞれの側根の合計長で示されており、側根の長さとな数の二つの要因を含んだものであった。そこで、この二つの要因から長さの要因だけを取り出して、個々の側根の長さの分布を調べるために、それぞれの主根断片の根長を根数で除して平均根長を求め、その主根軸に沿った分布パターンを第2-12図に示した。1次側根の平均根長では、主根軸の100mm部位を除いた50mmから120mm部位の間において、接種ラッカセイが非接種ラッカセイよりも短いことが明らかであり（第2-12 a 図）、両処理区間の差異は0.01水準で有意であった（第2-4表）。また2次側根の平均根長では、主根軸100mm部位までは接種ラッカセイの方が短い傾向にあったが、それより根端側では長くなる傾向が認められた（第2-12 b 図）。しかし、2次側根の平均長では両処理ラッカセイの差異は有意ではなかった（第2-4表）。

考察

一般的に、植物の根系形態は土壤中の非生物的要因（物理的、化学的）だけでなく、生物的要因によっても変化する（Peterson, 1992）。これに関連して菌根形成に起因する根系形態の変化については、いくつかのメカニズムが想定されている。リンをはじめとした無機養分吸収の促進による根内の無機養分濃度・組成の変化、植物ホルモンレベルの変化（Allen et al., 1980; Allen et al., 1982; Dannenberg et al., 1992）、根端生長点における分裂活性の低下（Berta et al., 1990）等がその例である。

本節での結果では、*Gigaspora margarita*の接種による1次側根の根数と平均根長の変化が有意な水準で認められた（第2-4表）。つまり、菌根形成によっ

て根数は増加し（第2-10 b 図），平均根長は減少した（第2-12 a 図）．一方，1 次側根の総根長はほとんど変化しなかった（第2-9 a 図，第2-10 a 図）．総根長は，根数と平均根長の積である．したがって本研究の結果は，様々な根を合計して得られる根長という量的なパラメータが同じであっても，そこに内包されている根数と個々の根の長さの間の質的な変換が存在したことを意味する．この変化は，植物にとってもまた菌にとっても重要である．一般的に，同じ総根長の根系を想定した場合，より分枝した根系を持つ植物は，養水分吸収能がより優れる（Berta et al., 1993; Gliński & Lipiec, 1990）．また，菌根菌にとっては，分枝の促進は，菌を誘引する浸出物質を分泌する根端（Amijee et al., 1993; Bécard & Piché, 1989）の増大を意味すると同時に，菌が定着しうる若い皮層組織の拡大に結びつく可能性がある（Berta et al., 1993）．

根系を構成する各構成根間の菌根形成に対する反応の差異について，十分に注意を払う必要があることを緒言で述べた．本節では，1 次側根と2 次側根の菌根菌接種に対する反応が，それらの側根の伸長性や発生において明確に異なっていた．例えば，根数の反応は二つの側根間で対照的であった．つまり，菌根菌の接種は1 次側根に対しては促進的に作用したのに対して（第2-10 b 図），2 次側根には抑制的に作用した（第2-11 b 図）．

さらに，主根軸の基部から50mmまでの間において，接種ラッカセイ根系の2 次側根の長さや数は非接種に比較して明らかに劣っていたのに対し（第2-11 図），1 次側根ではそのような抑制的な傾向は明らかでなかった（第2-10 図）．この結果は，前節の結果とあわせて考察すると次のように解釈しうる．つまり，前節で明らかにしたように，この接種ラッカセイの根系において主根基部から50mm部位までの間に発生した1 次側根において最も菌根形成が盛んであった．菌根が形成された部位では，菌と植物の双方の細胞において代謝活動が活発になることがよく知られており，かなりの量の光合成産物がこの共生体で消費されたと考えられる．したがって，1 次側根に分配された光合成産物の多くは，そこで形成された大きなシンク能を有する菌根部位によって消費されてしまったために，2 次側根の発達が抑制された．

とくに土壌中の可給態リン含有量の高い条件において，菌根形成が幼植物の生育を一時的に抑制する場合は観察されている（Bethlenfalvay et al., 1982;

Buwalda & Goh, 1982) . 本研究では、菌根菌接種の地上部の生育に対する影響は認められなかった（第2-2表）のに対して、とくに主根軸に沿った側根の分布からみた根系構造は明らかに変化した。このことは、菌根形成に対する植物側の反応がまず最初に起こるのは、地上部ではなく根系であることを強く示唆している。

摘要

根系形態に及ぼす菌根菌 (*Gigaspora margarita* Becker & Hall) 接種の影響を、自然光型グロースチャンバー内に設置した根箱で16日間生育させたラッカセイ (*Arachis hypogaea* L.) を用いて調べた。菌根菌を根箱土壌に均一に接種したものを処理区とし、接種しないものを対照区とした。主根軸に沿った側根の発育を解析するために、それぞれの根系サンプルの主根を側根が着いたままで基部から根端に向けて10 mm毎に切断し、各主根断片毎に1次と2次側根の数、長さを調べた。地上部の生育および根系全体の総根長と総根数では、処理区と対照区間に有意な差異は認められなかった。しかし、主根軸上の発生位置を考慮して側根の発育を解析した結果、主根軸に沿った1次および2次側根の発育には、接種による有意な影響が検出された。その接種効果は、根数に対しては1次側根で促進的に、2次側根では抑制的であった。一方、根長に対しては、1次側根で抑制的であったが、2次側根では一定の傾向が認められなかった。これらのことから、菌根菌の接種は、主根軸に沿った1次と2次側根の発育に影響を及ぼし、根系形態を変化させることが明らかとなった。

第2-2表 菌根菌接種ラッカセイと非接種ラッカセイの地上部の生育.

	草丈 (cm)	葉面積 (cm ² 個体 ⁻¹)	乾物重 (mg 個体 ⁻¹)
接種	20.7±0.5	115.4±15.8	829.6± 17.6
非接種	21.6±0.3	106.9± 7.2	938.5±121.5

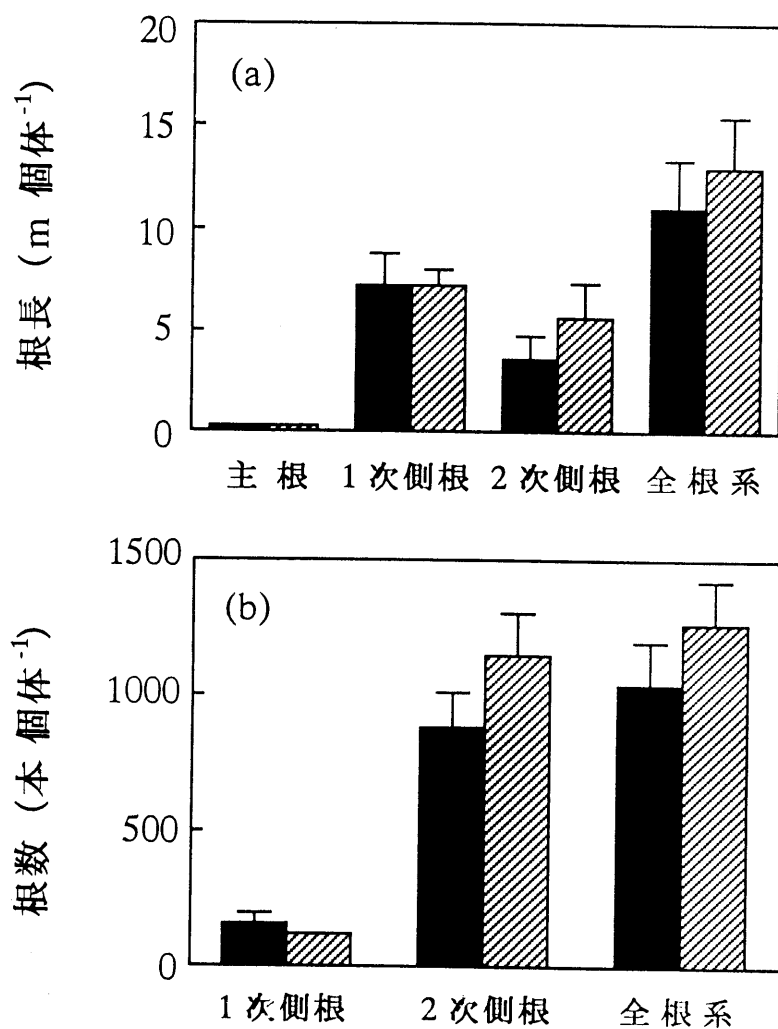
各値は3個体の平均値±標準誤差を示す.

第2-3表 菌根菌接種ラッカセイと非接種ラッカセイ根系の感染率.

	主根 (%)	1次側根 (%)	2次側根 (%)	全根系 (%)
接種	0.6±0.6	8.0±3.1	9.4±4.5	8.1±3.2
非接種	0.0±0.0	0.7±0.2	2.3±0.7	1.2±0.3

各値は3個体の平均値±標準誤差を示す.

$$\text{感染率} = \frac{\text{菌根形成部位の長さ}}{\text{総根長}} \times 100$$



第2-9図 菌根菌接種 (■) および非接種 (▨) の16日齢ラッカセイ根系における主根, 1次側根, 2次側根および全根系の根長 (a) と根数 (b). 各値は3個体の平均値±標準誤差を示す.

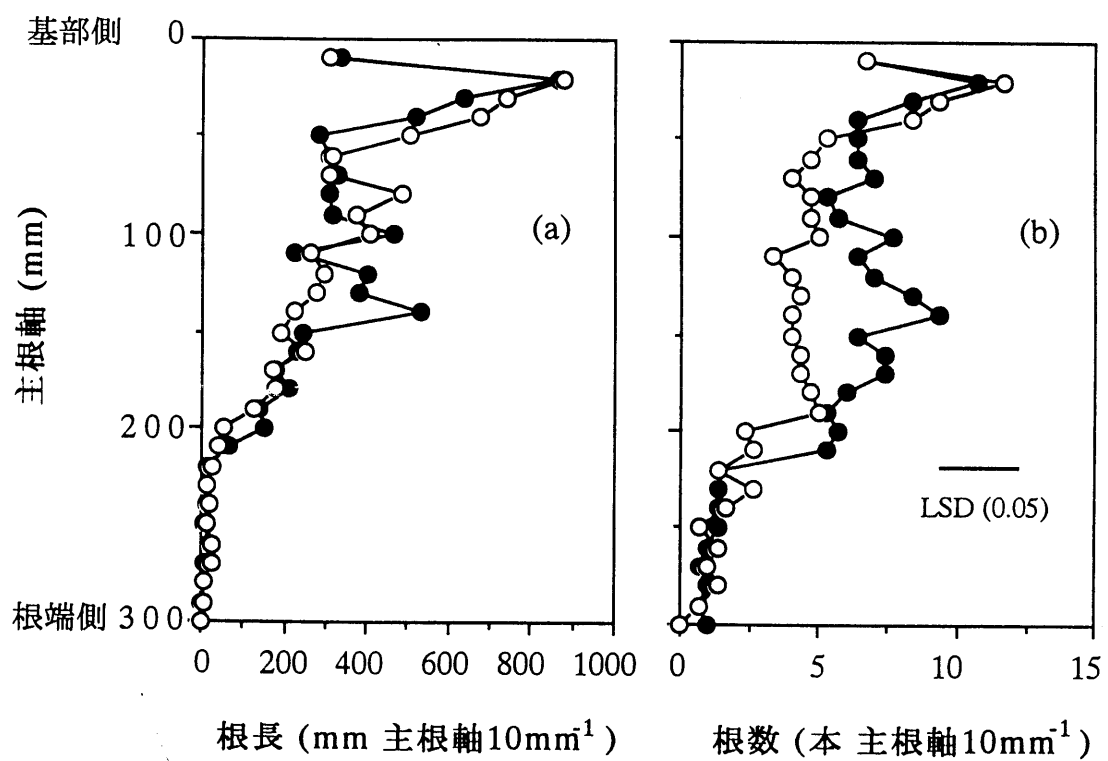
第2-4表 1次および2次側根の長さ，根数ならびに平均長に対する菌根菌の接種と主根軸上の発生位置の効果の有意性.

要因	1次側根			2次側根		
	根長	根数	平均根長	根長	根数	平均根長
接種 (I) [#]	NS	*	**	NS	*	NS
主根軸 (S) [‡]	***	***	***	***	***	***
I × S	NS	NS	NS	NS	NS	NS

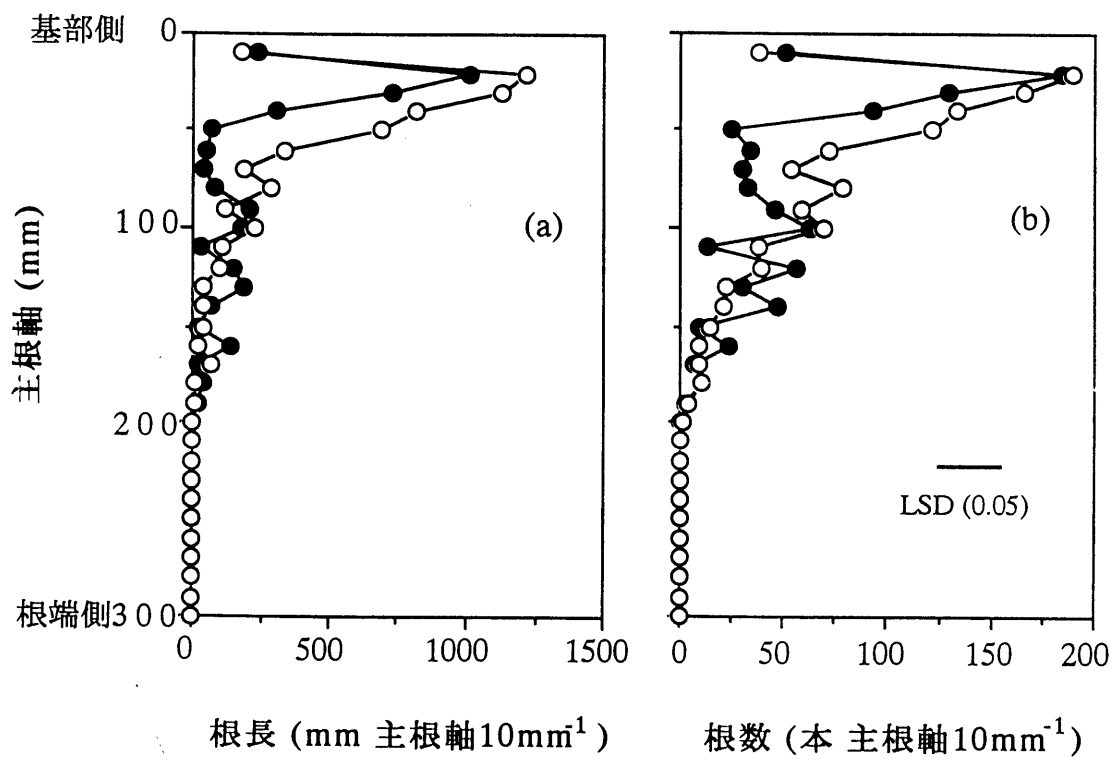
*, **, *** はそれぞれ0.05, 0.01 と 0.001 レベルの有意性を示す.

[#]菌根菌接種処理

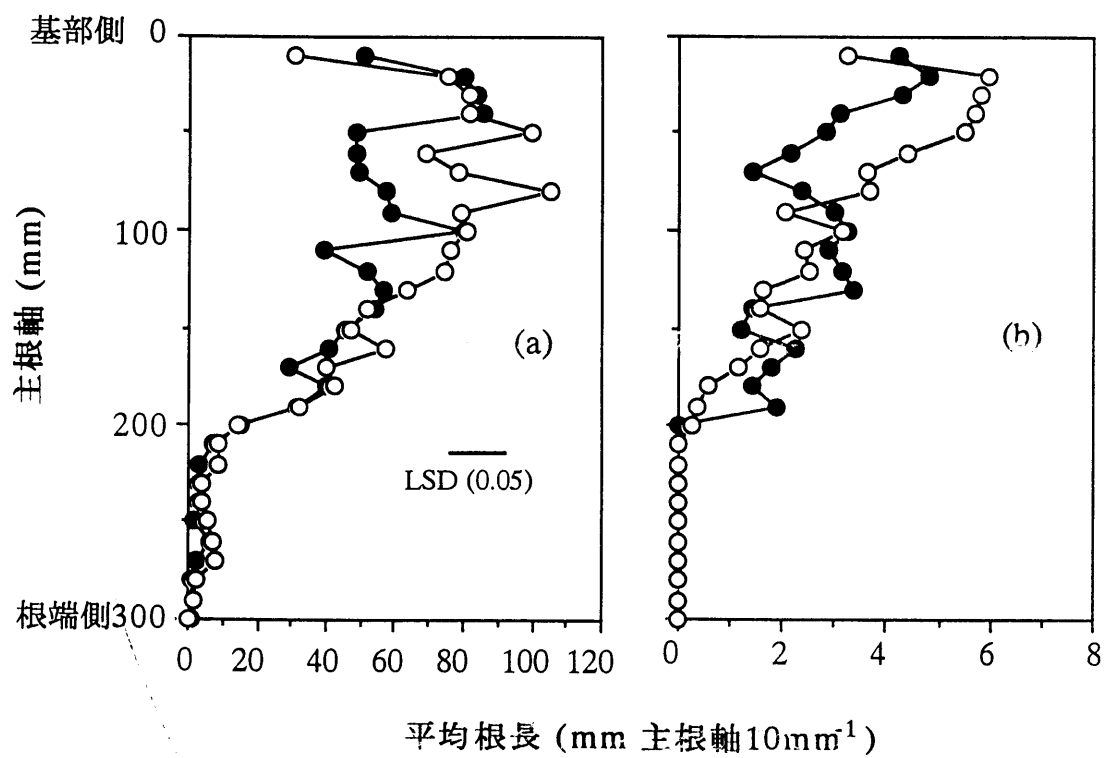
[‡]主根軸上の位置



第2-10図 菌根菌接種（●）および非接種（○）の16日齢ラッカセイ根系における主根軸に沿った1次側根の長さ（a）と数（b）の分布パターン。



第2-11図 菌根菌接種（●）および非接種（○）の16日齢ラッカセイ根系における主根軸に沿った2次側根の長さ（a）と数（b）の分布パターン。



第2-12図 菌根菌接種（●）および非接種（○）の16日齢ラッカセイ根系における主根軸に沿った1次側根（a），2次側根（b）の平均長の分布パターン。

第3章 菌根菌の局所接種に対するラッカセイおよび キマメ根系の形態的反応

緒言

前章の第2節では、菌根形成による根系形態の変化について調査した。その結果、16日齢の比較的若いラッカセイ根系において、根系の構造的な変化が認められた。それも含めてこれまでの研究では、菌根菌を接種した個体と接種しない個体との間で根系形態を比較している (Berta et al., 1990; Hooker et al., 1992; Price et al., 1989; Schellenbaum et al., 1991)。しかし、菌根形成がもたらす宿主植物の生理的・形態的な変化 (例えば光合成速度やホルモンレベル、葉面積等) は、異なる個体間の比較で得られた結果の解釈を困難にする場合がある。

そこで、菌根形成に伴う地上部の変化が根系形態に及ぼす影響を消去するために、本章では菌根菌を局所的に接種した一個体の根系内において、接種した側根と接種しなかった側根の間で形態的反応を比較した。したがって、それらの側根間で形態的な差異が認められれば、その差異は地上部の変化に依存しない、菌根形成の直接的な影響によると考えることができる。

