

土壤微生物の根圏への定着条件

誌名	農林水産技術研究ジャーナル
ISSN	03879240
著者	松口, 龍彦
巻/号	10巻2号
掲載ページ	p. 34-38
発行年月	1987年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



土壌微生物の根圏への定着条件

松口 龍彦

作物生産に有用な各種の微生物を土壌—根系に接種して、作物根の養分吸収力や病害抵抗性を高めたり、病原菌を抑制しようとする試みが注目的になっている。その理由は、バイオテクノロジーによって新しく作出されるであろう高度の有用微生物の活用技術として不可欠だからである。微生物接種による作物生育の増進は、マメ科作物への根粒菌接種など、我国においても決して新しい試みではない。しかし、作物根圏に生息する微生物と根の代謝機能の密接な相互作用や、作物生産に対するその関与が解明されるにつれ、対象微生物の種類も増加し、それに応じた接種技術、土壌管理技術の開発が強く望まれるようになった。本稿では土壌微生物ないしは接種微生物の根圏への定着に關係する諸要因について、既往の研究成果を整理するとともに、期待される接種技術開発の方向などについて考えてみたい。

1. 土壌の微生物的緩衝作用

接種微生物の作物根圏への定着は多くの場合決して容易にはえられない。北海道では、大豆に対する有効根粒菌の接種効果が作付歴とともに低下する実態が明らかとなり、その原因は接種菌が根粒形成能の大きな土着根粒菌との競合に勝てないためであることが広範な調査研究によって解明された¹⁾。同様の現象は病原拮抗菌の接種効果に関しても広く認められ、生物的防除技術がかかえる最大の課題となっている²⁾。

このような現象はなぜ起こるのであろうか。土壌中に生息する微生物は、接種菌など新参の微生物に対して孢子発芽、増殖や活性を抑制して既往の微生物社会を維持しようとする機能をもっている。微生

物的緩衝作用ともいうべきこの機能は、糸状菌、放線菌、細菌のいずれに対しても発揮され、Microbiostasis³⁾と呼ばれる。接種菌が土壌や根圏に定着するためには、この微生物的緩衝作用を克服しなければならない。そのメカニズムを解明するためには、反面教師的ではあるが、土壌伝染性病原菌の根圏における増殖、根への感染に關与する土壌条件や作物栄養条件にそのヒントを見出すことができよう。

野菜畑における土壌病害の原因は連作にあるが、常用される蒸気またはくん蒸消毒は土壌微生物相を部分殺菌するので、一時的にせよその微生物的緩衝力を低下させ、かえって病原菌の再汚染と定着を容易にする⁴⁾。病原菌の接種によるクローバーの立枯れ病や根ぐされ病が無消毒土よりも蒸気消毒土で強く発生した例⁵⁾は、消毒によって死滅した土壌微生物相に発病抑止作用のあったことを物語るものであり、また病原菌密度が高くても必ずしも発病に至らない土壌が実在する事実とも相通じるものである。我国では近年、既知の病原菌以外の微生物が原因と推定せざるをえない“新(仮)病害”が増加しているという⁶⁾。同様の現象は海の向うでも発生しており、根圏における病原菌以外の糸状菌の生態に対しても関心が高まっている。これらの菌は、宿主特異性が弱く、環境条件や宿主の栄養条件などによって病原性を発揮したりしなかったりするので、“minor pathogen”と呼ばれている⁷⁾。我国でいわれる“不定性病害”といわれるものに相当しようが、その発生機構の解明は、有用微生物の根圏定着条件に関する貴重な情報となろう。

2. 根圏における微生物的緩衝作用の発現メカニズム

生態系における微生物の相互作用には協調関係と敵対関係とがある。微生物的緩衝作用は後者によつ

Tatsuhiko MATSUGUCHI: Factors regulating colonizations of soil and inoculated microorganisms to the plant rhizosphere.

