

ダイズにおけるVA菌根菌の感染特性に関する研究

誌名	日本大学農獣医学部学術研究報告
ISSN	00780839
著者	磯部, 勝孝 藤井, 秀昭 坪木, 良雄
巻/号	49号
掲載ページ	p. 1-6
発行年月	1992年3月

Studies on Infection Characteristics of VA-mycorrhizal Fungi in Soybean Plants

Katsunori ISOBE, Hideaki FUJII and Yoshio TSUBOKI

Lab. Crop. Science, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ., 1866 Kameino Fujisawa-shi Kanagawa

(Accepted Oct. 24, 1991)

Abstract: In this paper we reported on infection characteristics of VA-mycorrhizal fungi in soybean plants.

1. The VA-mycorrhizal infection rate was strongly influenced by the root diameter. The highest infection was observed in the roots with a diameter of the order of 333.3~366.7 μ m.
2. VA-mycorrhizal rates were higher in soybean plants grown in pot than those grown in the field.
3. The VA-mycorrhizal rate declined markedly as the depth from soil surface increased.
4. There was a higher correlation between the VA-mycorrhizal rate of the root which had a diameter of the order of 200.0~366.7 μ m and that of all roots.

Key words: Infection, Root, Root diameter, Soybean, VA-mycorrhizal fungi

ダイズにおける VA 菌根菌の感染特性に関する研究

磯部 勝孝・藤井 秀昭・坪木 良雄

日本大学農獣医学部 作物学研究室

(1991年10月24日受理)

VA 菌根菌 (以下, VAMF) は様々な作物の根に感染し, 土壌からリンを吸収して宿主作物に供給することが知られている [1, 2]。さらに, 感染によって作物の耐乾性や耐病性が向上することも報告されている [3-6]。ことから, 現在 VAMF を実際の農業場面に利用しようとする試みがなされている [7, 8] と同時に, VAMF の生態についても解明されつつある [9]。

VAMF の作物に対する影響やその生態を調べる上で, VAMF の感染状況, とりわけ感染率を正確に把握することは極めて重要であると思われる。現在, 感染率を測定する方法には根の直接視覚的な 4 つの方法が知られている [10]。そのうち, Gridline intersect method は正確さの点で最も優れている [10]。そこで本報では, VAMF の感染率をより正確に測定するために考慮すべき VAMF の感染特性について調べたので報告

する。

材料および方法

実験 1 根の次数, 部位および直径別の感染率について

1990年6月4日, 1/5,000a ワグネルポットにダイズ (品種: エンレイ以下同様) を 1 粒播きとした後, そのポットを畦間 70cm, 株間 20cm に配置し自然条件下で育成した。調査は播種後 30, 60 および 90 日目に生育良好な 4 個体を選んで行った。材料の採取は, ポットから根を取り出し軽く水洗いした後, 次数別に分類し, その中から先端が健全なものを選んで先端から 1cm ごとの長さに切り, その切片を加水分解 (10% KOH で約 1 時間煮る) し, 漂白 (3% H₂O₂)、水洗後, トリパンブルーを加えたラクトフェノールで染色した。そして, その根

径を測定すると同時に Gridline intersect method[10]により VAMF の感染率を測定した。なお本調査は、2～4 次の側根のみで、2 次根は先端から 5cm まで、3 次根は 3cm、4 次根は 1cm までとした。

実験 2 栽培ポットの大きさおよび地表面からの深さによる感染率の違いについて

栽培ポットの大きさによる感染率の違いを調べるために、6 月 4 日に 1/5,000a、1/2,000a ワグネルポットおよび圃場条件（畦間 70cm、株間 20cm）下に 1 粒播きとしたダイズを用いて比較した。調査は播種後 65 および 100 日目に 4 個体ごとについて行った。根の採取は根の回数に関係なく細根のみとした。また、地表面からの深さによる感染率の違いを調べるために 1/5,000a ワグネルポットで育成したダイズの根を播種後 86 日目と 110 日目に採取し、その根系を深さ 0～5cm、5～10cm および 10cm 以下に分け各層の中から細根を選び感染率を測定した。なお、根の加水分解、漂白、染色法は実験 1 と同様である。

実験 3 感染率の個体間差の調査

材料の育成は、1991 年 2 月 6 日に 1/5,000a ワグネルポットに 1 粒播きとしたダイズを、自然日長下で気温が昼（6 時～18 時）25℃ と夜（18 時～6 時）20℃ 条件下のグロスチャンパー内で行った。調査は、播種後 28 日目と 50 日目にそれぞれ 10 個体について行い、根の採取は、深さ 5cm までの根の中から根径や回数に関係なくランダムに行った。なお、根の加水分解、漂白、染色法は実験 1 と同様である。

実験は、いずれも付属農場で行い、1990 年 5 月の調査では供試圃場の土壌から確認された VAMF の胞子は、*Glomus* 属（6 種：未同定）を中心に、*Acaulospora scrobiculata*、*Gigaspora margarita* および *Scutellispora gregaria* の計 9 種であった。

結 果

実験 1 ダイズの根の VAMF 感染率は Table 1 に根の回数別および部位別に示した。その結果、2 次根と 3 次根の感染率は、根の先端からの距離が異なっても差はなかった。また、感染率の推移は 2 次根と 3・4 次根で異なり、2 次根では播種後 60 日目まではほとんど感染しなかったが、90 日目に感染率が約 10% となった。これに対し、3・4 次根の感染率は 30 日目ですでに 10% 前後で、その後もダイズの生育に伴い高まった。さらに、3 次根全体の平均感染率と 4 次根の感染率の推移の傾向は、ほぼ同様であった (Fig. 1)。