本章での目的は、地上部の影響を消去した条件下、つまり一個体の根系の中で菌根菌を接種したラッカセイおよびキマメの根系形態に及ぼす影響を明らかにし、さらにラッカセイとキマメ根系間の形態的反応の差異について比較することである。

材料と方法

供試土壌は養分含有量の極めて少ない赤玉土 (トルオーグリーンで痕跡程度) を無施肥・無殺菌で用いた。はじめに、根箱 (幅20cm, 高さ25cm, 厚さ2cm) をプレートで垂直方向に2つに仕切り、仕切られた2つの分画 (それぞれの幅が10cm) に土壌を充填した。その際、一方の分画土壌 (接種土壌) には約1000個の *Gigaspora margarita* Becker & Hall 胞子を含んだ10gの菌根菌接種源 (セラキンコン, セントラル硝子社製) を、もう一方 (非接種土壌) には蒸気殺菌した同量の接種源をあらかじめ均一に混合してそれぞれ充填した。その

後、仕切りのプレートを静かに取り除いた。以上の手順によって、根箱内で発育する根系を二つの異なる分画土壌で生育させた。なお、接種源の蒸気殺菌に伴う有害物質の溶出が根系形態に影響を及ぼす可能性があるため、予備試験で一方の分画土壌として非接種土壌、他方を何も加えない土壌を充填した根箱で生育させた根系形態を調べたところ、非接種土壌は根系形態に影響を及ぼさないことを確認した。

ラッカセイ (*Arachis hypogaea* L. 品種：千葉半立) およびキマメ (*Cajanus cajan* (L.) Millsp., 雪印種苗社製) の催芽種子を、それぞれの根箱の二つの分画土壌が接する境界面上に播種した (1994年10月7日)。10日に一度の割合で根箱全体をそのまま水槽に30分間浸漬することによって灌水し、ガラス室内で植物体を生育させた。根系は、Kono et al. (1987b) が提案したピンポード法によって根系構造を保った状態で、播種後20日目と30日目に採取した。採取した根系は、速やかにFAA (容量比でホルマリン1：酢酸1：70%エタノール18) に浸漬して保存し、それぞれの作物種・採取時期毎に4個体の根系を以下の解析に供試した。

それぞれの根系サンプルにおいて、主根はほぼ2つの処理土壌の境界面に沿って伸長していた (第3・1図参照)。その主根軸を中心にして接種土壌と非接種土壌内を伸長した1次側根を、高次側根を付けたままで別々に主根から切り離した。そして、それらの1次側根を主根軸上の発生位置に基づいて、主根基部～5cmまでの主根軸から発生した側根を一つの群として、同様に5～10cm, 10～15cm, 15～20cmの4群に分けた。この結果、一根系の側根を8群に分けた。それぞれの側根群毎に、側根数を各分枝次元毎に数えた。そして、1次側根の長さは物差しで直接測定し、それから全ての側根をまとめた総根長をTanaka et al. (1995) の画像解析法にしたがって測定した。

続いて、第2章で述べた方法と同様に、それぞれの側根群毎に根系サンプルを透明化し、0.05%トリパンブルー・ラクトグリセロール溶液で染色した。余分な染色液は、ラクトグリセロール溶液で十分に除去した。染色した側根サンプルは、切断せずに無作為に選んでシャーレに取り、ライン交差法によって感染率を求めた (Giovannetti & Mosse, 1980)。なお、その際に1次、と2次以上の高次側根とを区別して、それぞれ約100点からの交差点から感染率を推定

した。

以上のようにして得たデータを、接種土壌側と非接種土壌側との間における側根の発達の差異について t 検定で統計解析した。

結果

垂直方向に二分した左側半分は滅菌しない菌根菌接種源を与え（接種土壌）、右側半分には滅菌した感染源を与えた（非接種土壌）根箱土壌で生育させたラッカセイとキマメの根系像を第3-1図に示した。両作物の20日齢（第3-1 a, 3-1 b 図）の根系において、接種土壌側と非接種土壌側間では側根発達には明らかな差異が認められなかった。しかし、両作物の30日齢根系では、両処理土壌間での側根発達に顕著な差異が認められた（第3-1 c, 3-1 d 図）。また、その差異はキマメよりもラッカセイ根系でより強く現れた。

両作物の20日齢ならびに30日齢の根系における側根数、側根長および感染率を各分枝次元別に第3-1表に示した。20日齢の根系では、両作物の接種土壌側と非接種土壌側との間での側根数や側根長の差異は、いずれも0.05水準では有意でなかった。ラッカセイ根系において、1次、2次およびこれらをあわせた全側根での感染率は非接種土壌側よりも接種土壌側で有意に高かった。他方キマメ根系では、ラッカセイと同様に非接種土壌側よりも接種土壌側で感染率が高くなる傾向を示したが、その差異は0.05水準では有意でなかった。

30日齢の根系では、接種土壌側と非接種土壌側との間での側根発達に関する有意な差異が、両作物ともにいくつかのパラメータで認められた。ラッカセイの根数では、2次側根においてのみ有意な差異が認められ、接種土壌側では非接種土壌側に比較して39%高い値を示した。また、1次側根ではほとんど等しく、3次側根では接種土壌側が非接種土壌側よりもやや多かった。結果的に、側根の総数は非接種土壌側よりも接種土壌側で多い傾向を示した。さらに根長に関しては、1次および2次+3次の合計値、そして全側根において、いずれも非接種土壌側よりも接種土壌側が有意に大きく、両処理間での差異は2次+3次側根で最も大きかった。すなわち、接種土壌側の根長は非接種土壌側に対して、1次側根では19%、2次+3次側根では83%、全側根では56%大きかった。

30日齢のキマメ根系においては、2次および3次側根の数は非接種土壌側よりも接種土壌側で有意に多かった。しかし、ラッカセイと同様に1次側根数における両処理間での差異はほとんどなかった。そして、側根の総数では接種土壌側が非接種土壌側と比較して29%多かったが、その差異は0.05水準では有意でなかった。根長に関するいずれのパラメータも、接種土壌側が非接種土壌側に比較して高い値を示したが（1次で12%、2次+3次で72%、全側根で37%）、これらも0.05水準での有意な差異ではなかった。

さらに、30日齢の根系における感染率は、両作物ともに非接種土壌側（10%以下）に比較して接種土壌側で（約20～30%）高い値を示した。両処理間での感染率の差異は、いずれの分枝次元の側根においても0.05あるいは0.01水準で有意であった。以上のように、接種土壌と非接種土壌との間での側根発達の差異は、両作物ともに30日齢根系において顕著であったので、以下、30日齢根系に関してさらに検討を加えた。

ラッカセイおよびキマメの30日齢根系における、主根軸に沿った側根数の推移を第3-2図に示した。ラッカセイ根系では、主根軸の基部側ほど側根の発生数が多く、根端側は少なかった。両処理土壌間での有意な差異は、最も基部側（主根軸0～5cm）から発生した側根群での2次側根において認められた。一方キマメ根系では、ラッカセイとは逆に主根軸の根端側から多くの側根を発生する傾向を示し、最も根端側（主根軸15～20cm）での側根群において、両処理土壌間での有意な差異が全側根数で認められた。

さらに、両作物の30日齢根系における主根軸に沿った側根長の推移を第3-3図に示した。側根長の分布パターンは、両作物とも側根数のそれと同様な推移を示した。ラッカセイでは、主根軸0～5cmと5～10cm部位での2次+3次側根において接種土壌側が非接種土壌側よりもそれぞれ0.05水準で有意に大きく、また全側根においても同様にそれぞれ0.05と0.01水準で接種土壌側が有意に大きかった。一方キマメでは、主根軸15～20cm部位においてのみ2次+3次側根と全側根の根長が、非接種土壌側に比較して接種土壌側でそれぞれ0.01と0.05水準で有意に大きかった。

次に、主根軸に沿った両作物の感染率の推移を第3-4図に示した。いずれの作物においても、感染率は常に非接種土壌側よりも接種土壌側で高く、さらに

2次+3次側根と比較して1次側根の感染率の方が高く推移した。ラッカセイ根系では、主根軸10~15cm部位で1次側根の感染率が最も高かったが、2次+3次側根の感染率は明確なピークを示さなかった。キマメ根系では、1次側根の感染率には明確なピークが見られず、2次+3次側根の感染率は主根軸5~10cmで最も高い値を示した。

考察

これまでのいくつかの研究は、とくにリンが制限された条件において、菌根形成が宿主植物根の形態に影響を及ぼしたことを報告している (Berta et al., 1990; Hooker et al., 1992; Price et al., 1989; Schellenbaum et al., 1991)。これらの研究はすべて菌根菌接種と非接種との異なる植物個体間で比較したものである。これに対して本章では、同一植物体の根系に局所的に菌根菌を接種することによって、接種土壌側と非接種土壌側の側根発達を同一根系内で比較した。

ところで、Robinson (1994) が概説したように、欠乏したある養分を根系に局所的に施用した場合に、施用された部位において根の発達が特異的に促進されることはよく知られた現象である。彼の分類に従えば、本研究で採用したのはbarrier-free-roots法である。したがって、接種土壌側にあった菌根菌の菌糸が、境界面を越えて非接種土壌側の土壌に侵入することは原理的に可能であった。しかし、実際には接種土壌側と非接種土壌側との間では明らかに感染率が異なっていた。さらに、この両土壌での感染率の差異は、それぞれで発達した側根の形態に明らかな差異をもたらしていたので、ここで用いた手法によって、本研究の目的を満足するのに十分な感染源密度のコントラストが得られていたと考えられる。

根系形態の反応は、両種ともとくに30日齢の根系で明瞭に認められた (第3-1 c, 3-1 d 図)。しかし、20日齢の根系においては明確でなく (第3-1 a, 3-1 b 図)、その反応が根系形態の外観上で明瞭に認められるまでには一定程度以上の接種源との接触期間が必要であることがわかった。実際に、両作物の根数や根長に関して、30日齢の根系では接種土壌側と非接種土壌側との間の有意差が、とくに2次や3次の高次側根において認められた (第3-1表)。しかし、二つの処理土壌間で感染率に差異が生じ始めていた20日齢の根系では、側根発

達には有意な差異は認められなかった（第3-1表）。

さらに、側根の反応はその分枝次元によっても異なり、1次側根よりも2次や3次側根の方が、菌根形成に対して大きく反応することが明らかとなった。一方、30日齢の根系における感染率は、2次や3次の高次側根よりもむしろ1次側根で高かった（第3-1表、第3-4図）。このことは、菌根菌の接種に対する根の反応は、とくにその発生に関しては、母根を通じて行われていることを示唆している。つまり、側根は母根の内鞘を起源としているので（Esa u, 1977）、1次側根上の菌根形成程度がそこから発生するさらに高次の側根の発生を規定する可能性がある。もしそうであるならば、両作物ともに1次側根の反応が、全く認められなかったことをうまく説明できる。つまり、本研究においては、1次側根の母根である主根はほとんど接種および非接種の両処理土壌の境界面を伸長しており、したがって主根は基本的に接種土壌を経験していると思われるからである。

菌根形成の初期段階において、菌根菌の定着に宿主根の齢が大きく関与する。例えば、Hepper（1985）やAmijee et al.（1993）は、ある根軸上では根端側より菌根菌が感染しやすく基部側になるほど感受性は低いことを報告した。さらに、そのような根軸に沿った菌根形成のパターンは、個々の根がその発生から経てきた固有の時間によっても影響されることを第2章の第1節で明らかにした。そこで本研究では、側根間の齢の差異による影響をできるだけ小さくするために、主根軸に沿った側根の分布を4つの側根群に分けて解析した。この手順によって、以下に述べるようにラッカセイとキマメの反応の違いを明確に認めることができた。

主根軸に沿った側根の数や長さの分布において、ラッカセイとキマメでは接種土壌に対して異なる反応を示した（第3-2、3-3図）。ラッカセイでは主根軸の基部側から発生した相対的に齢の進んだ側根でその反応が顕著であったのに対して、キマメでは主根軸根端側から発生した比較的新しい側根で反応が顕著であった。このことは、菌根形成に対する側根の形態的反応に関して、種間差が存在することを示唆している。しかし、根数（第3-2図）や根長（第3-3図）の反応と感染率（第3-4図）との対応関係に一定の傾向を読みとることは困難であった。

Baylis (1975) は、根毛が長く根径の細い根系を有する植物種は、根毛がより短く根径の太い根から構成された根系を有する種と比較して、菌根に対する依存度が低いという仮説を提唱した。この仮説に関する実験的証拠はないが、いくつかの報告は根毛の発生量と菌根依存度に負の相関を認めている (Manjunath & Habte, 1990; Schweiger et al., 1995; St. John, 1980)。本研究で用いたラッカセイは、キマメと比較して太い根を形成し (第3-1図)、根毛の発生に特徴がある。すなわち、ラッカセイの根毛には、(i) 根端からやや基部寄りの根軸上で発生する根毛、(ii) 側根基部にロゼット状に発生する根毛、の2種類が知られている (Meisner & Karnok., 1991)。本研究では、ラッカセイ根系における根毛のほとんどは (ii) の形態のものであった。(ii) の根毛は比較的長い根毛であるが、その発生位置が側根基部に限定されていた。このように根毛の発生部位が限られたラッカセイは、比較的根軸全体に根毛の発達が優れたキマメよりも菌根依存度が高い可能性がある。菌根形成による乾物重の増加割合として一般的に定義されている菌根依存度について、本研究で得られた結果では直接言及することはできない。しかし、根系の形態的な反応としてはキマメと比較してラッカセイの方が大きかった (第3-1 c 対3-1 d 図) ことから考えて、この両種間に菌根依存度に差異が存在する可能性がある。

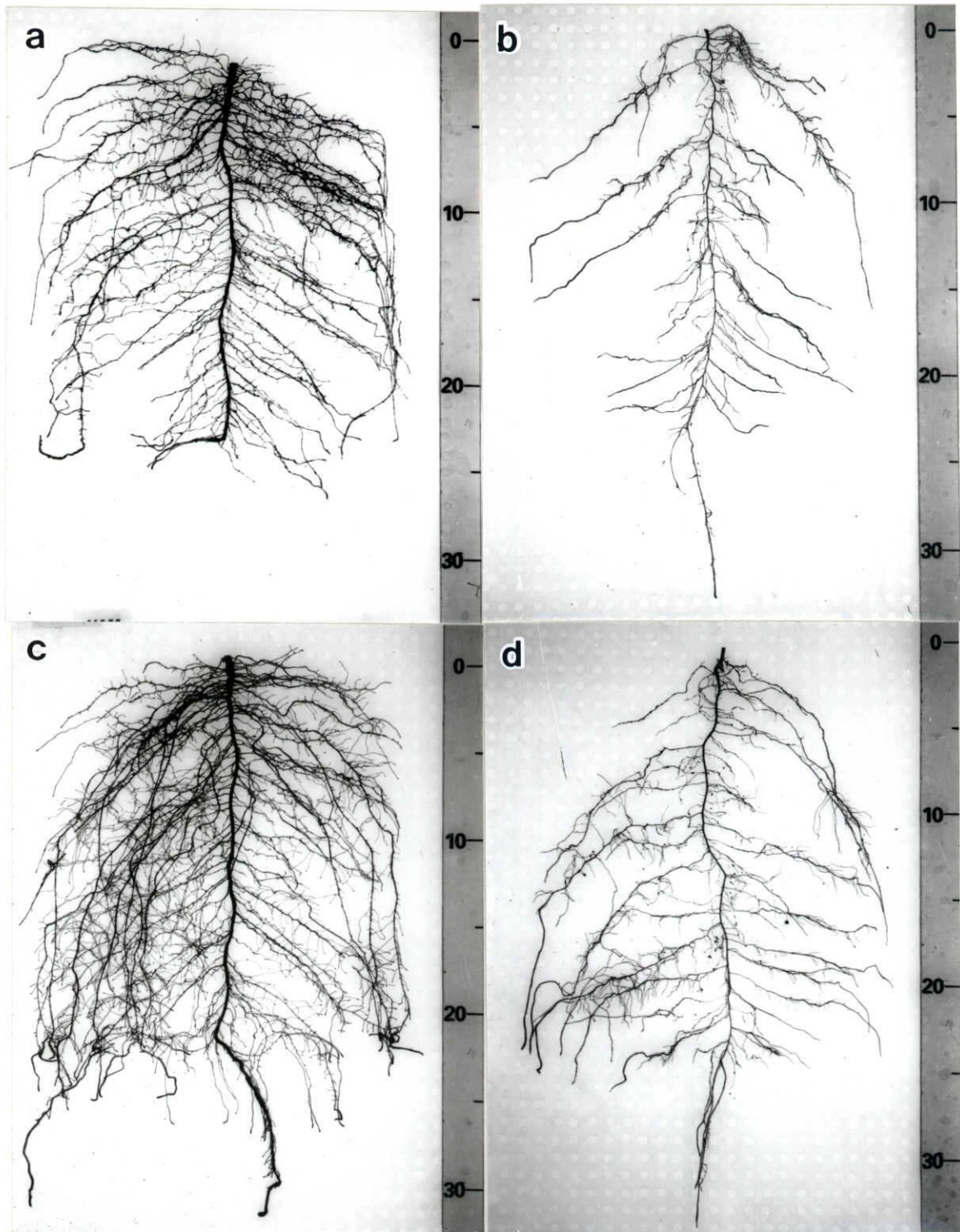
本研究で認められた根系の形態的反応は、接種土壌側と非接種土壌側の側根間で光合成産物やそれに由来した同化産物の分配が異なったことに起因したのは疑いがない。そのように異なる分配をもたらす生理的な原因については、根内部でのリン濃度の増加とホルモンレベルの変化 (Atkinson et al., 1994) が考えられうる。いずれにしても本研究で用いた実験系は、形態的反応の生理的な背景を解析する上で有効と考えられる。

菌根形成による養水分吸収の促進は、根の表面から土壌中に伸長した菌根菌の外部菌糸が土壌との接触面積を増大させることによる、と一般的には解釈されている。しかし、本研究の結果では、菌根形成によって側根の数や長さが大きく促進されており、この解釈に対して再検討を加える必要がある。この根の量的な増加は、土壌との接触面積の増加という意味に留まらず、絶対共生菌としての菌根菌にとっても重要である。というのは、新たな根の発生や伸長は菌の定着場所を拡大することにも貢献するからである。したがって、養水分吸収

機能を担うだけでなく、根圏微生物の定着場所を提供する根系の発達は、菌根機能を大きく規定する要因である。Kothari et al. (1990a, 1990b) が強調しているように、菌根共生がもたらす養水分吸収の変化のメカニズムを十分に理解するためには、菌根形成に伴う根系形態の変化についてさらに注意を払う必要がある。本章で得られた結果も、菌根機能を解明する上で、単に菌根菌の菌糸のみに留まらず、菌根を形成した根系（菌根系）の量的、構造的そして機能的側面から再評価する必要性を示している。