て発現するので、その中核をなす拮抗作用(Antagonism)について述べたい。

拮抗作用といえばまず抗生物質を挙げなければならない。フレーミングによるペニシリン生産菌の発見以来、幾多の抗生物質生産菌が土壌から分離されてきたが、意外なことに土壌から抗生物質が直接確認されたのは、殺菌した土壌—砂混合培地で *Streptomyces hygroscopicus* が拮抗作用の発現に十分な量の Geldanamycin を生産するという最近の報告⁹⁾ が初めてであろう。抗生物質の他には遊離アンモニア⁹⁾、エチレン⁹⁾とその関連物質である酸化エチレン¹⁰⁾やアリアルアルコール¹¹⁾などの揮発性物質が知られている。一方、不揮発性物質では、蛍光性 *Pseudomonas* (*P. fluorescens* や *P. putida*) が生産する鉄キレート化合物“Siderophore”がとくに根圏で細菌や糸状菌に拮抗作用を示す物質として注目を集めている。この物質は *Alcaligenes* sp. によっても生産され¹²⁾、対象微生物も *Erwinia*¹³⁾、*Trichoderma*¹⁴⁾、*Fusarium*¹⁵⁾ などをはじめ各種の病原菌に及び、作用は非選択的である。Siderophore の拮抗作用は Fe^{3+} の添加によって解消されるが、室内実験の結果によれば Mg^{2+} をはじめ多くの 2 価、1 価陽イオンによっても解消される¹⁵⁾。Siderophore 生産性の蛍光性 *Pseudomonas* は作物根圏での生存力¹⁶⁾、病原拮抗力が強いだけに、その機能の活用に大きな期待が寄せられている。その他、*Trichoderma*、や *Gliocladium* などの糸状菌も拮抗作用を示し¹⁷⁾、なかでも *Sclerotium rolfii* に対する *Trichoderma* sp. の作用は前者が生産するレクチンが認識物質となって発現する¹⁸⁾。以上は活性物質によって発現する拮抗作用であるが、根圏における病原菌の定着・感染が同属や同種の非病原性菌株によっても発現することが最近明らかになってきた。セルリー—黄化病菌 *Fusarium oxysporum* 抑止型土壌から病原菌との相対菌量に応じて感染抑止効果を示す非病原性菌株が検出された例や¹⁹⁾、立枯れ病菌 *Pythium* sp. の孢子発芽と発病が糸状菌寄生性の *Pythium* 菌株によって抑制された例²⁰⁾などが好例であろう。微生物以外ではアメーバ類の捕食作用も拮抗作用の一因として知られている²¹⁾。

このように、土壌や根圏での拮抗作用に関する多くのメカニズムが解析されてきたが、まだ土壌生態系で起こる多様な敵対関係を十分には説明しきれない。 γ 線照射やオートクレーブ殺菌土壌では水溶性 C 化合物が著しく増加し、それに伴って *Penicilli-*

um sp. や *Agrobacterium* sp. に対する拮抗作用が低下する²²⁾。また抗生物質生産菌のいない人工土壌でもそれに糸状菌を接種すると糖やアミノ酸に対する競合が起こり接種菌の孢子発芽は著しく抑制される²³⁾。これらの結果から、エネルギー源に乏しい通常の土壌では養分競合が拮抗作用の最大の要因であるとする説は根強い⁹⁾。

これまでに主としてモデル土壌系における特定微生物間の拮抗作用のメカニズムを中心に述べてきた。しかし、ほ場条件では拮抗微生物の接種効果が再現性に乏しい事実、それにもかかわらず病害抑止型あるいは発病型土壌が現存する事実、さらに連作障害軽減に成功している農家がほぼ例外なく良質の堆きゅう肥を施用している事実、などの一見相矛盾する事実を総括するためには、異なる観点からの考察が必要と考えられる。

筆者らは作物根圏の微生物フロアの全体像と根活性や病原菌感染との関係に、作物や病原菌の種類を超えた次元で何か共通する生態的法則が存在しないかどうかを、有機・無機連用試験ほ場や農家は場で調べた。その結果、作物の種類、作付体系あるいは有機物施用歴などの相異を包括できる次元で、根の糸状菌フロアの多様性の大小と病原菌感染の程度や根群発達の良い否との間に広く有意の相関があることを見出した²⁴⁾。この相関をもたらずメカニズムについては今後の研究を要するが²⁵⁾、微生物種の多様性が増大するほど種間の相互作用の組合せは著しく多元化し、環境変化に対する緩衝力の大きな微生物生態系が形成されよう。このことは根圏微生物生態系の安定性、ないし接種微生物の根圏定着の難易を規制する要因として看過できないように思われる。