摘要

菌根菌の植物根系内での局在的な感染が、その根系の形態や機能に及ぼす影響は明らかではない。本章では、その点を明らかにする端緒として、ラッカセイおよびキマメ根系内に局所的に菌根菌を接種し、同一根系内における接種側と非接種側での側根間で形態的な反応の差異を調査した。根箱に養分含有量が極めて少ない土壌（赤玉土）を充填した。その際に、垂直方向の片側半分の土壌には菌根菌をあらかじめ均一に混合し、もう一方には滅菌した接種源を混合しておいた。催芽種子を各根箱の2つの処理土壌が接した境界面上に播種し、ガラス室内で生育させた。根系採取は根系構造を乱さないように行った。菌根菌の接種に対する形態的な反応は、20日齢の根系においては明確ではなかった。しかし、30日齢の根系においては両作物ともに明らかな反応が認められ、非接種土壌側よりも接種土壌側での側根発達が優れた。その反応は、2次、3次側根で顕著であり、1次側根の反応程度は小さかった。しかし、菌根菌の感染率では1次側根が2次や3次側根を上回った。さらに、この反応には作物の種間差が認められた。つまり、ラッカセイでは主根軸の基部側から発生した相対的に齢の進んだ側根において反応が顕著であり、キマメでは根端側から発生した起源の新しい側根で明確であった。以上の結果から、これらの作物がその根系内において菌根を形成した側根に対して、優先的に同化産物を分配することが示唆された。そしてこのことが、局所的な菌根形成による根系形態を変化させた原因と考えた。



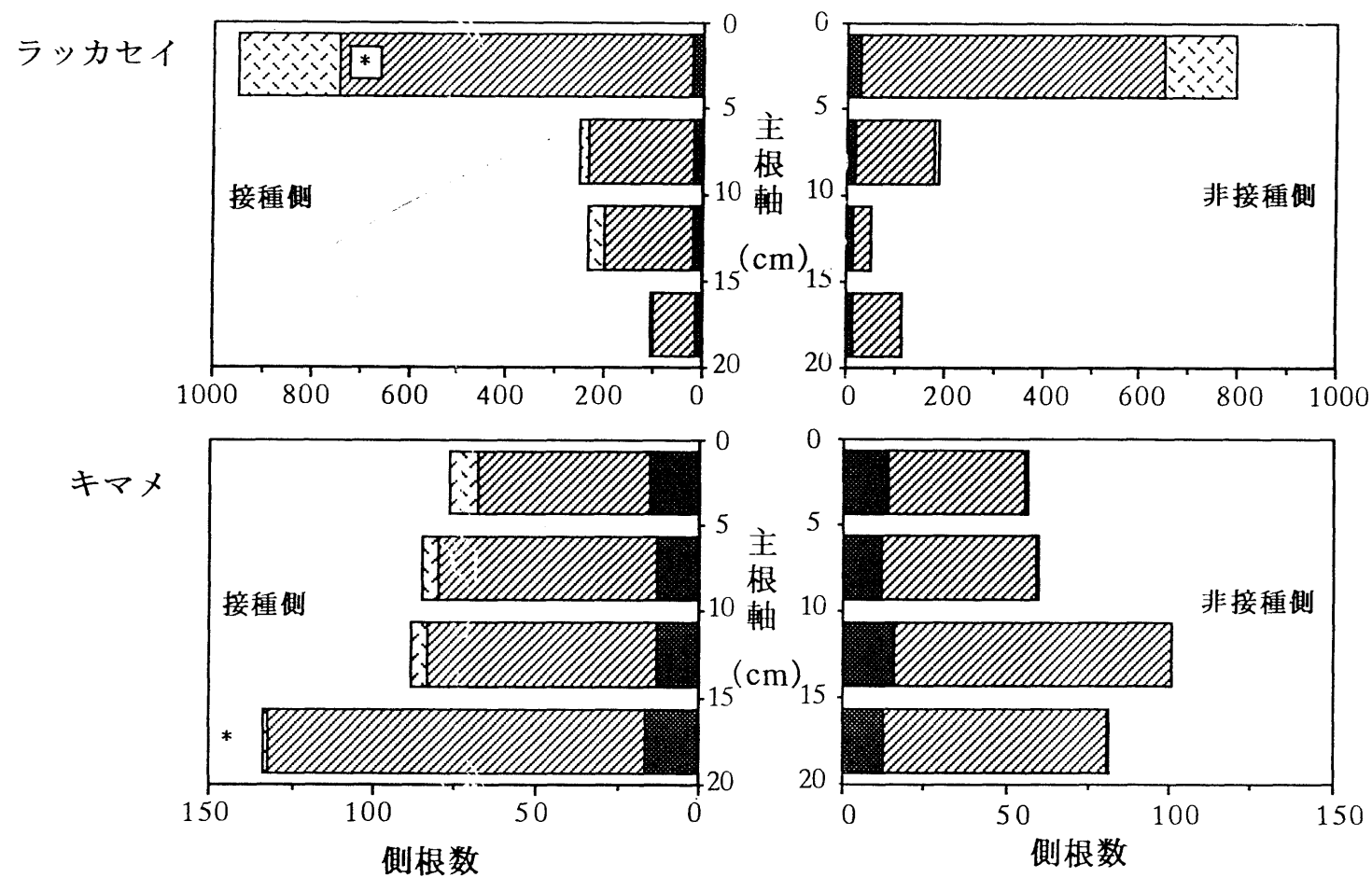
第3-1図 根箱土壌の片側半分に菌根菌を接種して生育させたラッカセイおよびキマメの根系像。それぞれの根系で主根軸を中心に左側半分の側根は菌根菌接種土壌で生育し、右側半分は非接種土壌で生育した。

- (a), 20日齢のラッカセイ； (b), 20日齢のキマメ；
 (c), 30日齢のラッカセイ； (d), 30日齢のキマメ

第3-1表 根箱土壌の片側半分に菌根菌を接種して生育させた20日齢および30日齢のラッカセイとキマメ根系における側根発達と感染率.

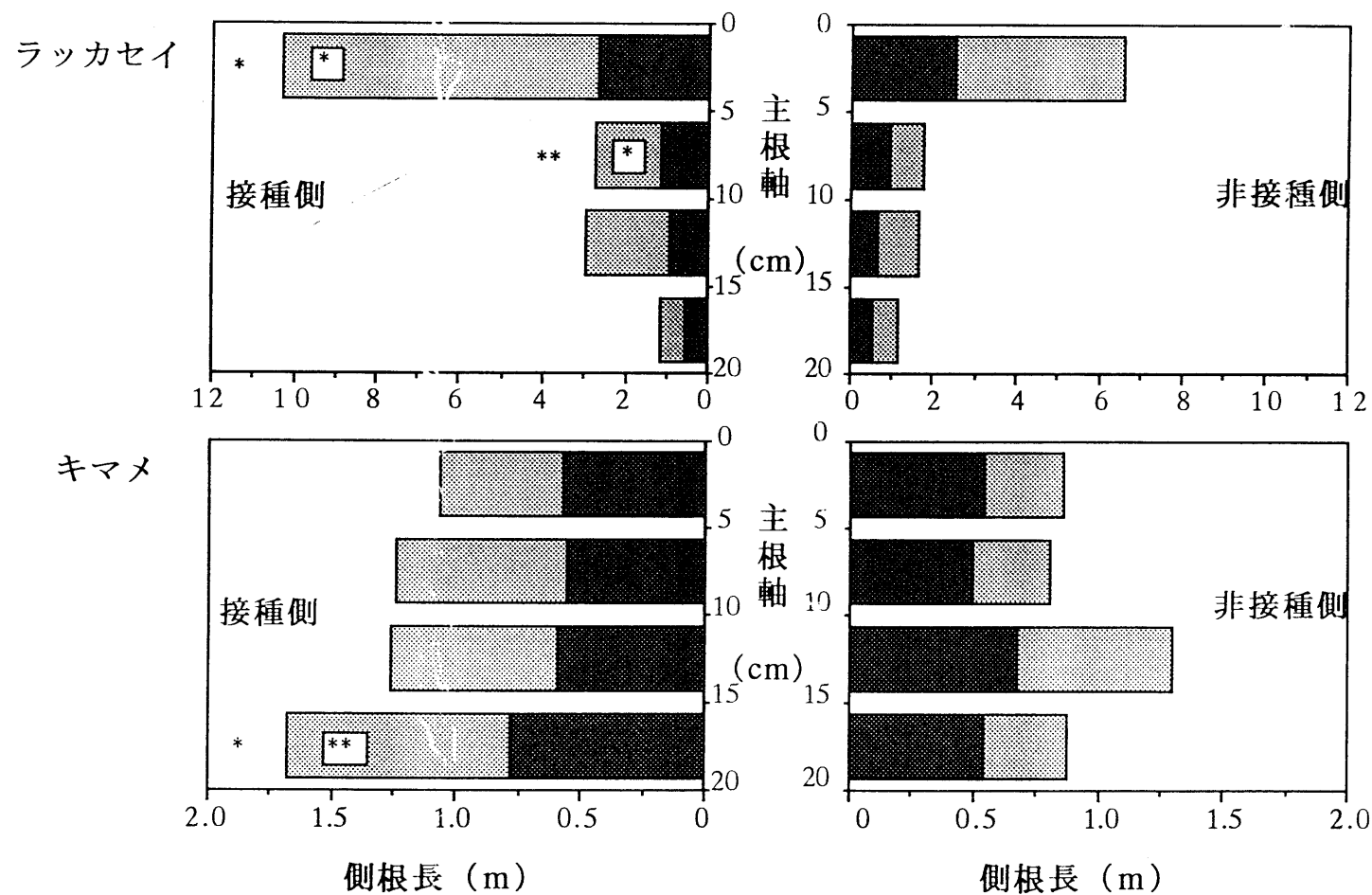
作物	処理土壌	根数				根長 (m)			感染率 (%)		
		1次側根	2次側根	3次側根	全側根	1次側根	2次+3次側根	全側根	1次側根	2次+3次側根	全側根
20日齢											
ラッカセイ	接種側	68	408	0	477	3.93	2.21	6.14	28.0	21.3	26.0
	非接種側	64	362	0	426	3.74	1.62	5.36	7.0	8.3	7.5
	有意水準	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	*	*
キマメ	接種側	52	127	0	179	1.81	0.53	2.34	11.2	3.2	9.5
	非接種側	52	132	0	184	1.91	0.56	2.48	1.0	0.4	0.9
	有意水準	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
30日齢											
ラッカセイ	接種側	74	1285	262	1621	5.86	11.86	17.72	26.3	19.2	21.5
	非接種側	72	923	91	1085	4.92	6.46	11.38	7.1	3.7	5.3
	有意水準	NS	*	NS	NS	*	*	*	*	*	*
キマメ	接種側	57	307	20	384	2.51	2.73	5.25	27.5	21.5	25.2
	非接種側	53	244	2	298	2.25	1.59	3.84	2.0	1.2	1.6
	有意水準	NS	*	*	NS	NS	NS	NS	**	*	**

*, ** はt検定による0.05水準, 0.01水準での有意差をそれぞれ示す.

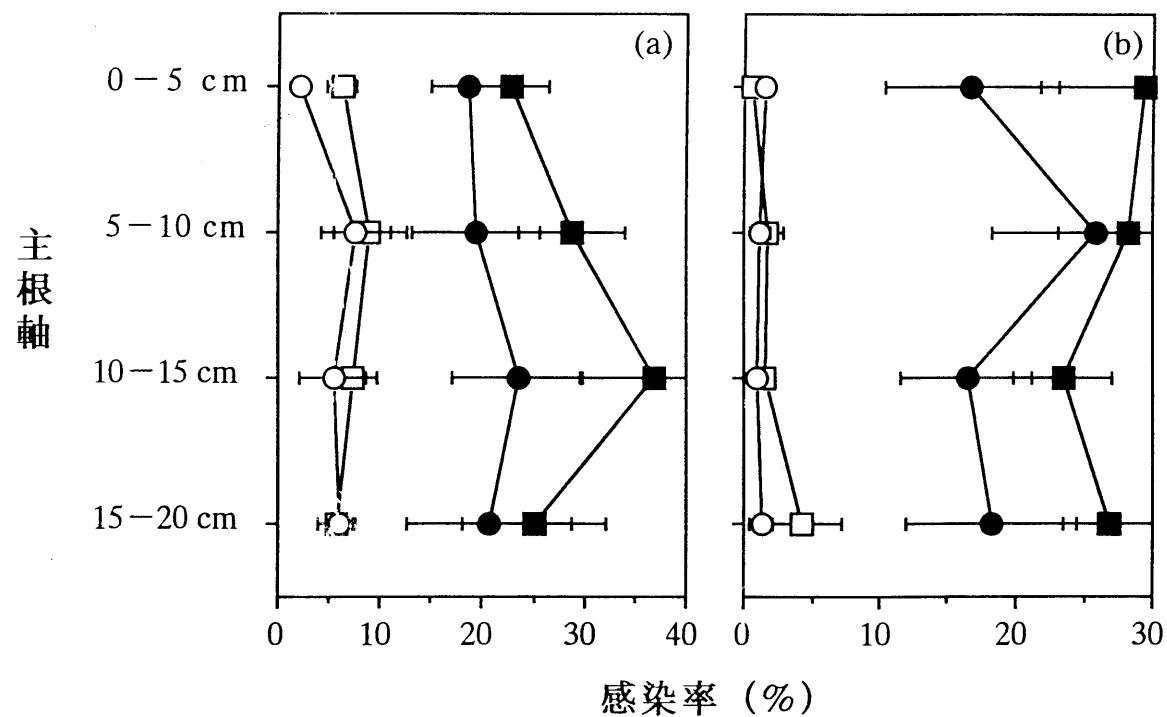


第3-2図 根箱土壌の片側半分に菌根菌を接種して生育させた30日齢のラッカセイおよびキマメ根系における主根軸に沿った側根発生数の推移. *は0.05水準における接種側と非接種側との間の有意差を示す.

■ , 1次側根; ▨ , 2次側根; ▩ , 3次側根



第3-3図 根箱土壌の片側半分に菌根菌を接種して生育させた30日齢のラッカセイおよびキマメ根系における主根軸に沿った側根長の推移. *, ** はそれぞれ0.05, 0.01水準における接種側と非接種側との間の有意差を示す.



第3-4図 根箱土壌の片側半分に菌根菌を接種して生育させた30日齢のラッカセイ (a) およびキマメ根系 (b) における主根軸に沿った側根の感染率の推移. 各プロットは4個体の平均値±標準誤差を示す.

■, 接種土壌側の1次側根; ●, 接種土壌側の2次+3次側根;
□, 非接種土壌側の1次側根; ○, 非接種土壌側の2次+3次側根

第4章 キマメの生育に対する不攪乱土壌ストレスの菌根形成による緩和

緒言

土壌の耕起は、作物生育にとって不良な土壌環境を改善する最も一般的な耕種技術の一つである (Gkiński & Lipiec, 1990) . しかし近年では、圃場へのエネルギー投入量の低減や土壌保全の観点から、耕起を簡略化する栽培技術が注目されている (Aston & Fischer, 1986; Griffith et al., 1988; Cornish & Lymbery, 1987) . しかし、土壌の耕起を伴う慣行栽培技術と比較して、耕起によって軽減されていた様々な土壌環境ストレスが作物栽培の障害となる場合がある. とくに耕起を簡略化することによって、多くの場合表層土壌の容積重が増加して硬くなる (Cornish et al., 1984; Cornish, 1987; Francis et al., 1987) . 一般的に、容積重の大きい緻密化した土壌は貫入抵抗値も高く、根系の発達が強く抑制されることはよく知られている (Goss, 1977; Iijima & Kono, 1991; Iijima et al., 1991) . そのように発達が抑制された根系は、土壌の養水分吸収等の根系の機能も抑制される (Schmacher & Smucker, 1981; Iijima et al., 1991) . したがって、省耕起栽培条件下での抑制された根系機能の回復を図ることは、この栽培技術を改良する上で重要な課題である.

ところで、作物の養水分吸収を促進させる菌根菌は、土壌の攪乱頻度が少ない省耕起栽培条件に、より適応していると考えられる. 例えば、Mulligan et al. (1985) は過剰な耕起が、菌根菌の作物根への定着を減少させることを見出した. それに引きつづいて、いくつかの研究で検討された結果、土壌の攪乱がその菌の菌根形成能を著しく低下させることが確認された (Evans & Miller, 1988; Fairchild & Miller, 1988; Jasper et al., 1989a; Jasper et al., 1989b) . 現在では、耕起に伴う土壌の攪乱が、菌根形成を阻害する耕種技術の中で最も直接的で大きな要因の一つに挙げられている (Bethlenfalvay, 1992) .

土壌の攪乱によって菌根形成や機能が低下するメカニズムは、最近では次のように理解されている. すなわち、一度菌根が形成されると、菌根菌は土壌中に相当量の菌糸を拡大しており、それらの菌糸は互いに有機的に連絡している (菌糸のネットワーク) . そこで土壌の攪乱は、この有機的に結びついた菌糸

の構造を物理的に破壊する。菌根菌は通常菌糸に隔膜を持たないので、隔膜を持つ菌に比べて切断された場合の障害を受けやすく、菌根菌の活性は著しく低下する。土壌中の菌糸は、感染能の高い感染源でもあり、結果的に菌根菌の感染能は大きく減少する (Evans & Miller, 1990; Jasper et al., 1989a; Jasper et al., 1989b)。

かりに、菌根形成が攪乱土壌よりも不攪乱土壌で盛んになるとすれば、上述したような省耕起栽培条件下で抑制された根系の養水分吸収機能を、菌根が一定程度補いうる可能性があろう。しかし、これまでの多くの研究は、不攪乱土壌中での菌糸のネットワーク構造の発達や機能について焦点が当てられており、省耕起栽培条件下における土壌ストレスの緩和手段として菌根共生を位置づけた研究はほとんど見当たらない。Allen & Allen (1986) は、菌根共生が植物にとって重要な機能を発揮するのは、植物がストレス条件で生育する期間中であるとの見解を示した。このことは、土壌ストレスの緩和手段としての菌根利用が有望であることを示唆している。

以上のことに基づき、本章では次のような試験を行った。コムギを宿主として菌根菌を培養し、コムギ収穫後の土壌を攪乱せずに後作としてキマメを、リンを制限因子として栽培した。この点に関して、キマメは興味深い作物と思われた。キマメはその根から分泌するピシディン酸のキレート作用によって、通常の植物には利用できない鉄と結合したリンを可給化するので (Ae et al., 1990)，リンが制限因子である土壌条件において、キマメ根系の機能と菌根菌の菌糸は協同的に作用しうると考えられたからである。本章の目的は、このキマメに対する不攪乱土壌ストレスを菌根菌の影響によって軽減しうるのかを明らかにすることである。

材料と方法

1. 菌根菌の培養と土壌の攪乱処理

1993年12月8日に、80個のワグナーポット (1/5000 a, 直径16cm, 高さ30cm) に、養分含有量の極めて少ない赤玉土 (トルオーグリンで痕跡程度) を培土として充填した。その内半数の40ポットには、土壌表面下約10cmにおよそ1500個の *Gigaspora margarita* Becker & Hall 胞子を含んだ15 g の菌根菌接種

源（セラキンコン，セントラル硝子社）を加えた．もう一方の40ポットにはオートクレイブ（121℃，20分間）で滅菌した同量の接種源を与えた．これらのポットに，次亜塩素酸ナトリウム（活性塩素0.5%）に5分間浸漬して表面を殺菌したコムギ（*Triticum aestivum* L. 品種：農林61号）種子を1993年12月18日に播種し，3週間後に間引いて1ポット1個体とした．リン濃度を1/3に調整したホーランド溶液を，毎週ポット当たりおよそ125mlの割合で与えた．1994年6月22日に，地上部だけを収穫して取り除いた．そして，非滅菌および滅菌接種源を与えたそれぞれの処理区の中で，半数のポットには土壌を移植ごてで十分に攪拌し，残りの半数はそのまま放置した．以上の手順によって，菌根菌非接種－土壌不攪乱区（NI-ND），菌根菌接種－土壌不攪乱区（I-ND），菌根菌非接種－土壌攪乱区（NI-D）菌根菌接種－土壌攪乱区（I-D）4つの処理区を設けた．