3. 微生物の根圏定着力

微生物の根圏定着を考えるには、まず根圏における微生物自体の行動特性について知る必要がある。

1) 微生物の走化性

細菌の多くは鞭毛を持ち、基質となる各種の化学物質(誘引物質)に向って活発な運動性を示す。この性質を走化性(chemotaxis)という。種子や根の分泌物に存在する走化性誘引物質の主要なものは、糖やアミノ酸であり、根圏定着力の大きい *Azospirillum*²⁶⁾ や蛍光性 *Pseudomonas*²⁷⁾ はこれらの物質に対する走化性が大きい。従って同一環境でも走化性の大小により、また同一細菌でも環境の差によつ

て種子や根圏への定着力に大差が生じる。

2) 種子への定着

播種後の種子からは各種の誘引物質が放出されるので、種子表面ではそれに反応して細菌が増殖し、根圏への定着の第一歩となる。*Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp. など57菌株を土壌に接種して大豆を播種した結果、2日後の種子表面の菌密度は *Bacillus* 属で $0 \sim 10^6$, *Pseudomonas putida* で $10^{1.4} \sim 10^7$ となり、同属あるいは同種でも菌株間に大差がみられた²⁸⁾。

3) 根圏への定着

小麦や大豆の根圏では土壌に比較してグラム(一)細菌が10~100倍の菌密度に達し、かつ全細菌数に対する比率も80%前後の高い値を示し²⁹⁾、かつ数種のアミノ酸だけで生育できる単純な栄養要求性のものが多いこと³⁰⁾が知られている。さらに小麦根圏では蛍光性 *Pseudomonas* sp. が多いことも明らかにされた³¹⁾。蛍光性 *Pseudomonas* を中心とするグラム(一)細菌が作物根圏に多いのは、根分泌物に対する走化性が強く、かつ根圏での増殖速度も大きい(世代時間が短い)³²⁾ためである。各種禾本科作物や大豆の根圏から分離した細菌54菌株をトウモロコシに種子接種して土壌に播種し、数週間後に種子及び根圏からの回収を試みた結果、根から回収された接種菌の全てがグラム(一)細菌で、接種した28菌株のグラム(+)細菌は種子にはほぼ定着していたが、根には全く定着していなかった³³⁾。興味深いこの結果は、グラム(一)細菌が、発根、伸長する種子根に沿って次々とコロニーを形成してゆく能力を持つためと考えられる。小麦立枯れ病菌に拮抗性の *Pseudomonas fluorescens* sp. を小麦種子に接種し、根へのコロニー形成をほ場条件で調べた結果、種子根基部 ($10^5 \sim 10^6$ /根1cm) から先端部 ($10^3 \sim 10^5$) にかけて距離とともに少なくなつたが、いずれの部位からも分離され、分離された全蛍光性 *Pseudomonas* の25%を占める旺盛な根圏定着力を示した³⁴⁾。

糸状菌の根への定着について、ソラマメの根への腐生性糸状菌の定着を土壌系と土壌一殺菌パーミキュライト二重層系とで比較した報告がある。その結果によれば、土壌系では根の伸長に伴って急速なコロニー形成がみられたが、後者の系では土壌から殺菌パーミキュライト層へ伸長した根へのコロニー形成は著しく遅かった。この結果から、糸状菌の根への定着は主に土壌から根に向かって横方向に起こることが分る³⁵⁾、従って糸状菌の根への定着は一般には

土壌の糸状菌密度が高い程起こりやすい³⁶⁾。

4. 根への定着に対する環境因子

以上のように、細菌や糸状菌の根圏定着力には走化性、増殖ないし菌糸伸長速度などが密接に関係するので、微生物のこれらの特性を十分に発揮させるためにはそれに適した環境条件が必要となる。