2．キマメの生育条件

1994年7月4日に，コムギと同様に表面殺菌したキマメ種子（雪印種苗社）を各処理区のポットに播種し，2週間後に間引いて1ポット1個体とした．キマメに対しては施肥は一切行わなかった．播種後1ヶ月目毎に草丈，葉数ならびに最上位展開葉をnとしたときの（n-2）葉における葉色値を測定した．なお，葉色値の測定にはSPAD-502（MINOLTA社）を用いた．

3．地上部の乾物重とリン含有量の測定

播種後90日目に，草丈のデータに基づいて，各処理区の中から最も平均的な生育を示した4個体を選んだ．それぞれの個体の地上部を，地際から切り取って収穫した．収穫物は葉と茎に分けてから70℃で48時間乾燥させ，器官毎に乾物重を測定した．さらに，器官別に粉碎して十分に混合した後，粉碎試料の一部を硝酸－過塩素酸で分解した．分解試料をバナドモリブデン酸法によって発色後，430nmの吸光度を測定してリン濃度を求めた．

4．土壌の貫入抵抗と菌根菌の孢子密度の測定

キマメ地上部を収穫した各処理区の4つのポットを対象にして，以下の調査

を行った。まず最初に、土壌の貫入抵抗をペネトロメータ（DIK-5520，大起理科工業社製）によって測定した。次に、ポットから土壌を静かに取り出して、根系をできるだけ破壊しないように注意して、丁寧に土壌を取り除いた。除去した土壌を十分に攪拌して、その一部の約300mlをサンプルとした。

まず、サンプル土壌を水洗しながらふるい分け、0.124mmのふるいに残った土壌を、60%，40%，20%のショ糖密度勾配溶液の入った遠沈管に静かに取り、3000rpmで3分間遠心分離した（Daniels & Skipper, 1982）。20-40%のフラクションの沈殿物をピペットで吸い出し、本研究で接種した *Gigaspora* 属のものであることを実体顕微鏡下で確認しながら孢子数を数えた。

5. 根長と菌根菌の感染率の測定

上記で得られた根系試料は、さらに流水で丁寧に洗浄し、つづいて水を満たしたバット内でピンセットを用いて土壌をできる限り取り除いた。そして、根系サンプルの水分をペーパータオルで十分に吸い取ってから、その新鮮重を測定した。その後、根系サンプルはFAA（容量比でホルマリン1：酢酸1：70%エタノール18）中で保存した。

各根系サンプル毎に主根の長さを測定し、さらに主根を側根が付いたままで基部から5cm毎に4つの部位に切断した。それぞれの部位毎に、1次側根の長さを物差しで測定し、さらに1次側根上で発生した高次側根の数を調査した。それから、各部位毎に全ての側根を集めてそれらを約2～3cmに切断し、ルートスキャナー（Commonwealth Aircraft 社製，オーストラリア）を用いてそれらの合計の長さを求めた。

根長の調査が全て終了してから、根系サンプルの一部は10%KOHで透明化し（Phillips & Hayman, 1970），10倍に希釈した過酸化水素水でほとんど完全に脱色後，0.05%トリパンブルー・ラクトグリセロール液で染色した。さらにラクトグリセロール液で余分な染色液を除いてから，ライン交差法によって感染率を推定した（Giovanetti & Mosse, 1980）。

結果

1. キマメ地上部の生育

播種後30日目、60日目ならびに90日目におけるキマメの草丈、葉数、葉色値を第4-1表に示した。播種後30日目では、I-ND区で顕著な生育の促進が認められ、おおむねI-ND区>I-D区>NI-D区>NI-ND区の順で優れた。分散分析の結果、菌根菌の接種と土壌の攪乱処理の交互作用は、草丈と葉数において有意であった。主効果についてみると、菌の接種効果は有意であったのに対し、土壌の攪乱効果は有意ではなかった。これは、I-ND区とNI-ND区の差異が非常に大きいためであった。このように、播種後30日目のキマメの生育は、不攪乱土壌であるがあらかじめ菌根菌を接種していたI-ND区で最も優れた。

しかし、I-ND区で見られた顕著な生育の促進は、生育後期においては認められなかった。すなわち、播種後60日目および90日目の地上部の生育は播種後30日目とは様相を異にし、I-D区>NI-D区>I-ND区>NI-ND区の順で優った。二つの主効果は全てのパラメータにおいて、高い水準で有意であったのに対して、交互作用の有意水準は90日目の葉数を除くいずれのパラメータにおいても低下した ($P=0.10$)。これらの結果は、菌根菌接種による生育促進効果が、生育後期においても継続して認められたが、その効果よりもむしろ土壌攪乱処理の効果の方が、地上部の生育を強く規定していたことを示している。

キマメの全植物体を播種後90日目に収穫した。収穫した地上部の乾物重およびリン含有量を第4-2表に示した。乾物重はI-D区>NI-D区>I-ND区>NI-ND区の順で大きく、リン含有量はI-D区 \geq NI-D区 \geq I-ND区>NI-ND区の順で高かった。

これらの結果は、不攪乱土壌条件 (I-ND区とNI-ND区) がキマメ地上部の乾物生産を強く抑制し、リン含有量も同様に抑制したことを示す。しかし、I-ND区におけるキマメの乾物重およびリン含有量は、NI-ND区のものに比較して約2倍の値を示しており、さらにI-ND区のリン含有量はNI-D区のそれと有意には異ならなかった。このことは、不攪乱土壌条件による生育量の抑制程度は、前作コムギに接種していた菌根菌の影響によって緩和されたことを示している。分散分析の結果では、菌根菌接種および土壌攪乱の主効果は、乾物重やリン含有量に対していずれも有意な影響を及ぼしたが、後者の主効果の方が高い有意水準を示した。また、これら主効果の交互作用は、どのパラメータにおいても有意ではなかった。

2. 土壌の硬さならびに菌根菌の孢子密度と感染率

土壌の硬さを表す指標として、地上部を収穫した直後の各処理区ポットにおける土壌の貫入抵抗値を第4-1図に示した。その抵抗値は攪乱土壌よりも不攪乱土壌で明らかに高かった。しかし、それぞれの攪乱処理土壌においては、菌根菌を接種した土壌と非接種土壌との間（NI-ND区対I-ND区、NI-D区対I-D区）では、貫入抵抗値にほとんど差異が認められなかった。このことは、菌根菌の接種が土壌の硬さに影響を及ぼさなかったことを示しており、前作にあらかじめ接種した菌根菌の影響によるキマメの地上部の生育促進は、土壌物理性の改善に起因したのではないことが明らかとなった。

一方、前作への菌根菌接種の処理効果を確認するため、キマメ播種後90日目の土壌中における菌根菌の孢子密度と、キマメ根系における菌根菌の感染率を第4-3表に示した。菌根菌の孢子密度は処理間で明確に異なっていた。つまり、本研究で接種した *Gigaspora* 属の孢子は、非接種土壌のNI-ND区やNI-D区では全く認められなかったのに対して、接種土壌では、I-ND区がI-D区の2倍以上の孢子密度を示した。ここでは、分散分析の結果が示すように、二つの主効果およびその交互作用がいずれも有意な水準で検出された。一方、根系における菌根菌の感染率においても、I-ND区が最も高く、I-D区がそれに続いた。また、非接種土壌であるNI-ND区やNI-D区にも、おそらく土着菌によると思われる感染がわずかに観察された。分散分析の結果では、接種の主効果は0.001水準の極めて強い有意水準を示し、土壌攪乱による主効果は有意ではなかった。また、交互作用は0.052水準の弱い有意性を示した。

3. 根系の発達と機能

播種後90日目における各処理区の全根系の外観を第4-2図に示した。NI-ND区の根系発達は、他の3処理区と比較して著しく劣り、不攪乱土壌条件がキマメの根系発達を阻害したことが明らかであった。しかし、貫入抵抗値の大きい同じ不攪乱土壌でも、菌根菌が存在していたI-ND区での根系発達は、NI-ND区に比べて著しく改善されていた。

さらに、処理区間での根系発達の量的な差異を明確にするために、各処理区

の根系新鮮重および根長を第4-4表に示した。根系の新鮮重は地上部の生育と同様に、 $I\text{-}D\text{区} \geq NI\text{-}D\text{区} \geq I\text{-}ND\text{区} > NI\text{-}ND\text{区}$ の順に大きかった。また根長に関しては、主根には処理区間で有意差が認められなかったのに対して、側根には処理区間で顕著な差異が認められた。分散分析の結果によると、根系新鮮重に対する土壌攪乱効果は0.05水準で有意であったが、菌根菌接種効果ならびに交互作用は有意でなかった。一方、側根長に対しては、接種ならびに攪乱の効果が高い水準で有意であった。

つづいて、根系を含めた植物体の機能的側面に及ぼす菌根菌接種処理と土壌攪乱処理の影響を評価した。地上部リン含有量を根長で除した、単位根長当たりのリン吸収量（リン吸収能）と、地上部乾物重をリン含有量で除した、単位リン吸収量当たりの乾物生産量（リン利用効率）を第4-5表に示した。リン吸収能は、 $NI\text{-}ND\text{区} \geq NI\text{-}D\text{区} \geq I\text{-}D\text{区} \geq I\text{-}ND\text{区}$ の順に値が高かった。一方リン利用効率は、 $I\text{-}D\text{区} \geq NI\text{-}D\text{区} > NI\text{-}ND\text{区} \geq I\text{-}ND\text{区}$ の順で高い値を示した。つまり、リン吸収能は菌根菌を接種しなかった根系（ $NI\text{-}ND\text{区}$ と $NI\text{-}D\text{区}$ ）よりも接種した根系（ $I\text{-}ND\text{区}$ と $I\text{-}D\text{区}$ ）の方で低く、リン利用効率は攪乱土壌（ $NI\text{-}D\text{区}$ と $I\text{-}D\text{区}$ ）よりも不攪乱土壌（ $NI\text{-}ND\text{区}$ と $I\text{-}ND\text{区}$ ）で同じく低い傾向であった。しかし、これらの差異は統計学的には有意でなかった。

考察

本章での主要な目的は、菌根菌の前作コムギに対する接種が、省耕起（不攪乱）土壌条件で栽培した後作キマメの生育を改善しうるのかを検証することであった。一般的に、菌根形成は植物の無機養分の吸収を高め、さらに菌根菌の感染能は土壌が攪乱されない条件で高く保たれるとされる。一方、作物の根系は不攪乱土壌では発達が阻害され、養水分の吸収機能も低下するため、それに伴い地上部の生育量も抑制される。そこで、たとえ省耕起栽培の土壌条件に付随したストレスが作物根系の養水分吸収量を低下させても、その不攪乱土壌条件下で活性が保たれた菌根菌によってその吸収量の低下は補われ、結果的に植物の生育が改善されることを予想した。本章での結果は、この仮説の正当性を支持した。なぜなら、同じ不攪乱土壌である $I\text{-}ND\text{区}$ と $NI\text{-}ND\text{区}$ の地上部の生育量を比較すると、いずれにおいても常に $I\text{-}ND\text{区}$ の方が明らかに優ったからであ

る（第4-1, 4-2表）。

しかし、攪乱土壌と不攪乱土壌条件の比較をすると、播種後90日目における地上部の乾物重だけでなくリン含有量でも、I-ND区は攪乱土壌で生育したNI-D区やI-D区には及ばなかった。つまり、I-D区>NI-D区>I-ND区>NI-ND区の順に、これらのパラメータは大きかった（第4-2表）。この順位は、90日間のキマメの生育やリン吸収量を決定した要因としては、土壌の攪乱処理（DあるいはND）が第一義的で、菌根菌の接種処理（IあるいはNI）は副次的であったことを示す。統計学的な有意性においても、処理効果は菌根菌の接種よりも土壌の攪乱の方が高い有意水準を示した。さらに、リン利用効率は攪乱土壌よりも不攪乱土壌において低くなる傾向が認められた（第4-5表）。これは、攪乱土壌に比べて不攪乱土壌というストレス条件下では、キマメは固定した炭素を植物体の構造物質以外の代謝活動により多く消費した結果と解釈することもできる。そこでこれ以降の議論は、処理区間で大きく異なる地上部の生育量をもたらした要因の解析を中心にした。

まず、不攪乱土壌条件での環境ストレスには、土壌の物理性が関与していたことは明らかである。地上部の生育から判断すると、播種後60日目以降から土壌攪乱処理の主効果は有意に認められた（第4-1表）。実際に、播種後90日目の土壌の貫入抵抗値は、攪乱土壌よりも不攪乱土壌で明らかに高かった（第4-1図）。したがって、そのような高い貫入抵抗値がI-ND区やNI-ND区での生育を抑制した主な要因と考えられた。しかし一方では、菌根菌の接種処理は土壌の貫入抵抗値を減少させなかったにもかかわらず、接種処理区の生育量は増加していた。このことは、結果においても述べたように、I-ND区で認められた生育ストレスの緩和が土壌物理性の直接的な改善によるものではないことを明らかにしている。

多くの研究で指摘されているように、菌根菌にとっては不攪乱土壌が攪乱土壌に比較して好適な条件である（Evans & Miller, 1988; Evans & Miller, 1990; Fairchild & Miller, 1988; Fairchild & Miller, 1990; Jasper et al., 1989a; Jasper et al., 1989b; Jasper et al., 1991; McGonigle et al., 1990a）。本章で得られた結果も、この見解を支持した。というのは、菌根菌の孢子密度および感染率は、I-D区よりもI-ND区の方でいずれも高い値を示していたからである（第4-3表）。

ところで、菌根形成によって養水分吸収、とくにリンの吸収が高まるのは、その根面から菌糸が土壤中に伸長して土壤との接触面積を拡大していることによる、と理解されている。そうであるならば、Jakobsen (1995) も指摘しているように、単位根長当たりのリン吸収量は増加するはずである。しかし、本章の結果からはこのことを支持する証拠は見出されなかった。すなわち、播種後90日目のデータから算定した結果では、菌根菌を接種したI-ND区やI-D区の方が接種しなかったNI-ND区やNI-D区に比較してリン吸収能は低いか、少なくとも高まることはなかったからである（第4-5表）。したがって、少なくとも播種後90日目のデータからは、菌根形成によるストレス緩和機能は、根系の養分吸収能を向上したのではなくむしろ、その他の要因、とくに次に述べる量的な根系発達の促進を通じて発揮されたと考えた方が合理的であった。

ここまでで、1) 播種後90日目における収穫時点でのキマメの生育量には土壤の攪乱処理が強く影響を及ぼし、菌根菌の接種はそれぞれの攪乱処理土壤の中で促進効果を示したこと、2) 不攪乱土壤は攪乱土壤よりも明らかに硬いが、菌根菌の接種は土壤の硬さ自体を変化させなかったこと、3) 不攪乱土壤で菌根形成が促進されても、根系のリン吸収能は増加しなかったこと、を明らかにしてきた。しかし、これらの事実だけでは、処理間で異なる収穫時のキマメの生育量、とくにI-ND区が同じ不攪乱土壤条件のNI-ND区の約2倍の乾物重、リン含有量となったことを説明できず、根系の量的な差異を重要な要因として考えざるを得なかった。実際に、貫入抵抗値が等しく高い土壤でありながら、I-ND区の根系発達はNI-ND区と比較して、明らかに大きく改善されていた（第4-2図）。さらに、根系の新鮮重や総根長の処理区間での順位は（第4-4表）、地上部の乾物重とよく対応していた。これらのことから、I-ND区で不攪乱土壤ストレスが緩和された主な原因は、菌根形成による根系発達の促進にあったと考えることができる。

しかし、播種後30日目のI-ND区でみられた特異的な生育促進効果は、菌の接種と土壤の攪乱の強い交互作用を伴っていた（第4-1表）。これは、攪乱土壤よりもむしろ不攪乱土壤において、菌根共生の利益（菌根形成による生育促進効果）が強く現れたことを意味している。菌根菌の存在下で、不攪乱土壤の植物の生育が攪乱土壤のそれを越えることが、とくに生育の初期段階においてし

ばしば観察されている (Evans & Miller, 1990; Jasper et al., 1989a; Jasper et al., 1989b; McGonigle et al., 1990a) . 本研究では播種後30日目のキマメのリン吸収量のデータを得ていない。しかし、植物体のサイズが最も大きかったI-ND区は、窒素含有率と高い正の相関がある葉色値においても最高値を示した (第4-1表) . このことから判断すれば、リンの含有量もI-ND区で最大であった可能性が高い。

しかし、このI-ND区での特異的な生育促進効果は、生育の進行に伴い土壌の不攪乱処理による影響が顕在化するにつれて次第に弱まった (第4-1表) . 収穫した地上部の乾物重やリン含有量において2つの処理の交互作用がいずれも有意ではなかったこと (第4-2表) から明らかなように、播種後90日目の収穫時まで継続しなかった。このように、不攪乱土壌中で活性が高く保たれた菌根菌の影響は植物体の生育に伴って変化したが、これまでの関連した研究においてはこの点が全く指摘されていなかった。本研究で得られた結果は、共生体である菌根の機能は宿主である植物体、とくに根系の発達程度に強く規定されることを示している。この点は、実際の栽培技術の中で菌根を応用する場合に、菌根機能を十分に発揮させる上で重要である。

本章では、不攪乱土壌条件に起因した作物の生育量の低下が、前作栽培期間に発達した菌根菌の影響で緩和されうることを示した。そのメカニズムとしては、1) 接種した菌根菌が土壌の攪乱を受けないために高い感染能を維持でき、その結果後作キマメの根系で菌根形成が活発に行われたこと、2) 菌根形成に伴って根系全体の発達が促進されたこと、3) 根系発達の促進によって最終的な地上部の生育量が大きく改善されたと考えられた。

なお本章で認められた、根系の発達が菌根菌の影響で促進される現象は、省耕起栽培上重要な点である。そのような栽培条件下では、しばしば浅い土層に根域が制限され、その結果生じやすい倒伏は大きな減収要因となるからである。その意味では、I-ND区の根系発達がNI-ND区と比べて大きく促進されたことは注目される。また、不攪乱土壌では攪乱土壌に比べて、菌根形成による根系発達の促進は比較的下層から発生した側根にまで及んだ。このことは、省耕起栽培における菌根利用を考慮する上で重要な点であり、菌根形成による作物の倒伏軽減効果について新たに検討する必要性を示している。

摘要

省耕起栽培では表層土壌の緻密化に伴って、作物根系の発達や機能が抑制されるために、作物体の生育も抑制される場合が多い。逆に、菌根菌にとっては、土壌中に形成した菌糸のネットワーク構造が破壊されないため、その感染能が高く保持される。そこで本章では、前作コムギに接種した菌根菌が、その後土壌を攪乱しないで栽培した後作のキマメが被る土壌環境ストレスを緩和できるかどうかを検討した。菌根菌の接種・非接種ならびに土壌の攪乱・不攪乱を組み合わせて、4つの処理区を設けた。菌根菌はコムギ栽培直前のポット土壌に接種した。非接種区には、同量の接種源を蒸気殺菌したものを添加した。両処理区ポットにコムギを播種し、6ヶ月間栽培して菌根菌を培養した。その後、コムギの地上部のみを収穫して、それぞれの処理区内の半数のポットは土壌を攪乱し、もう一方はそのまま放置した。このようにして準備した4処理区のポットにキマメを播種し、90日間生育させた。菌根菌接種土壌では、菌の土壌中における孢子密度やキマメ根系における感染率は、土壌攪乱区よりも不攪乱区で明らかに高かった。不攪乱土壌における地上部乾物重およびリン含有量は、非接種区よりも接種区において2倍程度大きかった。不攪乱土壌での根系発達は非接種区より接種区で優ったが、土壌貫入抵抗値には両区間で差異は認められなかった。以上の結果から、不攪乱土壌条件下で活発になった菌根形成が根系発達を促進し、その結果不攪乱土壌条件に起因した環境ストレスを緩和したことが明らかとなった。しかし、収穫時のキマメの生育量において菌根菌を接種した土壌不攪乱区はいずれの攪乱区も上回らなかった。このことは、土壌の物理性が根系発達を強く規定したためであるが、さらに菌根のストレス緩和機能は宿主の根系発達に依存していることを示唆する。

第4-1表 菌根菌接種と土壌攪乱処理が播種後30, 60, 90日目におけるキマメの地上部の生育に及ぼす影響.