1) 微生物の相互作用

土壌に比べれば各種の養分に富み、高い菌密度が維持される根菌では、微生物間の相互作用の活性も高いと考えなければならない。本稿のはじめに大豆根粒菌接種技術のむずかしさについて述べた。アルファルファでも根粒菌の根粒形成力が弱い場合には共存する *Erwinia herbicola* の阻害作用を受けやすい³⁷⁾。一方、インゲンでは共存する *Pseudomonas putida* が生産する α ケトグルコン酸の土壌リン溶解作用によって根粒形成がむしろ促進される³⁸⁾。このように、根粒形成には、共存微生物と根粒菌との相互作用の影響が大きい。

2) 根分泌作用と土壌条件

根分泌作用とそれに影響する土壌条件の重要性については改めて説明を要しない。エンドウ根圏での根粒菌の増殖に対して、分枝根の形成時に根から分泌されるホモセリンが特異的な促進作用をもつという報告³⁹⁾は、その特異性のゆえに興味深い。土壌水分条件との関係で、マツ苗根の分泌物は水分ポテンシャルの低いほど、糖やアミノ酸の比率が増加し、有機酸の比率が低下する⁴⁰⁾。微生物との関係でみると、大麦や小麦の根分泌量は根圏微生物の存在下で明らかに増加する⁴¹⁾。この結果は無菌条件下での根分泌の研究成果は生態系には余り役立たないことを示し、何とも厄介なことである。しかし、ジベレリン (GA_3) が人工膜の糖や電解質の透過性を著しく増大したり⁴²⁾、根圏微生物相に GA_3 生成菌が存在すること⁴³⁾などを考慮すると、ごく当然の現象といえよう。また、根から放出されるレクチンが *Trichoderma* や *Fusarium* の細胞壁のキチン配糖体と結合して、根への定着を著しく阻害する現象⁴⁴⁾も興味深い。

3) 土壌物理・化学的条件

細菌は土壌孔隙中の水膜に沿って著しい運動性を示すので、その根圏定着に及ぼす土壌水分条件の影響は極めて大きい。土性の異なる土壌を種々の水分ポテンシャルにおいてクローバー根粒菌の移動距離を比較した結果によれば、水分ポテンシャルが高い

ほど飽水孔隙が不連続となるため移動距離は短縮する。短縮の程度は粗粒土壌ほど著しい⁴⁵⁾。小麦立枯病拮抗性細菌 *Bacillus cereus* 及び *B. pumilis* のコロニー生長速度と立枯病菌に対する拮抗作用はいずれも水分ポテンシャルが低いほど大きい結果もえられており⁴⁶⁾、土壌や根圏での細菌の定着が高水分条件ほど有利であることを示している。

遊離アンモニアは高濃度ほど *Cochliobolus* や *Macrophomina* 菌体の分泌作用を促進して致死を早める。低濃度でも処理時間が長くなると生存期間が短縮する⁴⁷⁾。遊離アンモニアは塩類集積土壌やアルカリ性の土壌では窒素多肥に伴って生成されるので、土壌、根圏への糸状菌の定着に及ぼす影響は無視できない。

4) 作物体の栄養条件

これまで、微生物の根圏定着に影響する土壌微生物の生態、および土壌の物理、化学的条件など土壌側の要因について述べた。それに対して、作物体の栄養条件は根分泌作用を左右するので根圏定着に影響する作物側の最大の要因である。とくに塩類集積や塩基バランスの不均衡化が進行している野菜畑⁴⁸⁾では作物体の栄養条件は微生物の根圏への定着を左右する重要な要因と考えざるをえない。

これに関してはキュウリの斑点細菌病に関する知見が注目される。*Pseudomonas* 菌による本病害は抵抗性品種、感受性品種を問わず、窒素多肥とくにアンモニア態窒素の増施に伴って多発する⁴⁹⁾。また、マスクメロンおよびトマトのネコブセンチュウ抵抗性品種と感受性品種の体内塩基バランス (Ca+Mg/K 比) を比較すると、両作物とも抵抗性品種群が感受性品種群よりも明らかに高い値を示した⁵⁰⁾。これらの現象は、クロロピクリン消毒や硝化抑制剤入り肥料の多用によるアンモニア態窒素の土壌集積、多肥や家畜ふん尿多用による交換性カリの過剰集積などが、作物栄養条件ひいては根分泌作用に影響し、特定微生物の根圏における定着と著しい増殖を容易にしている結果にほかならない。