処理区	草丈 (cm)			葉数			葉色値 [#]		
	30日目	60日目	90日目	30日目	60日目	90日目	30日目	60日目	90日目
NI-ND	29.9 c	51.9 c	63.2 c	6.0 c	11.4 b	8.1 c	38.5 bc	38.2 d	45.0 b
I-ND	39.6 a	75.2 b	90.9 b	8.8 a	17.0 a	11.5 b	42.7 a	41.8 c	47.6 a
NI-D	34.1 bc	75.1 b	94.5 b	6.6 bc	17.1 a	14.4 a	37.1 c	44.6 b	47.8 a
I-D	36.5 ab	85.9 a	107.8 a	7.5 b	19.1 a	15.2 a	40.9 ab	47.3 a	48.0 a

分散分析表

要因	有意水準								
菌根菌接種 (I)	***	***	***	***	***	**	***	***	*
土壌攪乱 (D)	NS	***	***	NS	***	***	NS	***	*
I × D	*	NS	NS	*	NS	*	NS	NS	NS

[#]最上位展開葉をnとしたときの(n-2)葉を対象とした葉色計 (SPAD-502, MINOLTA) の測定値.

同一アルファベットの処理区間にはダンカンの多重検定による0.05水準での有意差がないことを示す.

*, **, *** はそれぞれ0.05, 0.01, 0.001水準での有意差を示す.

第4-2表 菌根菌接種と土壌攪乱処理が播種後90日目のキマメ地上部の乾物重ならびにリン含有量に及ぼす影響.

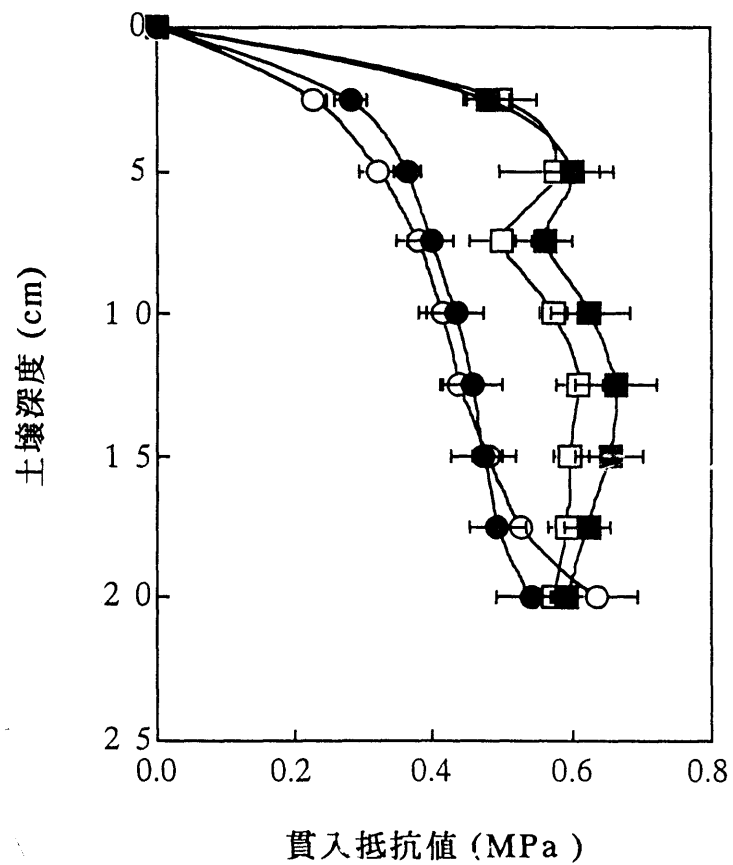
処理区	乾物重 (g 個体 ⁻¹)			リン含有量 (mg 個体 ⁻¹)		
	葉	茎	合計	葉	茎	合計
NI-ND	0.69 c	1.89 d	2.58 d	1.34 c	2.14 c	3.49 c
I-ND	1.09 c	3.98 c	5.07 c	2.12 bc	4.84 b	6.96 b
NI-D	2.15 b	5.82 b	7.97 b	3.36 ab	6.20 ab	9.56 ab
I-D	2.70 a	7.61 a	10.31 a	4.51 a	7.42 a	11.93 a

分散分析表

要因	有意水準					
菌根菌接種 (I)	NS	*	*	NS	**	*
土壌攪乱 (D)	*	***	***	***	***	***
I × D	NS	NS	NS	NS	NS	NS

同一アルファベットの処理区間にはダンカンの多重検定による0.05水準での有意差がないことを示す.

*, **, *** はそれぞれ0.05, 0.01, 0.001水準での有意差を示す.



第4-1図 貫入抵抗値の土壌深度別推移. 各値は4反復の平均値±標準誤差を示す.

□, NI-ND区; ■, I-ND区; ○, NI-D区; ●, I-D区

第4-3表 菌根菌接種と土壌攪乱処理がキマメ根系の感染率と土壌中の菌根菌胞子密度に及ぼす影響.

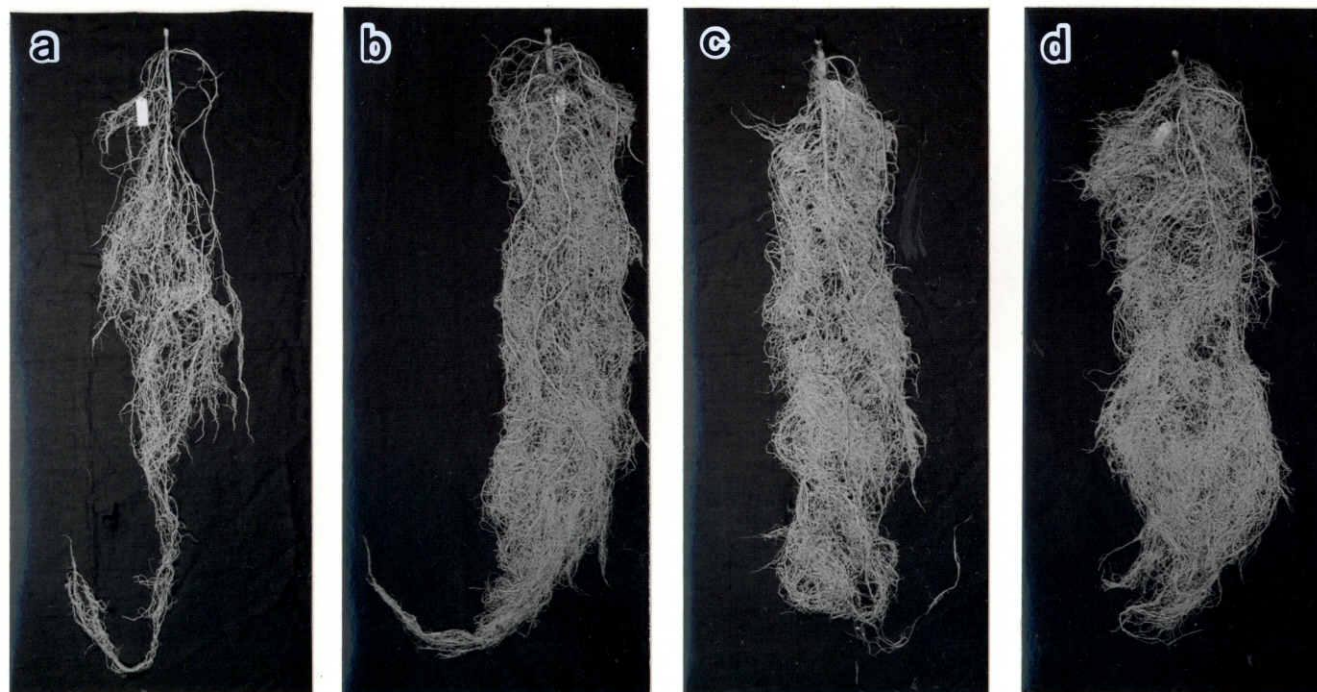
処理区	感染率 (%)	胞子密度 (個 50 ml土壌 ⁻¹)
NI-ND	15.5 c	0.0 c
I-ND	56.3 a	11.5 a
NI-D	17.3 c	0.0 c
I-D	41.5 b	4.8 b

分散分析表

要因	有意水準
菌根菌接種 (I)	***
土壌攪乱 (D)	*
I × D	*

同一アルファベットの処理間にはダンカンの多重検定による0.05水準での有意差がないことを示す.

*, *** はそれぞれ0.05, 0.001水準での有意差を示す.



第4-2図 播種後90日目におけるキマメ根系の外観.

棒は10cmの長さを示す.

NI-ND区, (a) ; I-ND区, (b) ; NI-D区, (c) ; I-D区, (d)

第4-4表 菌根菌接種と土壌攪乱処理がキマスの根系発達に及ぼす影響.

処理区	新鮮重 (g 個体 ⁻¹)	根長 (m 個体 ⁻¹)		
		主根	1次側根	全側根
NI-ND	20.0 c	0.569 a	6.08 c	73.85 c
I-ND	34.0 b	0.598 a	9.37 b	192.00 b
NI-D	36.2 ab	0.526 a	9.19 b	206.03 b
I-D	40.9 a	0.479 a	11.43 a	291.68 a

分散分析表

要因	有意水準			
菌根菌接種 (I)	NS	NS	**	***
土壌攪乱 (D)	*	NS	*	***
I×D	NS	NS	NS	NS

同一アルファベットの処理間にはダンカンの多重検定による0.05水準での有意差がないことを示す

*, **, *** はそれぞれ0.05, 0.01, 0.001水準での有意差を示す.

第4-5表 菌根菌接種と土壌攪乱がキマメ根系のリン吸収能およびリン利用効率に及ぼす影響

処理区	リン 吸収能 (mg P m ⁻¹ 根長)	リン 利用効率 (g 乾物 mg ⁻¹ P)
NI-ND	0.024 a	1.512 b
I-ND	0.018 c	1.464 b
NI-D	0.023 ab	1.648 a
I-D	0.020 bc	1.702 a
分散分析表		
要因	有意水準	
菌根菌接種 (I)	NS	NS
土壌攪乱 (D)	NS	NS
I × D	NS	NS

同一アルファベットの処理間にはダンカンの多重検定による0.05水準での有意差がないことを示す。

総合考察

耕地生態系の持続性を高める上で、耕地土壌の地力維持・増進は重要な課題である。とくに近年深刻化してきた、地球規模で急激に進行する土壌劣化の問題も含めて、作物生産の基盤である土壌に対する関心は高まっている。本研究は、現在強く求められている作物の生産性と耕地土壌の地力維持を両立させうる生産技術の基礎的研究として位置づけられるものである。

作物生産ならびに地力維持・増進という観点から、有機物の施用に期待するところは大きい。収穫物以外の植物体残渣を耕地土壌へ還元することは、地力維持の点だけでなく、その生態系内における物質循環という点においても優れて望ましい。しかし、通常の作物ではその残渣を土壌に還元しても、収穫物を系外へ持ち出す限り炭素以外の物質収支としてはマイナスとなる。したがって、作物生産に肥料が必要である第一義的な理由はここにある。しかし、化学肥料への過剰な依存に伴う弊害が様々な形で顕在化している昨今では、いかに化学肥料の投入量を低減させながら地力を増進させるかが問われている。

その点で、窒素固定能を有するマメ科作物の場合、窒素に関しては物質収支上プラスになりうる。生産物を得る目的で栽培される作物とは異なって、地力増進を目的に栽培される緑肥作物として、マメ科作物を耕地土壌に還元することが現在注目されている (Bauer et al., 1993; Mahler & Hemamda, 1993)。それは、マメ科作物が通常の作物生産にとって最も大きな制限要因の一つである窒素を、大気中から耕地生態系に固定する能力を持つという点で意義を持つからである。

そこで、マメ科作物の緑肥としての効果を、とくに窒素収支の面から圃場で評価したのが第1章である。その結果、窒素固定能を有するマメ科作物を緑肥として土壌にすき込むことは、窒素を制限して栽培した後作コムギの収量増加に大きく貢献することを認めた。さらに、本章で用いたマメ科緑肥作物のラッカセイとサンヘンブの比較から、後作コムギの収量には、緑肥作物のバイオマスよりもむしろ、窒素含有量やC:N率が大きく影響することを明らかにした。

窒素肥料の施用量を低減させるためには、マメ科作物の緑肥窒素を後作物に対してより効果的に回収させる必要がある。そのためには、緑肥作物の窒素含有量が高くかつそれに占める固定窒素量の割合が高いこと、つまり窒素固定能が高い

ことが望ましく、そのような特性を備えた作物・品種と根粒菌株の組み合わせが重要な要素となる。しかし、圃場条件下で接種した窒素固定能の高い優良菌株は、その圃場環境によく適応した土着菌との競合に打ち勝てず、その定着は一般的に困難とされている (Elliott & Lynch, 1995)。現在、実際の圃場で接種した優良菌株による根粒形成率の向上を目指した研究が精力的に取り組まれているが、この問題は根粒菌に限らず他の有用微生物に対しても当てはまり、それらの新たな導入を阻む大きな障害となっている。

さらに、窒素固定能を高めるためには窒素施肥、とりわけ土壌中の無機態窒素濃度の制御も重要である。また、固定窒素量が最大となる生育時期（開花期から莢実期）に収穫したものを緑肥として土壌にすき込むことも、耕地土壌への窒素固定という観点からは有効である。しかし、生育後期の植物体はC-N率が高くなり、逆に緑肥の分解速度の低下という問題が生じる。

この有機物のC-N率と分解速度の関係については、これまでもよく研究されてきた。緑肥に限らず有機物が植物の利用可能な無機態まで無機化されるためには、微生物による分解を経なければならない。分解過程において微生物が最も多量に必要とするのは炭素であり、窒素の要求量はそれに比べて多くない。したがって土壌微生物は、C-N率の低い有機物を分解する際には、満足する炭素量を得るためにより多くの有機物を分解する必要がある、その結果相対的に余る窒素は植物の利用可能な無機態で土壌中に放出される。逆にC-N率の高い有機物では、より少量の分解で微生物の要求に見合う炭素量が確保されるために、分解速度が低下するものと考えられる。

また、施用する有機物のC-N率が高い場合、その分解速度が低下するだけでなく、直後の後作物が窒素飢餓に陥り、逆に窒素施肥が必要となる可能性もある。それは、C-N率の高い有機物では、有機物中の窒素量だけでは微生物の要求を満足しないので、土壌中に存在する無機態窒素が、有機物分解の際に微生物に取り込まれることによる。土壌中における有機物、とくに植物体中で多量に存在するセルロースの分解にとって、真菌類の果たす役割が極めて重要であるが、この真菌類が要求する炭素と窒素の量的な割合はおおよそ20:1とされている (西尾, 1989)。Allison (1966) は、C-N率が25~30を超える有機物を土壌に還元する場合、直後の後作物が一時的な窒素飢餓に陥る可能性を指摘した。

第1章の圃場試験において、すき込みを行った播種後5ヶ月目ではサンヘンブの乾物重はラッカセイを大きく上回っており、その約70%が木化した茎部によるものであった。C-N率でみると、ラッカセイでは約20であったのに対して、サンヘンブでは約40と高い値を示した。したがって、後作物への窒素供給源としてのサンヘンブ緑肥がラッカセイ緑肥に劣った背景には、この高いC-N率による分解速度の低下あるいは一時的に生じた窒素飢餓の可能性があると考えられた。この点を明確にするために、ガラス繊維ろ紙を用いて、緑肥の分解速度をポット実験で調査したところ、木化した茎部の影響でサンヘンブの分解速度が低くなることが明らかであった。しかし一方で、C-N率を等しく調整したラッカセイとサンヘンブ緑肥（約17）の分解速度の比較でも、サンヘンブ緑肥の分解速度がやや劣ったことから、C-N率以外の差異、すなわち植物細胞壁構成成分であるセルロースやヘミセルロース、さらにリグニン含有量等による差異（Rannels & Waggener, 1992）も存在することが示唆された。

後作コムギによる緑肥窒素の回収率は、約10%と低かった。Touchton et al. (1982) は、クリムソンクローバをマルチ材とした時に、十分なソルガムの子実収量を得るために無機態窒素の施用を必要としなかったことを報告した。また、Harris & Hesterman (1990) によると、C-N率が13のアルファルファをすき込んだ場合、後作トウモロコシによってアルファルファ窒素の20%が回収された。一方水稻では、Morris et al. (1986) が緑肥窒素の回収率が33%であったことを報告している。しかし、土壌に施用した有機物からの養分回収率は一般的には必ずしも高くない。著者の¹⁵Nを用いた別の圃場試験（矢野, 1991）においては、トウモロコシによる硫酸窒素の回収率は22%であったのに対して、C-N率の高い稲わら窒素の回収率は8.6%に留まった。

施用した肥料からの養分回収率の向上という課題は、単に緑肥のような有機物だけに限った問題でなく、速効性の無機肥料についても当てはまる。肥料からの窒素の回収率は概ね20~40%程度の範囲にある。この回収率を向上させるため、緒論でも触れたように、各種の緩効性肥料や肥効調節型肥料の開発が進められてはいるが、それを実際に吸収している根系からの研究アプローチは少ないのが現状である。

さらに、窒素固定能を有するマメ科作物では、窒素が生育の制限要因となりに

くい反面、他の要素、とくに土壌中での移動速度の小さいリンが制限要因になることが多い。また、窒素固定能を低下させる要因として水分欠乏の影響も大きい (Ledgard & Steele, 1992)。したがって、根系の養水分吸収機能の強化は、マメ科作物の窒素固定能を高める方策としても、また施用した肥料や有機物からの養分回収率を向上させる上でも不可欠な要素である。そこで本研究では、作物根系の養水分吸収機能を強化する方策として、根系を介したもう一つの共生系である菌根の利用の可能性を追求した。その理由は、この菌根が極めて広範囲な作物種で形成可能で、宿主植物の養水分吸収を促進するためであった。

菌根に関する研究報告は、1970年代以降著しく増加してきた (Klironomos & Kendrick, 1993)。とくに生理や形態に関する報告は現在においても養分動態に関する研究に次いで報告が多いが、その数は1980年代をピークにして減少傾向にある (Klironomos & Kendrick, 1993)。とくに形態面に関して言えば、電子顕微鏡を用いた微細構造の解析によって細胞レベルでの菌根共生に関する理解は相当深まったものの (鈴木, 1986)、現段階においても依然としてよりマクロなレベル、つまり根系を構成する個々の根 (山内, 1993a, 1993b) からの理解は過去と比べてほとんど進展を示していないように思われた。山内 (1993a) が指摘したように、共生微生物との共生器官としての根粒や菌根は異形根 (熊沢, 1980) の一種と考えられ、実際に根系全体として果たしうる機能の多くを理解する上で、このマクロなレベルでの理解は不可欠なものである。ところで、通常菌根を形成した植物の根系は、菌根部位 (根内部に菌根菌の菌糸や樹枝状体、のう状体が認められる部分) と非菌根部位との両者で構成されている (Harley, 1991)。そこで本研究では、一個体の根系内における菌根部位の分布、さらに根系の形態や構造に及ぼす菌根形成の影響を詳しく調査した。

菌根菌の宿主範囲は極めて広いが、菌根形成に対する宿主の反応 (菌根形成植物と非形成植物間での生育量の差異) の大きさは植物種によって異なる。一般的に、菌根形成に対する植物の反応は、根毛が長く、細い根から構成された根系を持つ植物種では小さく、根毛が短く、太い根から構成された根系を持つ植物種では大きいと考えられている (Baylis, 1975; Manjunath & Habte, 1991; St. John, 1980)。概して、マメ科植物の根系はイネ科植物のそれと比較して太い根から構成されているので、菌根に対する反応は比較的大きいと思われた。そこで第2

章では、比較的太い根によって構成される根系で、根毛の発生が制限されたラッカセイ（詳細は第3章を参照）を用いて、根系内の菌根分布と菌根形成による根系形態への影響を解析した。

その結果、第2章の第1節で示したように、16日齢の根系において1次側根が主な菌根形成の場所を提供しており、その中でも主根軸の基部側から発生した比較的起源の古い、齢の進んだ側根において菌根が多く見出された。さらに、その1次側根の根軸に沿った菌根形成の頻度をみると、基部側から根端側に向けて頻度が高まることを認めた。このように、ある根軸上でより根端側で菌根形成が起こりやすいことは、Amijee et al. (1993) やHepper (1985) の結果とも符合している。

また、第1節で見出した新たな知見は、根端側で特異的に菌根形成頻度が高まるという分布パターンが、その1次側根の主根軸からの発生位置によって異なるという点であった。すなわち、発生起源の古い側根ほど根端での菌根形成の頻度が著しく高まるのに対して、発生起源の新しい側根では根端側も基部側も等しく形成頻度が低かった。言い換えれば、菌根菌の初期の定着場所は、加齢した側根の若い部位に多かったことになる。この原因として、菌が存在する土壤に根が接した物理的な時間の差異に基づくという点と、加齢に伴って根端からの浸出物質の量的あるいは質的な変化が生じたという点が考えられる。このように本研究は、根系内の菌根形成が根の齢に強く影響されることを明らかにした。

さらに、第2章の第2節では、第1節で菌根の分布パターンを解析したラッカセイの根系形態を、菌根菌を接種しなかった個体とで比較した。そこでは、両ラッカセイの根系間には量的な差異が認められなかったが、構造的差異が存在することが明らかになった。つまり、根系における分枝次元に着目しない総根長や総根数というパラメータにおいては、菌根菌接種個体と非接種個体の間には有意な差異が認められなかったのに対して、接種個体では非接種個体と比較して1次側根の割合が高く、2次側根の発育が抑制される傾向を認めた。さらに、1次側根の総根長は両根系間でほとんど同じであったにもかかわらず、その内容を調べると接種個体では根数が増加する一方で、個々の1次側根の長さ（平均根長）は減少する傾向が示された。

この構造的な根系形態の変化は、おそらく植物にとってもまた菌にとっても重

要な意味があると考えられる。なぜならば、同じ総根長の根系を想定した場合、分枝の多い根系の方がとくに移動速度の小さい養分の吸収にとって有利であり、また比較的若い根組織を好む菌根菌にとっても定着場所の拡大を意味するからである (Berta et al., 1993)。しかし、樹木で形成され、きのこを子実体とする外生菌根菌では根の著しい形態変化が知られているのに対して、本研究で扱った菌根菌 (arbuscular 菌根菌) は比較的最近まで根系形態を変化させないとされてきた (Harley & Smith, 1983)。

そこで、この菌根形成による根系形態の変化についてさらに詳しく検討するために、第3章では次のような実験を行った。すなわち、ラッカセイとキマメを対象に、主根を中心とした片側半分の側根のみに菌根菌を接種することによって、同一根系内における接種・非接種の側根間で形態的な反応を比較した。主根は重力屈性を示すので、障害物がない限りほとんど鉛直方向に伸長していくことはよく知られている。したがって、根箱土壌を鉛直方向に二分した片側一方だけに菌根菌を接種し、二分した土壌の境界上に播種することで、主根はほぼ両土壌の境界面を伸長し、そこから発生する1次側根は菌根菌接種土壌と非接種土壌のそれぞれで生育することになる。

このような操作を行ったのは、菌根形成に伴う地上部の変化に起因した根系形態の変化を消去することが一つの理由であった。とくに、菌根共生による光合成速度の増加は根系に対する同化産物の分配にも影響するので、異なる処理個体間で得られた結果の解釈が難しくなる。第3章の実験系はこの問題点を解消するのに有効であった。結果的には、20日齢までの根系では接種側と非接種側との側根間で有意な差異が認められなかったのに対して、30日齢の根系においてはラッカセイとキマメの両種ともに、菌根菌を接種した側の側根が明らかによく発達することを確認した。とくに、2次や3次の高次側根の数や長さは顕著に促進された。ラッカセイの1次側根では接種側で伸長が促進されたが、キマメでは1次側根の伸長の反応は明らかでなかった。一方、1次側根の発生数は菌根菌接種に対して両種ともに反応しなかった。

ここで、第2章および第3章の実験で得られたラッカセイ根系における、側根の菌根形成に対する反応について通覧したい。もちろんこれらの章では、種々の実験条件が異なり、直接的な比較は困難であるが、単純化すると以下のようにま

とめられる。

	第 2 章		第 3 章			
	16日齡		20日齡		30日齡	
	数	長さ	数	長さ	数	長さ
1 次側根	+	0	0	0	0	+
2 次側根	0(—)	—	0	0	+	+

第 2 章の実験では、菌根菌非接種ラッカセイと比較して接種ラッカセイの 1 次側根数が増加した。一方、第 3 章のラッカセイでは、同一根系内における接種側と非接種側の 1 次側根数がほとんど同じであり、この二つの結果は一見矛盾した印象を抱かせる。このような 1 次側根数の反応の差異は、次のような説明で理解できそうに思われた。つまり、側根は母根の内鞘を起源として形成されるので (Esau, 1977)，その発生は基本的に母根が経験した環境に強く影響されると考えられる。そうであるならば、母根としての主根が菌根菌とどれだけ接触したかが、1 次側根の発生に大きく影響したはずである。第 2 章では接種源が存在する土壌中を伸長した主根（接种植物）と存在しない土壌中を伸長した主根（非接种植物）から発生した 1 次側根間で比較したのに対して、第 3 章では基本的に主根は接種源が存在する土壌と接しながら伸長したと考えることができる。したがって、この主根の菌根菌に接する程度、つまり土壌中での菌根菌の密度や接触時間に依存して、1 次側根の発生が規定されると推察された。

しかし、第 2 章の第 1 節で示したように、主根の感染はわずかであった。この原因の一つには、主根を完全に透明化することが難しく、根内部での菌根菌を観察することが困難であったことにもよる。この菌根形成に対する 1 次側根の発生数は主根の菌根菌に接する程度との関係から、さらに検討を加える必要がある。

また、側根の形態的反応をその伸長性からみると、その伸長性が母根上の菌根の影響を受けたのか、あるいはその側根上で形成された菌根に影響されたのかは興味のあるところである。個々の根は根端に生長点があり、根の伸長性はそこでの分裂活性に支配される。一方、根端の生長点は母根を経由して同化物を得ており、その意味では母根から完全に独立して伸長するわけではない。したがって、

側根の伸長に母根がどの程度関与するかは、本研究では明らかではない。

さらに、菌根菌接種に対する2次側根数の反応は、16日齢では有意ではないがおおよそ抑制的な反応を示しており、20日齢では反応が見られず、30日齢では逆に増加する反応が認められた。このように2次側根の反応を時間軸に沿って追ってみると、菌根形成の初期段階では抑制的で、次第に促進的な発育を示した。さらに、第4章で調査したキマメ根系においても、菌根菌接種に対する根系の反応は主根よりも側根で大きく、とりわけ2次以上の高次側根において顕著であった。したがって本研究を通じて、2次以上の高次側根が菌根菌の接種に対して鋭敏に反応することが明らかとなった。

ある環境要因に対する根系の形態的反応は、高次の側根においてその影響が最も現れやすいと考えられる。遠藤（1991）は ^{13}C を用いたトレーサ実験によって、遮光による光合成能の低下に伴って、トウモロコシ根系の高次側根への炭素の分配が抑制されることを認めた。Allen（1991）が指摘するように、菌根共生における両パートナーの関係には、寄生的なものから相利共生的なものまで実際には幅広い関係が内在していると考えられる。おそらく、幼植物体にとって菌根の形成は炭素の流出を意味する（Allen, 1991）。それは共生で得られる利益よりも、それを維持するコストが上回りやすいためと考えられ、菌根形成によって幼植物体の生育が抑制される事例はいくつか報告されている（Bethlenfalvay et al., 1982; Buwalda & Goh, 1982; Koide, 1985）。しかし、これらの生育抑制は一時的なものであり、コストを上回る利益がもたらされれば、高次側根の発育は1次側根と比較してより強く促進される可能性がある。

ここまでの結果で、菌根は根系内において均一に形成されるのではなく、個々の根の齢の影響を受けながら形成されること、それと同時に根系の形態面では構造的、あるいは量的な変化が生じうることを明らかにした。これまでの研究では、菌根形成による養水分吸収の促進は、菌根菌の菌糸による土壌との接触面積の拡大に起因すると理解されてきた。しかし、そこでは菌根形成に伴う根系の発達および構造変化に関しては、ほとんど考慮されていない。本研究の結果は、菌根形成による養水分吸収の促進は、菌根菌の菌糸だけでなく、菌根形成に伴う根系自体の形態変化にも起因している可能性を示唆している。この可能性については、第4章の結果もあわせて後に考察を加えることにする。

ところで、古代より土壌を耕起することが、作物の生産を高めるための前提とされてきたが、除草剤の普及に伴って今やその前提は崩壊しつつある (Russel, 1977) . とくに過剰な耕耘による土壌の侵食は、およそ4億年をかけて生成されてきた土壌を瞬く間に失わせる危険性を内包し、その影響は極めて深刻になりつつある。そこで近年では、土壌耕起を省略した栽培法が大きく注目されている。また、現在の先進国における耕耘はもっぱら機械によるもので、耕起の省略は土壌侵食の防止のみならず、その動力となる化石エネルギー消費量の抑制や、耕起時間の短縮に対しても効果があるとされる。近年、盛んに検討されている種々の耕耘方法は、真に効果的な土壌耕起の在り方を探求する現れである。

しかし、これまで耕起を続けてきた土壌に対して耕起を省略した場合、とくに表層土壌の緻密化が生じやすい (Russel, 1977) . そのように緻密化した土壌において阻害された根系発達の様相については、Iijima (1991) によって詳細に研究されている。したがって、省耕起栽培技術の確立にとって、作物根系の発達あるいはその機能の阻害に由来するストレスを軽減することは、極めて重要な意味を持つ。

この点に関して、本研究では第4章で取り上げたように、不攪乱土壌条件下で阻害された根系機能、とくに養分吸収の低下から派生したストレス因子を軽減する方策として、菌根が有する養水分の吸収促進効果に着目した。菌根に着目したもう一つの大きな理由は、耕耘に伴う土壌の攪乱が作物根の菌根形成を阻害する最も大きな要因と考えられており (Bethlenfalvay, 1992) , 省耕起栽培条件下では菌根形成の効果が逆に強く現れるものと期待されたからである。そこで第4章では、不攪乱土壌における土壌環境ストレスを、活性の高く保たれた菌根菌が緩和できるのかを検討した。

その結果、不攪乱土壌条件においてはキマメの乾物重は著しく抑制されたが、菌根形成によってその乾物重は2倍程度増加し、菌根機能がストレス緩和に大きく貢献したことを認めた。しかし、菌根形成によってストレスの緩和されたキマメの乾物重は、攪乱土壌条件のものを上回らなかった。4処理区間で地上部の乾物重がそれぞれ有意に異なった原因を、土壌の硬さ (貫入抵抗) , 菌根形成そして根系の発育と機能面からさらに解析した。そこから、収穫時の乾物生産を最も強く規定したのは根量であること、そして、根量を第一義的に規定したのは土壌

の硬さであったこと、さらに、菌根形成が攪乱土壌および不攪乱土壌のそれぞれで根量を増加させたことを明らかにした。

とくに、貫入抵抗が等しい不攪乱土壌において、菌根菌接種区の根系発達为非接種区のものと比較して大きく改善された点は興味ある現象である。このことは、菌根形成が根系のストレス抵抗性を高め、不良環境下における根系発達を促進したことを意味する。また、根系機能面においては、菌根形成は単位根長当たりのリン吸収量（リン吸収能）を増加させなかった。したがって、これまで想定されてきた、菌根を形成した根系では、菌根菌の菌糸が土壌との接触面積を拡大するので、リン吸収能は増加する（Jakobsen, 1995）とする見解を、本研究の結果は支持しなかった。

播種後30日目のキマメ地上部の生育は、4処理区の中で不攪乱土壌条件での菌根菌接種区において最も大きかった。とくに、植物体のサイズが最も大きく、窒素含有率と高い正の相関を有する葉色値も最大であったことは、同区で養分吸収量が最も高かったことを示唆する。その時点の根系は採取しなかったので正確な論議はできないが、この地上部の生育促進は上述した菌根形成によるリン吸収能の増加による可能性がある。しかし、第3章で明らかにしたように、30日齢のキマメ根系で菌根形成による側根の発達促進が認められたので、菌根形成が根量を増加させた可能性も考えられる。しかし、不攪乱土壌条件下での菌根形成による顕著な生育促進効果は、少なくとも収穫期の播種後90日目までは継続しなかった。したがって、菌根形成による不攪乱土壌におけるキマメのストレス緩和は、生育初期には菌根形成による養分吸収の促進（根量の増加あるいは単位根長当たりの吸収効率向上）と、生育後期においては根量、とくに側根の発達と密接に関連していたことが理解できる。

これまでの結果から、菌根形成が不攪乱土壌条件において抑制されたキマメの根系発達を改善し、その結果生育ストレスが緩和されたことを明らかにした。したがって、菌根形成による植物の養分吸収促進のメカニズムは、菌根菌の菌糸によって根面を中心とした放射方向へのみ根圏域が拡大されることによるのではない。これに加えて、菌根形成に伴って根軸の伸長や分枝が促進され、それに応じて菌根菌が定着する場所も広まる。つまり、菌根形成によって新たに成立する根圏、いわゆる菌根圏（Mycorrhizosphere）はそれらの根軸の伸長方向にも拡大し、

これらが相加的に養分吸収を促進すると考えられる。未だ純粋培養に成功していない絶対共生微生物である菌根菌にとって、根はその生存を保証する唯一の存在であり、菌根菌は基本的には根面から遠ざかることは困難なのである。このことは、菌根菌が土壌中に分布域を拡大する速度と植物の根長密度との間には正の相関がある (Warner & Mosse, 1982) ことから理解される。

以上の論議を踏まえて、本研究の結論は以下のようにまとめられる。まず、マメ科作物を緑肥として耕地土壌に施用することは、作物の生産性と地力維持・増進に有効であることを示した。また、マメ科作物を緑肥として施用する場合、窒素固定能の高いことが望ましく、そのような特性を備えた種あるいは品種の選定が重要である。一方で、緑肥の分解速度を基本的に律速するC・N率を調節する必要があり、分解を早めるためには高い栽植密度や早期収穫等の栽培法が検討されるべきである。さらに重要なのは、作物根系による養分吸収効率の向上である。とくに菌根の利用は、直接あるいは間接的に根圏域の拡大を可能にし、作物による養分の回収率を向上させる上で重要な役割を果たす可能性がある。しかし、この菌根が作物の養分ストレスを緩和させる機能を有する一方で、その果たしうる機能が宿主の根系によって逆に規定された。このことは、この共生関係を耕地で積極的に利用する場合、十分に考慮されるべき問題であろう。したがって、種々の環境条件下での菌根菌と根系との相互作用、つまり菌根形成による根系の形態的・生理的な変化と、その変化がもたらす生態学的な意味について十分に理解する必要があることを本研究は示した。

作物の生産基盤である耕地土壌の地力維持・増進を図る上で、土壌の団粒化は重要な課題である。団粒化した土壌は、作物の培地として好適な透水・排水・通気性を持っていることに加え、多様な土壌微生物の生息場所でもある。また、団粒化した土壌は土壌侵食に対する耐性も高く、耕地生態系を持続させる上で重要な機能を果たす。団粒構造は、多糖類によって固着された土壌粒子が菌糸や根によって結縛されることで発達する。したがって、緑肥と菌根菌さらに作物根は、団粒構造の発達において重要な役割を果たす。例えば、マメ科作物の緑肥施用は耐水性団粒の比率を向上させたことが報告されている (Latif et al., 1992)。また、作物根は団粒構造の構築者でもあり (Materechera et al., 1992)、破壊者でもある (Materechera et al., 1994)。さらに、菌根菌の菌糸が団粒構造の発達に

寄与する程度は、宿主のダイズの根系とほぼ同じとする報告がある (Thomas et al., 1993) . またBethlenfalvay & Barea (1994) は、有機物含有量の高い土壤に菌根菌を接種した場合に、耐水性団粒の割合が4倍に増加したことを報告した。このように、緑肥施用と菌根菌さらに作物根系が土壤の団粒化に果たす役割は大きい。

先述したように、圃場での根粒菌や菌根菌の接種技術の改良は重要である。例えば、第4章で触れたように、土壤の攪乱によって菌根菌の活性は低下するので、接種後の耕起を省略するか、土壤の攪乱程度が小さい耕起法を選択することで菌の定着を促進しうる可能性がある。ところで、炭や灰を肥料として施用することは古くから行われてきたが、最近になって施用した木炭が菌根菌の好適な定着場所となり、その接種効果を高めることが明らかにされた (小川, 1987; Saito, 1990) . 中谷 (1992) は、慣習的に行われてきたサツマイモの苗の置き置きが、苗の活着や塊根形成率を向上させることを科学的に実証した。このように農業生産においては、理論よりも経験が先立つ場合も多く、農業の現場で行われている、あるいはかつて行われた慣行技術には多くの経験が凝集されている場合がある。このような慣行技術に科学的な解釈を与え、そこからさらにその応用の幅を広げることは、優れて農学の重要な役割と考える。耕地生態系における微生物の制御技術を、農業技術の近代化に伴って廃れてきた在来の慣行技術において見出すことができるかも知れない。