根圏定着条件は有用微生物、有害微生物の両者に共通する部分が多く、両刃の剣なのである。

5. 微生物接種技術

最近各種の微生物資材が土壌改良資材の一つとして、衆目の関心を集めているが、施用効果の確実性に関しては強い疑問が投げかけられている。そこで

本稿の縮くくりとして、この問題を念頭におきながら、有用微生物の接種技術に関する私見を少し述べてみたい。

有用微生物の接種効果が再現性に乏しい最大の理由は、既に述べたように、土壌微生物が示す微生物的緩衝力 (Microbiostasis) や土壌条件、とくに養分および水分条件が接種菌の行動制限因子になっているためと考えられる。従って接種効果の向上を図るには、両者の適正調節が必要となる。

微生物的緩衝力の適正調節⁵¹⁾は、適度の土壌消毒^{52, 53)}や、殺菌剤及び殺菌剤耐性の強い有用菌を2重コーティングした種子を用いる⁵⁴⁾、などの方法により、いずれもかなりの効果がえられている。さらに尿素⁵⁴⁾やジベレリン (GA₃)⁵⁵⁾ などの葉面散布により、それぞれトウモロコシや落花生の根圏での有用接種菌の定着促進、有害菌の制御に成功している。化学物質の葉面散布は立毛中の根圏環境を選択的に制御しうる唯一の方法と考えられるので接種効果を上げるための補助手段としての活用性は大きい。

堆きゅう肥は“微生物資材”ではないが、有用微生物の担体として勝れた資材である。堆きゅう肥や乾そう牛ふんの根圏局所施用により根圏微生物相の改良と作物の生育促進に成功した事例もある^{56, 57)}。今後ともこの面からの資材品質や、施用法の改善などが望まれる。根圏局所施用法を用いれば、格段の少量施用で効果が上るので経済性の面でのメリットも極めて大きい。

土壌条件については、とくに塩類集積、有機物施用量の減少、土壌消毒、浅耕化などに伴う微生物活性や土壌水分特性の変化などを解明し、接種効果を上げるための具体的対策を立てる必要がある。

(農業研究センター畑土壌肥料研究室長)

引用文献

- 1) 石井忠雄 (1983): 北海道土肥通信 85, 1~10
- 2) Kommedahl, T. and C. E. Windels (1981): Biological Control in Crop Production (Beltsville Symposia in Agricultural Research 5. Allanheld, Osmun Publishers, Granada) p. 227~248.
- 3) Lockwood, J. L. (1984): FFTC Book Series 26, 159~174.
- 4) 堀兼明 (1986): 施設園芸, 昭 61. 4月号, 1~4.
- 5) Greenhalgh, F. C. and S. E. Lucas (1984): Soil Biol. Biochem. 16, 87~88.
- 6) 渡辺文吉郎 (1981): 植物防疫 35, 3~7.
- 7) Salt, G. A. (1979): Soil-Borne Plant Pa-