接種技術を改良する上で、接種した微生物の耕地土壤における動態を解明することも重要である。例えば、接種した菌根菌は、ポット試験では無殺菌土壤よりも殺菌土壤において分布領域の拡大が速いのに対して (Powell, 1979) , 圃場条件では消毒した土壤よりもむしろ非消毒土壤において速かった (Mosse et al., 1982) . このことは、実際の耕地生態系においては菌根菌を運搬する他の生物が存在することを示唆している。例えば、耕起を省略するとミミズの生息数が増加することは知られているが、このミミズは耕耘者であるとともに菌根菌の運搬者でもある (McIlveen & Cole, 1976) . また、ある種のアリは巣穴の構造を補強する材料に根の細片を用いており、その結果菌根菌の感染源が濃縮されることも知られている (Allen, 1991) . おそらく、土壤の耕起と作物残渣は、これらの有用微生物の定着や分布に影響を及ぼす (Elliott & Lynch, 1995) . したがって、

圃場での接種技術の確立のためには、これらの生態学的なアプローチが不可欠である。

耕地生態系における主要な炭素の供給源は、根系からの浸出物質と緑肥を含めた作物残渣である (Lynch, 1995)。また、見過ごされがちであるが、収穫後に土壤中に残る根系や菌根菌の菌糸も、有機物として重要な役割を果たしているはずである。この有機物と菌根菌との関係には、いくつかの興味ある報告がされている。例えば、菌根菌の菌糸やあるいは菌根自体が、しばしば分解途中の植物残渣が存在する場所で頻繁に認められている (Allen, 1991)。St. John et al. (1983a) は、有機物を施用した土壌で菌根菌の菌糸が増加することを報告し、さらに彼らは土壌中に局在化させた有機物に向けて、菌根菌の菌糸が伸長したことを観察している (St. John et al., 1983b)。この菌根菌は、有機物を直接分解する能力は現在まで認められていないものの、これらのことは、菌根利用が作物による有機物からの養分回収率を向上させる可能性を示唆しており、有機物からの養分回収率と菌根形成の関係を明らかにする必要がある。

動物における養分の吸収器官には多数の微生物が活動し、その微生物の作用によって食物の消化や吸収が行われている。例えば草食動物やシロアリは、体内でセルラーゼを直接生産しているわけではなく、吸収器官に生息する微生物が生産したセルラーゼを介在させてセルロースを分解・吸収している。一方、植物の吸収器官である根系においても、根粒菌や菌根菌との共生によって土壌養分の吸収能を高める点に植物と動物の共通項を見出すことができる。人間の健康に腸内微生物が重要な働きを果たすのと同様に、健全な作物の生産にとって共生微生物を含めた根圏微生物の役割も重要と思われる。近代農業技術は、より生物学に基づいた生産技術に転換することを強く迫られている。持続的な作物生産技術を確立するためには、耕地生態系における化学物質や化石エネルギーの投入を低減させる代わりに、作物を中心とした生物間の相互作用を望ましい方向へ導くための高度な知見や情報の投入が不可欠である。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、無力な私を常に温かく励ましながら、絶大なるご援助と終始的確なご指導を頂きました名古屋大学農学部作物科学研究室の山内章助教授に深く感謝の意を表明いたします。また、研究途上常に懇切なご助言とご指導をを賜りました、同研究室の河野恭廣教授、飯嶋盛雄教官に心から感謝いたします。さらに、常に明るく私を励ましてくださった同研究室の丹羽キミエ技官ならびに昨年ご退官された石川雅士技官にも心から感謝いたします。また、本学作物科学研究室の学生諸兄には、この論文を仕上げる段階で大変お世話になりました。彼らの助けがなければ、私がこの論文をここに完成させることは至難の業でした。

また、千葉県農業試験場からはラッカセイ種子をご提供して頂きました。

そして、第1章の取りまとめにおいては、大阪府立大学農学部作物機能制御学研究室の、三本弘乗前教授ならびに大門弘幸教官にご援助とご指導を頂きました。

このように、本研究は多くの方々に支えられながら遂行してきたものです。これらの方々に対して、改めて心から感謝いたします。

最後に、これまで私を温かく見守ってくれた家族に対して深く感謝いたします。

引用文献

- Ae, N., J. Arihara, K. Okada, T. Yoshihara and C. Johansen 1990. Phosphorus uptake by pigeon pea and its role in cropping systems of the Indian subcontinent. *Science* 248: 477-480.
- Afek, U., J. A. Menge and E. L. V. Johnson 1990. Effect of *Pythium ultimum* and metalaxyl treatments on root length and mycorrhizal colonization of cotton, onion, and pepper. *Plant Dis.* 74: 117-120.
- Afek, U., J. A. Menge and E. L. V. Johnson 1991. Interaction among mycorrhizae, soil solarization, metalaxyl, and plants in the field. *Plant Dis.* 75: 665-671. *Plant Dis.* 74: 117-120.
- 秋田重誠 1993a. 人類の生存と生物生産〔1〕. 作物の生産性の向上とサステナビリティとの調和. *農及園*. 68: 749-755.
- 秋田重誠 1993b. 人類の生存と生物生産〔2〕. 作物の生産性の向上とサステナビリティとの調和. *農及園*. 68: 849-852.
- Allen, E. B. and M. F. Allen 1986. Water relations of xeric grasses in the field: interactions of mycorrhizas and competition. *New Phytol.* 104: 559-571.
- Allen, M. F. 1991. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press, New York.
- Allen, M. F., T. S. Moore Jr. and M. Christensen 1980. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Cytokinin increases in the host plant. *Can. J. Bot.* 58: 371-374.
- Allen, M. F., T. S. Moore Jr. and M. Christensen 1982. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II. Altered levels of gibberellin-like substances and abscissic acid in the host plant. *Can. J. Bot.* 60: 468-471.
- Allen, O. N. and E. K. Allen 1981. *The Leguminosae*. The University of Wisconsin Press, Madison.
- Alle Alexander, M. 1991. *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd edn. Krieger Publishing Company, Malabar.
- Allison, F. E. 1966. The fate of nitrogen applied to soils. *Adv. Agron.* 18: 219-258.
- Amijee, F., D. P. Stribley, and P. W. Lane 1993. The susceptibility of roots to infection by an arbuscular mycorrhizal fungus in relation to age and phosphorus supply. *New Phytol.* 125: 581-586.

- Aston, A. R. and R. A. Fischer 1986. The effect of conventional cultivation, direct drilling and crop residues on soil temperatures during the early growth of wheat at Murrumbateman, New South Wales. *Aust. J. Soil Res.* 24: 49-60.
- Atkinson, D., G. Berta and J. E. Hooker 1994. Impact of mycorrhizal colonisation on root architecture, root longevity and the formation of growth regulators. In: S. Gianinazzi and H. Schüepp eds. *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Birkhäuser Verlag, Basel. pp 89-99.
- Aulakh, M. S., J. W. Doran, D. T. Walters, A. R. Moiser and D. D. Francis 1991. Crop residue type and placement effects on denitrification and mineralization. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55: 1020-1025.
- Bécard, G., D. D. Douds and P. E. Pfeffer 1992. Extensive in vitro hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of CO₂ and flavonols. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 821-825.
- Bécard, G. and Y. Piché 1989. Fungal growth stimulation by CO₂ and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 2320-2325.
- Barea, J. M., R. Azcon and C. Azcón-Aguilar 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen-fixing systems. In: J. R. Norris, D. Read and A. K. Varma eds. *Techniques for Mycorrhizal Research*. Academic Press, London. pp851-876.
- Barea, J. M. and P. Jeffries 1995. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil-plant systems. In: A. Varma and B. Hock eds. *Mycorrhiza*. Springer-Verlag, Berlin. pp521-560.
- Bauer, P. J., J. J. Camberato and S. H. Roach 1993. Cotton yield and fiber quality response to green manures and nitrogen. *Agron. J.* 85: 1019-1023.
- Baylis, G. T. S. 1975. The magnoloid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: F. E. Sanders, B. Mosse and P. B. Tinker eds. *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. pp373-389.
- Berta, G., A. Fusconi, A. Trotta and S. Scannerini 1990. Morphogenetic modifications induced by the mycorrhizal fungus *Glomus* strain E3 in the root system of *Allium porrum* L. *New Phytol.* 114: 207-215.
- Berta, G., A. Fusconi and A. Trotta 1993. VA mycorrhizal infection and the morphology and function of root systems. *Env. Exp. Bot.* 33: 159-173.

- Bethlenfalvay, G. J. 1992. Mycorrhizae and crop productivity. In: G. J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman eds. *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA Special Publication No. 54, Madison. 1-27.
- Bethlenfalvay, G. J., J. S. Brown and R. S. Pacovski 1982. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean; development of the host plant. *Phytopathology*. 72: 889-893.
- Bethlenfalvay, G. J. and R. L. Franson 1989. Manganese toxicity alleviated by mycorrhizae in soybean. *J. Plant. Nutr.* 12: 952-970.
- Bethlenfalvay, G. J. and J. M. Barea 1994. Mycorrhizae in sustainable agriculture. I. Effects on seed yield and soil aggregation. *Amer. J. Alternative Agric.* 9: 157-161.
- Bonfante, P. and S. Perotto 1995. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytol.* 130: 3-21.
- Bradbury, S. M., R. L. Peterson and S. R. Bowley 1991. Interactions between three alfalfa nodulation genotypes and two *Glomus* species. *New Phytol.* 119: 115-120.
- Brndrett, M. and B. Kendrick 1990. The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants. I. Quantitative aspects of morphology. *New Phytol.* 114: 457-468.
- Brundrett, M. C., Y. Piché and R. L. Peterson 1984. A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Can. J. Bot.* 63: 184-194.
- Burns, R. C. and R. W. F. Hardy 1975. *Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants*. Springer-Verlag, Berlin.
- Buwalda, J. G. and K. M. Goh 1982. Host-fungus competition for carbon as a cause of growth depression in vesicular-arbuscular mycorrhizal ryegrass. *Soil Biol. Biochem.* 14: 103-106.
- 近岡一郎・大林延夫・椎名清治 1982. 緑肥作物等の夏作への導入とキタネグサレセンチュウおよびサツマイモネコブセンチュウの発生動向. *日線虫研誌*. 11: 19-23.
- Cooper, K. M. and G. S. Grandison 1987. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on infection of tamarillo (*Cyphomandra betacea*) by *Meloidogyne incognita* in fumigated soil. *Plant Dis.* 71: 1101-1106.
- Cornish, P. S. 1987. Effects of direct drilling on the phosphorus uptake and fertilizer requirements of wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 38: 775-790.

- Cornish, P. S., H. B. So and J. R. McWilliam 1984. Effects of soil bulk density and waster regimen on root growth and uptake of phosphorus by ryegrass. *Aust. J. Agric. Res.* 35: 631-644.
- Cornish, P. S. and J. R. Lymbery 1987. Reduced early growth of direct drilled wheat in southern New South Wales: causes and consequences. *Aust. J. Exp. Agric.* 27: 869-880.
- Daniels, B. A. and H. D. Skipper 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In: N. C. Schenck ed. *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. pp29-35. American Phytopathological Society, St. Paul.
- Dannenberg, G., C. Latus, W. Zimmer, B. Hundeshagen, H. J. Schneider-Poetsch and H. Bothe 1992. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on phytohormone balances in maize (*Zea mays* L.). *J. Plant Physiol.* 141: 33-39.
- Dehne, H. W. 1982. Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology* 72: 1115-1119.
- Dehne, H. W. and F. Schonbeck. 1979. Untersuchungen zum Einfluss der endotrophen Mykorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. II. Phenolstoffwechsel und Lignifizierung. (The influence of endotrophic mycorrhiza on plant diseases. II. Phenolmetabolism and plant lignification.) *Phytopath. Z.* 95: 210-216.
- Dixon, R. K., H. E. Garrett and G. S. Cox 1988. Cytokinins in the root pressure exudate of Citrus jambhiri Lush. colonized by vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Tree Physiol.* 4: 9-18.
- Drüge, U. and F. Schönbeck 1992. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on transpiration, photosynthesis and growth of flax (*Linum usitatissimum* L.) in relation to cytokinin levels. *J. Plant Physiol.* 141: 40-48.
- Duc, G., A. Trouvelot, V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi 1989. First report of non-mycorrhizal plant mutants (Myc⁻) obtained in pea (*Pisum sativum* L.) and fababean (*Vicia faba* L.). *Plant Science* 60: 215-222.
- Ebelhar, S. A., W. W. Frye and R. L. Blevins 1984. Nitrogen from legume cover crops for no-tillage corn. *Agron. J.* 76: 51-55.
- Elliott, L. F. and J. M. Lynch 1995. The international workshop on establishment of microbial inocula in soils: Cooperative research project on biological

- resources management of the organization for economic cooperation and development (OECD). Amer. J. Alternative Agric. 10: 67-68.
- 遠藤伸子 1991. イネ科作物の地上部と種子根系の発育における炭素と窒素の動態. 名古屋大学大学院農学研究科修士論文.
- Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. 2nd edn. Wiley, New York.
- Evans, D. G. and M. H. Miller 1988. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil-disturbance-induced reduction of nutrient absorption in maize. I. Causal relations New Phytol. 110: 67-74.
- Evans, D. G. and M. H. Miller 1990. The role of the external mycelial network in the effect of soil disturbance upon vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of maize. New Phytol. 114: 65-71.
- Fairchild, G. L. and M. H. Miller 1988. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil-disturbance-induced reduction of nutrient absorption in maize. II. Development of the effect. New Phytol. 110: 75-84.
- Fairchild, G. L. and M. H. Miller 1990. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil-disturbance-induced reduction of nutrient absorption in maize. III. Influence of P amendments to soil. New Phytol. 114: 641-650.
- Farber, B. A., R. J. Zasoski and D. N. Munns 1991. A method for measuring hyphal nutrient and water uptake in mycorrhizal plants. Can. J. Bot. 70: 2130-2137.
- Fitter, A. H. 1985. Functional significance of root morphology and root system architecture. In: A. H. Fitter ed. Ecological Interaction in Soil. Blackwell, Oxford. pp87-106.
- Fitter, A. H. 1988. Water relations of red clover *Trifolium pratense* L. as affected by VA mycorrhizal infection and phosphorus supply before and during drought. J. Exp. Bot. 39: 595-603.
- Francis, G. S., K. C. Cameron and R. S. Swift 1987. Soil physical conditions after six years of direct drilling or conventional cultivation on a silt loam soil in New Zealand. Aust. J. Soil Res. 25: 517-529.
- 藤田利雄・渡辺正弘 1995. 肥効調節型肥料. 庄子貞雄編, 新農法への挑戦—生産・資源・環境との調和—. 博友社, 東京. 93-118.
- 藤原彰夫・岸本菊夫 1993. 磷と植物 (II) —磷の科学と工業技術. 博友社, 東京.
- Galamay, T. O., A. Yamauchi, T. Nonoyama and Y. Kono 1992. Acropetal lignification in protective tissues of cereal nodal root axes as affected by

- different soil moisture conditions. Jpn. J. Crop Sci. 61: 511-517.
- Gianinazzi-Pearson, V. and S. Gianinazzi 1992. Influence of intergeneric grafts between host and non-host legumes on vesicular-arbuscular mycorrhiza. New Phytol. 120: 505-508.
- Giovannetti, M., L. Avio, C. Sbrana and A. S. Citernesi 1993a. Factor affecting appressorium development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe. New Phytol. 123: 115-122.
- Giovannetti, M., C. Sbrana, L. Avio, A. S. Citernesi and C. Logi 1993b. Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages. New Phytol. 125: 587-593.
- Giovannetti, M., C. Sbrana, A. S. Citernesi, L. Avio, A. Gollotte, V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi 1994a. Recognition and infection process, basis for host specificity of arbuscular mycorrhizal fungi. In: S. Gianinazzi and H. Schüepp eds. Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Birkhäuser Verlag, Basel. pp61-72.
- Giovannetti, M., C. Sbrana and C. Logi 1994b. Early processes involved in host recognition by arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 127: 703-709.
- Giovannetti, M. and B. Mosse 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytol. 84: 489-500.
- Glinsky, J. and J. Lipiec 1990. Soil Physical Conditions and Plant Roots. CRC Press, Florida.
- Goss, M. J. 1977. Effects of mechanical impedance on root growth in barley (*Hordeum vulgare* L.). I. Effects on the elongation and branching of seminal root axes. J. Exp. Bot. 28: 96-111.
- Griffith, D. R., E. J. Kladvko, J. V. Mannering, T. D. West and S. D. Parsons 1988. Long-term tillage and rotation effects on corn growth and yield on high and low organic matter, poorly drained soils. Agron. J. 80: 599-605.
- Groth, D. E. and C. A. Martinson 1983. Increased endomycorrhizal infection of maize and soybeans after soil treatment and metalaxyl. Plant Dis. 67: 1377-1378.
- Groya, F. L. and C. C. Sheaffer 1985. Nitrogen from forage legumes: Harvest and tillage effects. Agron. J. 77: 105-109.
- Hargrove, W. L. 1986. Winter legumes as a nitrogen source for no-till grain

- sorghum. *Agron. J.* 78: 70-74.
- Harley, J. L. 1991. Introduction: The state of the art. In: J R Norris, D J Read and A K Varma eds. *Techniques for Mycorrhizal Research*. Academic Press, London. pp1-23.
- Harley, J. L and S. E. Smith 1983. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London and New York. pp15.
- Harris, G. H. and O. B. Hesterman 1990. Quantifying the nitrogen contribution from alfalfa to soil and two succeeding crops using nitrogen 15. *Agron. J.* 82: 129-134.
- Haselwandter, K., C. Leyval and F. E. Sanders 1994. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on plant uptake of heavy metals and radionuclides from soil. In: S. Gianinazzi and H. Schüepp eds. *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Birkhäuser Verlag, Basel. pp179-189.
- Heggo, A. and J. S. Angle 1990. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biol. Biochem.* 22: 865-869.
- Hepper, C. M. 1935. Influence of age of roots on the pattern of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in leek and clover. *New Phytol.* 101: 685-693.
- Hetrick, B. A. D., J. F. Lesile, G. T. Wilson and D. G. Kitt 1988. Physical and topological assessment of effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on root architecture of big bluestem. *New Phytol.* 110: 85-96.
- Hetrick, B. A. D. and G. W. T. Wilson 1991. Effects of mycorrhizal fungus species and metalaxyl application on microbial suppression of mycorrhizal symbiosis. *Mycologia* 83: 97-102.
- Hooker, J. E., M. Jaizme-Vega and D. Atkinson 1994. Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. In: S. Gianinazzi and H. Schüepp eds. *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Birkhäuser Verlag, Basel. pp191-200.
- Hooker, J. E., M. Munro and D. Atkinson 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi induced alteration in poplar root system morphology. *Plant Soil* 145: 207-214.
- Iijima, M. 1991. Root development in compact soil-stressed cereal plants: species-specific morphological responses of the different root system components. Doctor Thesis of the Graduate School of Agriculture, Nagoya

University.

- Iijima, M., and Y. Kono 1991. Interspecific differences of the root system structures of four cereal species as affected by soil compaction. *Jpn. J. Crop Sci.* 60: 130-138.
- Iijima, M., Y. Kono, A. Yamauchi and J. R. Pardales Jr. 1991. Effects of soil compaction on the development of rice and maize root systems. *Env. Exp. Bot.* 31: 333-342.
- Ishizuka, J. 1992. Trends in biological nitrogen fixation research and application. *Plant Soil* 141: 197-209.
- Israel, D. W. 1987. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation. *Plant Physiol.* 84: 835-840.
- Jabaji-Hare, S. H. and W. B. Kendrick 1985. Effects of fosetyl-Al on root exudation and on composition of extracts of mycorrhizal and nonmycorrhizal leek roots. *Can. J. Plant Pathol.* 7: 118-126.
- Jakobsen, I. 1995. Transport of phosphorus and carbon in VA mycorrhizas. In: A. Varma and B. Hock. eds. *Mycorrhiza*. Springer-Verlag, Berlin. pp297-324.
- Jasper, D. A., L. K. Abbott and A. D. Robson 1989a. Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 112: 93-99.
- Jasper, D. A., L. K. Abbott and A. D. Robson 1989b. Hyphae of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus maintain infectivity in dry soil, except when the soil is disturbed. *New Phytol.* 112: 101-107.
- Jasper, D. A., L. K. Abbott and A. D. Robson 1991. The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. *New Phytol.* 118: 471-476.
- Johnson, N. C. and F. L. Pfleger 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. In: G. J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman eds. *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA, Madison. pp71-99.
- Klironomos, J. N. and W. B. Kendrick 1993. Research on mycorrhizas: trends in the past 40 years as expressed in the "MYCOLIT" database. *New Phytol.* 125: 595-600.
- Koide, R. T. 1985. The nature of growth depressions in sunflower caused by vesicular-arbuscular mycorrhizal infection. *New Phytol.* 99: 449-462.
- Kono, Y., K. Tomida, J. Tatsumi, T. Nonoyama, A. Yamauchi and J. Kitano

- 1987a. Effects of soil moisture conditions on the development of root systems of soybean plants (*Glycine max* Merr.). Jpn. J. Crop Sci. 56: 597-607.
- Kono, Y., A. Yamauchi, T. Nonoyama, J. Tatsumi and N. Kawamura 1987b. A revised experimental system of root-soil interaction for laboratory work. Environ. Control in Biol. 25: 141-151.
- Kothari, S. K., M. Marschner and E. George 1990a. Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize. New Phytol. 116: 303-311.
- Kothari, S. K., M. Marschner and E. George 1990b. Direct and indirect effects of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on acquisition of mineral nutrients by maize (*Zea mays* L.) in a calcareous soil. New Phytol. 116: 637-645.
- 熊沢正夫 1980. 植物器官学. 裳華坊, 東京.
- Kurle, J. E. and F. L. Pfleger 1994. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. In: F. L. Pfleger and R. G. Linderman eds. Mycorrhizae and Plant Health. APS Press, St. Paul.
- Latif, M. A., G. R. Mehuys, A. F. Mackenzie, I. Alli and M. A. Faris 1992. Effects of legumes on soil physical quality in a maize crop. Plant Soil 140: 15-23.
- Ledgard, S.F. and K.W. Steele 1992. Biological nitrogen fixation in mixed legume/grass pastures. Plant Soil 141: 137-153.
- Linderman, R. G. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. In: G. J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman eds. Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA, Madison. pp45-70.
- Linderman, R. G. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. In: F. L. Pfleger and R. G. Linderman eds. Mycorrhizae and Plant Health. APS Press, St. Paul. pp1-25.
- Lynch, J. M. 1995. Tuning inoculants to natural substrates. In: The International Workshop on Establishment of Microbial Inocula in Soils: Cooperative Research Project on Biological Resource Management of the OECD. Amer. J. Alternative Agric. 10: 52.
- 前田和美 1987. マメと人間—その一万年の歴史. 古今書院, 東京.
- 前 忠彦 1995. 圃場の栄養問題. 庄子貞雄編, 新農法への挑戦—生産・資源・環境との調和—. 博友社, 東京. pp139-144.

- Mahler, R. L. and H. Hemamda 1993. Evaluation of the nitrogen fertilizer value of plant materials to spring wheat production. *Agron. J.* 85: 305-309.
- Manjunath, A. and M. Habte 1991. Root morphological characteristics of host species having distinct mycorrhizal dependency. *Can. J. Bot.* 69: 671-676.
- Mappaona 1995. Study on the productivity of tropical green manure legumes and their incorporation effect. Doctor Thesis of the Graduate School of Agricultural Sciences, Nagoya University.
- Materechera, S. A., A. R. Dexter and A. M. Alston 1992. Formation of aggregates by plant roots in homogenized soils. *Plant Soil* 142: 69-79.
- Materechera, S. A., J. M. Kirby, A. M. Alston and A. R. Dexter 1994. Modification of soil aggregation by watering regime and roots growing through beds of large aggregates. *Plant Soil* 160: 57-66.
- 松崎敏英 1995. 堆肥. 庄子貞雄編, 新農法への挑戦—生産・資源・環境との調和—. 博友社, 東京. pp119-135.
- McGonigle, T. P., D. G. Evans and M. H. Miller 1990a. Effect of degree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiments. *New Phytol.* 116: 629-636.
- McGonigle, T. P., M. H. Miller, D. G. Evans, G. L. Fairchild and J. A. Swan 1990b. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.
- McIlveen, W. D. and H. Cole Jr. 1976. Spore dispersal of Endogonaceae by worms, ants, birds. *Can. J. Bot.* 54: 1486-1489.
- Meisner, C. A. and K. J. Karnok 1991. Root hair occurrence and variation with environment. *Agron. J.* 83: 814-818.
- Menge, J. A., D. Steirle, D. J. Bagyaraj, E. L. V. Johnson and R. T. Leonard 1978. Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. *New Phytol.* 80:575-578.
- Miller, R. M. and J. D. Jastrow 1992. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. In: G. J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman eds. *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA, Madison. pp29-44.
- 三本弘乗 1968. 新しい稲作技術 稲の深層追肥. 全国農村教育協会, 東京.
- 三宅正紀 1986. 熱帯畑土壌と有機物. 熱帯農業. 30: 194-198.
- Morandi, D., J. A. Bailey and V. Gianinazzi-Pearson 1984. Isoflavonoid accumulation in soybean roots infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Physiol. Plant Pathol.* 24: 357-364.

- Morris, R. A., R. E. Furoc and M. A. Dizon 1986. Rice responses to a short duration green manure. II. N recovery and utilization. *Agron. J.* 78: 413-416.
- Moschler, W. W., G. M. Shear, D. L. Hallock, R. D. Sears and G. D. Jones 1967. Winter cover crops for sod-planted corn: Their selection and management. *Agron. J.* 59: 547-551.
- Mosse, B. 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Ann. Rev. Phytopath.* 11: 171-196.
- Mosse, B., D. P. Stribley and F. Le Tacon 1981. Ecology of mycorrhizae and mycorrhizal fungi. *Adv. Micol. Ecol.* 5: 137-210.
- Mosse, B., A. Warner and C. A. Clarke 1982. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XIII. Spread of an introduced VA endophytes in the field and residual growth effects of inoculation in the second year. *New Phytol.* 90: 521-528.
- Mulligan, M. F., A. J. M. Smucker and G. F. Safir 1985. Tillage modifications of dry edible bean root colonization by VAM fungi. *Agron. J.* 77: 140-144.
- 中谷 誠 1992. サツマイモ苗の発根，活着に及ぼす諸要因. 農研センター研報. 21: 1-53.
- 南條正巳・伊藤豊彰・菅野均志 1995. 新しい施肥法—接触施肥. 庄子貞雄編，新農法への挑戦—生産・資源・環境との調和—. 博友社，東京. 193-200.
- National Research Council 1989. *Alternative Agriculture*. National Academy Press, Washington, D. C.
- Nelsen, C. R. and G. R. Safir 1982. Increased drought tolerance of mycorrhizal onion plants caused by improved phosphorus nutrition. *Planta* 154: 407-413.
- Nemec, S. 1980. Effects of 11 fungicides on endomycorrhizal development on sour orange. *Can. J. Bot.* 58: 522-526.
- 西尾道徳 1989. 土壤微生物の基礎知識. 農文協，東京.
- Nye, P. H. and P. B. Tinker 1977. *Solute Movement in the Soil-Root System*. Blackwell, Oxford.
- Odum, E.P. 1989. Input management of production systems. *Science* 243: 177-182.
- 小川 眞 1987. 作物と土をつなぐ共生微生物—菌根の生態学. 農文協，東京.
- 小川 眞 1988. VA菌根とその働き. 森林立地 30: 57-65.
- Ohdan, H., H. Daimon and H. Mimoto 1995. Evaluation of allelopathy in *Crotalaria* by using a seed pack growth pouch. *Jpn. J. Crop Sci.* 64: 644-649.

- Pardales Jr., J. R., Y. Kono, A. Yamauchi and M. Iijima 1992. Seminal root growth in sorghum (*Sorghum biclor*) under allelopathic influences from residue of taro (*Colocasia esculenta*). Ann. Bot. 69: 493-496.
- Pardales Jr., J. R., A. Yamauchi and Y. Kono 1991. Growth and development of sorghum roots after exposure to different periods of a hot root-zone temperature. Env. Exp. Bot. 31: 397-403.
- Paul, E. A. 1988. Towards the year 2000: directions for future nitrogen research. In: J. R. Willson ed. Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems. CAB International, Wallingford. pp181-217.
- Peterson, R. L. 1992. Adaptations of root structure in relation to biotic and abiotic factors. Can. J. Bot. 70: 661-675.
- Phillips, J. M. and D. S. Hayman 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-160.
- Powell, C. L. 1979. Spread of mycorrhizal fungi through soil. N. Z. J. Agric. Res. 22: 335-339.
- Price, N. S., R. W. Roncadori and R. S. Hussy 1989. Cotton root growth as influenced by phosphorus nutrition and vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytol. 111: 61-66.
- Puppi, G., R. Azcón and G. Höflich 1994. Management of positive interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with essential groups of soil microorganisms. In: S. Gianinazzi and H. Schüepp eds. Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Birkhäuser Verlag, Basel. pp201-215.
- Ranells, N. N. and M. G. Waggoner 1992. Nitrogen release from crimson clover in relation to plant growth stage and composition. Agron. J. 84: 424-430.
- Reddy, K. C., A. R. Soffes, G. M. Prine and R. A. Dunn 1986. Tropical legumes for green manure. II. Nematode populations and their effects on succeeding crop yields. Agron. J. 78: 5-10.
- Rhodes, L. H. and J. W. Gerdemann 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. New Phytol. 75: 555-561.
- Robinson, D. 1994. The responses of plants to non-uniform supplies of nutrients. New Phytol. 127: 635-674.
- Rovira, A. D. and C. B. Davey 1974. Biology of the rhizosphere. In: E. W. Carson ed. The Plant Root and its Environment. University Press of

- Virginia, Charlottesville. pp153-204.
- Russell, R. S. 1977. Plant Root Systems: Their function and interaction with the soil. McGraw-Hill, London.
- Sánchez-Díaz, M. and M. Honrubia 1994. Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants. In: S. Gianinazzi and H. Schüepp eds. Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Birkhäuser Verlag, Basel. pp167-178.
- Saito, M. 1990. Charcoal as a microhabitat for VA mycorrhizal fungi, and its practical implication. Agric. Ecosys. Environ. 29: 341-344.
- 佐野善一・中園和年 1986. マメ科対抗植物におけるサツマイモネコブセンチュウの侵入・発育と根の組織的反応. 日線虫研誌. 18: 48-55.
- Schellenbaum, L., G. Berta, F. Ravolanirina, B. Tisserant, S. Gianinazzi and A. H. Fitter 1991. Influence of endo-mycorrhizal infection on root morphology in a micro-propagated woody plant species (*Vitis vinifera* L.). Ann. Bot. 68: 135-141.
- Schmacher, T. E. and A. J. M. Smucker 1981. Mechanical impedance effects on oxygen uptake and porosity of dry bean roots. Agron. J. 73: 51-55.
- Schwab, S.M., Menge, J.A., and Tinker, P.B. 1991. Regulation of nutrient transfer between host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytol. 117:387-398.
- Schweiger, P. F., A. D. Robson and N. J. Barrow 1995. Root hair length determines beneficial effect of a *Glomus* species on shoot growth of some pasture species. New Phytol. 131: 247-254.
- 塩谷哲夫 1991a. 緑肥としてのマメ科植物の利用経緯と研究の現状〔1〕. 農及園. 66: 347-353.
- 塩谷哲夫 1991b. 緑肥としてのマメ科植物の利用経緯と研究の現状〔2〕. 農及園. 66: 467-472.
- 塩谷哲夫・古賀野完爾・伊藤滋吉 1990. 熱帯マメ科緑肥作物による低湿重粘土輪換田の土壌改良. 第1報 セスバニア, クロタラリア: その生育特性と土壌物理性改善効果. 農作業研究. 25: 59-68.
- Simon, L., J. Bousquet, R. C. Lévesque and M. Lalonde 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. Nature 363: 67-69.
- Smith, S. E. 1995. Discoveries, discussion and directions in mycorrhizal Research. In: A. Varma and B. Hock eds. Mycorrhiza. Springer, Berlin.

- Smith, S. E., S. Dickson and N. A. Walker 1992. Distribution of VA mycorrhizal entry points near the root apex : Is there an uninfectible zone at the root tip of leek or clover? *New Phytol.* 122: 469-477.
- Smith, S. E., M. Tester and N. A. Walker 1986. The development of mycorrhizal root systems in *Trifolium subterraneum* L.: Growth of roots and the uniformity of spatial distribution of mycorrhizal infection units in young plants. *New Phytol.* 103: 117-131.
- Smith, S. E. and N. A. Walker 1981. A quantitative study of mycorrhizal infection in *Trifolium*: Separate determination of the rates of infection and of mycelial growth. *New Phytol.* 89: 225-240.
- St. Aubin, G., M. J. Canny and M. E. McCully 1986. Living vessel elements in the late metaxylem of sheathed maize roots. *Ann. Bot.* 58: 577-588.
- St. John, T. V. 1980. Root size, root hairs and mycorrhizal infection: A re-examination of Baylis's hypothesis with tropical trees. *New Phytol.* 84: 483-487.
- St. John, T. V., D. C. Coleman and C. P. P. Reid 1983a. Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles. *Ecology* 64: 957-959.
- St. John, T. V., D. C. Coleman and C. P. P. Reid 1983b. Growth and spatial distribution of nutrient-absorbing organs: selective exploitation of soil heterogeneity. *Plant Soil* 71: 487-493.
- Stubblefield, S. P., T. N. Taylor and J. M. Trappe 1987. Fossil mycorrhizae: A case for symbiosis. *Science* 237: 59-60.
- Sutton, J. C., and B. R. Sheppard 1976. Aggregation of sand-dune soil by endomycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.* 54:326-333.
- 鈴木達彦 1986. VA菌根に関する諸問題. 〔1〕. 農及園. 61: 1023-1028.
- Sylvia, D. M., L. C. Hammond, J. M. Bennett, J. H. Haas and S. B. Linda 1993. Field response of maize to a VAM fungus and water management. *Agron. J.* 85: 193-198.
- Sylvia, D. M. and S. E. Williams 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stresses. In: G. J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman eds. *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA, Madison. pp101-124.
- Tanaka, S., A. Yamauchi and Y. Kono 1995. Easily accessible method for root length measurement using an image analysis system. *Jpn. J. Crop Sci.*

64: 144-147.

- Thomas, R. S., R. L. Franson and G. J. Bethlenfalvay 1993. Separation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root effects on soil aggregation. *Soil. Sci. Soc. Amer. J.* 57: 77-81.
- Tisdall, J. M. 1991. Fungal hyphae and structural stability of soil. *Aust. J. Soil Res.* 29: 729-743.
- Tisdall, J. M. and J. M. Oades 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* 33: 141-163.
- Touchton, J. T., W. A. Gardner, W. L. Hargrove and R. R. Duncan 1982. Reseeding crimson clover as a N source for no-tillage grain sorghum production. *Agron. J.* 74: 283-287.
- Valvel, G. E. and T. A. Peterson 1992. Nitrogen fertilizer recovery by soybean in monoculture and rotation systems. *Agron. J.* 84: 215-218.
- Walker, C. 1995. AM or VAM: What's in a word? In: A. Varma and B. Hock eds. *Mycorrhiza*. Springer, Berlin. pp3-24.
- Walker, N. A. and S. E. Smith 1984. The quantitative study of mycorrhizal infection. II. The relation of fungal growth to propagule density, the mean length of the infection unit and limiting value of the fraction of the root infected. *New Phytol.* 96: 55-69.
- Warner, A. and B. Mosse 1982. Factors affecting the spread of vesicular mycorrhizal fungi in soil. I. Root density. *New Phytol.* 90: 529-536.
- Welner, D. 1992. *Symbiosis of Plants and Microbes*. Chapman & Hall, London.
- Wenzel, C. L., M. E. MuCully and M. J. Canny 1989. Development of water conducting capacity in the root systems of young plants of corn and other C₄ grasses. *Plant Physiol.* 89: 1094-1101.
- Whitehead, D. C. 1970. Carbon, nitrogen, phosphorus and sulphur in herbage plant roots. *J. Br. Grassld. Soc.* 25: 236-241.
- Yamauchi, A. 1993. Significance of root system structure in relation to the stress tolerance in cereal crops. In: K. J. Kim et al. eds. *Low-Input Sustainable Crop Production Systems in Asia*. Korean Society of Crop Science, Seoul. 347-360.
- 山内 章 1993a. 作物根系の構造とそれを構成する根の種類. (1). 農及園. 68: 824-829.
- 山内 章 1993b. 作物根系の構造とそれを構成する根の種類. (2). 農及園. 68: 938-942.

- 矢野勝也 1991. 水田と畑における由来別窒素の年次的寄与. 大阪府立大学農学部卒業論文.
- 屋敷隆士・高橋芳雄・木方展治・渋谷政夫 1991. 落花生における重窒素を利用した窒素吸収特性の究明と施肥窒素の寄与割合. 千葉農試研報. 32: 91-97.
- 渡辺徹男・知念 弘 1995. 有機合成緩効性窒素肥料. 庄子貞雄編, 新農法への挑戦—生産・資源・環境との調和—. 博友社, 東京. pp65-92.
- Zobel, R. W. 1991. Root growth and development. In: D. L. Keister and P. B. Cregan eds. The Rhizosphere and Plant Growth. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp61-71.

報文目録

1. Yano, K., H. Daimon and H. Mimoto 1994. Effect of sunn hemp and peanut incorporated as green manures on growth and nitrogen uptake of the succeeding wheat. Jpn. J. Crop Sci. 63: 137-143.
2. Yano, K., A. Yamauchi and Y. Kono 1996. Distribution of arbuscular mycorrhizas in peanut root system. Jpn. J. Crop Sci. (in press)
3. Yano, K., A. Yamauchi and Y. Kono 1996. Modification of root system morphology in a peanut seedling inoculated with arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker & Hall. Jpn. J. Crop Sci. (in press)
4. Yano, K., A. Yamauchi and Y. Kono 1996. Localized inoculation of arbuscular mycorrhizal fungus to a split-root system induces a contrast in the lateral root development. Mycorrhiza. (submitted)
5. Yano, K., A. Yamauchi, M. Iijima and Y. Kono 1996. Alleviation of no-disturbed soil stresses for the growth of pigeon pea by arbuscular mycorrhizal formation. Plant Soil. (submitted)