- thogens (Schippers & Gams 編, Acad, Press) p.289~312.
- 8) Rothrock, C. S. and D. Gottlieb (1984): *Can. J. Microbiol.* 30, 1440~1447.
 - 9) Smith, A. M. (1973): *Nature* 246, 311~313.
 - 10) de Bont, J. A. M. and R. A. J. M. Albers (1976): *Antonie van Leeuwenhoek* 42, 73~80.
 - 11) Balis, C. (1976): *Nature* 259, 112~114.
 - 12) Yuen, G. Y. and M. N. Schroth (1986): *Phytopathol.* 76, 171~176.
 - 13) Kloepper, J. W. 他 (1980): *Nature* 286, 885~886.
 - 14) Hubbard, J. P. 他 (1983): *Phytopathol.* 73, 655~659.
 - 15) Elad, Y. and R. Baker (1985): *Phytopathol.* 75, 1047~1052.
 - 16) Rouatt, J. W. 他 (1963): *Can. J. Microbiol.* 9, 227~236.
 - 17) Papavizas, G. C. (1985): *Ann. Rev. Phytopathol.* 23, 23~54.
 - 18) Elad, Y. and I. J. Misaghi (1985): *Chemically mediated interactions between plants and other organisms* (G. A. Cooper-Driver 他編, Plenum Press), 21~46.
 - 19) Schneider, R. W. (1984): *Phytopathol.* 74, 646~653.
 - 20) Lifshitz, R. 他 (1984): *Phytopathol.* 74, 1054~1061.
 - 21) Chakraborty, S. (1983): *Soil Biol. Biochem.* 15, 661~664.
 - 22) Lynch, J. M. (1982): *J. Gen. Microbiol.* 128, 405~410.
 - 23) Ho, W. C. and W. H. Ko (1986): *J. Gen. Microbiol.* 132, 2807~2815.
 - 24) 松口龍彦・新田恒雄 (1983): *日土肥学会講要集*, 29, 45.
 - 25) Atlas, R. M. (1984): *Current Perspectives in Microbial Ecology* (*Am. Soc. Microbiol.*), 540~545.
 - 26) Heinrich, D. and D. Hess (1985): *Can. J. Microbiol.* 31, 26~31.
 - 27) Scher, F. M. 他 (1985): *Can. J. Microbiol.* 31, 570~574.
 - 28) Kloepper, J. W. 他 (1985): *Can. J. Microbiol.* 31, 926~929.
 - 29) Rouatt, J. W. 他 (1963): *Can. J. Microbiol.* 9, 227~236.
 - 30) Katznelson, H. and J. W. Rouatt (1957): *Can. J. Microbiol.* 3, 265~269.
 - 31) Rovira, A. D. and D. C. Sands (1971): *J. Appl. Bact.* 34, 253~259, 1971.
 - 32) Bowen, G. D. and A. D. Rovira (1976): *Ann. Rev. Phytopathol.* 14, 121~144.
 - 33) Scher, F. M. 他 (1984): *Can. J. Microbiol.* 30, 151~157.
 - 34) Weller, D. M. (1984): *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 897~899.
 - 35) Taylor, G. S. and D. Parkinson (1961): *Plant Soil*, 15, 261~267.
 - 36) Wilkinson, H. T. 他 (1985): *Phytopathol.* 75, 98~103.
 - 37) Handelsman, J. and W. J. Brill (1985): *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 818~821.
 - 38) Grimes, H. D. and M. S. Mount (1984): *Soil Biol. Biochem.* 16, 27~30.
 - 39) van Egeraat, A. W. S. M. (1975): *Plant Soil*, 42, 381~386.
 - 40) Reid, C. P. P. (1974): *Plant Physiol.* 54, 44~49.
 - 41) Barber, D. A. and J. K. Martin (1976): *New Phytol.* 76, 69~80.
 - 42) Wood, A. and L. G. Paleg (1972): *Plant Physiol.* 50, 103~108.
 - 43) Barea, J. M. and M. E. Brown (1974): *J. Appl. Bact.* 37, 583~593.
 - 44) Mirelman, D. 他 (1975): *Nature* 256, 414~416.
 - 45) Hamdi, Y. A. (1971): *Soil Biol. Biochem.* 3, 121~126.
 - 46) Campbell, R. and A. Clor (1985): *Soil Biol. Biochem.* 17, 441~446.
 - 47) Chun, D. 他 (1984): *Can. J. Bot.* 62, 1220~1226.
 - 48) 千葉県農林部 (1984): 千葉県耕地土壌の実態, 地力保全基本調査成績及び土壌環境基礎調査定点土壌調査結果.
 - 49) 浅川征男 (1985): *北海道土肥通信* 87, 2~8.
 - 50) Bains, S. S. 他 (1984): *Plant Soil*, 81, 69~74.
 - 51) Dupler, M. and R. Bakar (1984): *Phytopathol.* 74, 195~200.
 - 52) Tommerup, I. C. (1985): *Trans. Br. Mycol. Soc.* 85, 267~278.
 - 53) Bashan, Y. (1986): *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1067~1071.
 - 54) Mendez-Castro, F. A. and M. Alexander (1983): *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 248~251.
 - 55) Hale, M. G. and L. D. Moore (1983): *Soil Biol. Biochem.* 15, 609~610.
 - 56) 新田恒雄 (1986): 有機物研究の新しい展望 (日本土肥学会編, 博友社) 43~84.
 - 57) 清水寛二 (1983): *植物防疫* 37, 319~322.