次に根の回数ごとの感染率を根径別に示したものが Table 2 である。各回数別を問わず、いずれの時期に

Table 1 VA-mycorrhizal rate of lateral roots

Order of lateral roots	Distance from the extremity (cm)	Days after sowing		
		30	60	90
2	0-1	2.8%	0.9%	8.3%
	1-2	1.1	0.4	10.8
	2-3	1.0	0.5	8.6
	3-4	0.0	0.0	8.1
	4-5	0.9	0.0	11.0
3	0-1	6.0	16.9	27.9
	1-2	13.7	18.0	26.0
	2-3	7.4	19.5	25.7
4	0-1	10.8	20.1	26.7

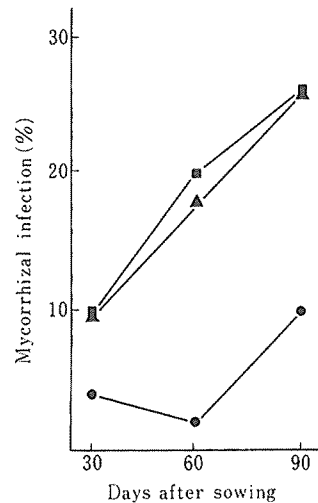


Fig. 1 VA-mycorrhizal infection rate in lateral roots of different orders.

- : Secondary root.
- ▲: Tertiary root.
- : Root of fourth.

おいても最も高かったのは 200.0～366.7 μm の太さの根で、これより細い根や太い根では感染率は低下した。

実験 2 ポットと圃場条件下で栽培したダイズの VAMF 感染率は Table 3 に示した。いずれの調査日でも圃場栽培のものよりポット栽培の方が感染率は高かった。また、ポットの大きさによる違いでは一定の傾向は認められなかった。

地表面からの深さによる VAMF 感染率の違いは、Table 4 に示した。播種後 86 日目では地表面より 0～5cm の根が最も高く、深くなるにつれて感染率は低下する傾向があり、110 日目でも地表面より 0～5cm の根は他より高かった。しかし、5～10cm と 10～20cm の層の比較では下層の 10～20cm の方が高かった。

Table 2 VA-mycorrhizal rate in lateral roots of different orders and sizes

Order of lateral roots	Days after sowing	Range of root diameter (μm)					Average
		~200.0	200.0~	366.7~	533.3~	700.0~	
2	90	0.0%	14.2%	8.8%	9.0%	2.1%	10.3%
3	30	0.0	10.6	0.0	0.0	--*	9.1
	60	0.0	19.0	10.7	--	--	18.1
	90	12.5	29.7	17.2	0.0	--	27.1
4	30	7.6	11.3	0.0	--	--	10.8
	60	0.0	22.0	--	--	--	20.1
	90	24.1	30.9	--	--	--	26.7

* Not detected.

Table 3 Influence of a difference in culture condition on VA-mycorrhizal rate

Culture condition	Days after sowing	
	65	100
Field	15.8%	20.7%
1/2,000 a pot	21.1	22.5
1/5,000 a pot	20.0	26.0

Table 4 VA-mycorrhizal rate in roots from various depths in the soil

Depths of sampling (cm)	Days after sowing	
	86	110
0~5	30.6%	42.2%
5~10	26.1	23.6
10~	22.4	30.0

実験 3 播種後28日目と50日目のダイズの個体別感染率は、Table 5 と 6 に示した。28日目の10個体の総平均では、11.4%で、同日の個体別の最高感染率は25.0%で最低は5.1%であった。同様に、50日目の総平均、最高および最低の感染率はそれぞれ15.3、20.0および5.6%であった。また、根径別では両日とも最も感染率の高かったのは200.0~366.7 μm 根で、これより細かい根や太い根では感染率は低下した。さらに200.0~366.7 μm の根の感染率とすべての根の平均感染率との間には極めて高い正の相関関係 ($\gamma=0.997$: 28日目, $\gamma=0.998$: 50日目で、いずれも0.1% レベルで有意) が認められた。

次に、200.0~366.7 μm の根について根径と感染率の分布を詳しくみたのが、Fig. 2, 3である。すなわち、両日とも根径の分布はほぼ同様な傾向で、いずれも266.7~300.0 μm の割合が高くこれより細かったり太かったりするにつれて分布割合は低下した。これに対し、感染率は両日とも333.3~366.7 μm の根が最も高く、そ

Table 5 Individuals VA-mycorrhizal rate in 28 day soybean plants

No.	Root diameter (μm)			Average*
	~200.0	200.0~	366.7~	
1	0.0%	26.0%	16.7%	25.0%
2	0.0	14.9	0.0	14.1
3	0.0	14.2	0.0	13.3
4	0.0	14.5	0.0	12.9
5	0.0	11.8	20.0	12.2
6	0.0	7.9	0.0	7.3
7	0.0	7.5	0.0	7.0
8	0.0	6.1	0.0	5.9
9	0.0	6.1	0.0	5.6
10	0.0	5.6	0.0	5.1
Average*	0.0	12.0	5.2	11.4

* Averages are not simple averages of three or ten figures because the distribution of root diameters and the measured real number of individual plants are different.

Table 6 Individuals VA-mycorrhizal rate in 50 day soybean plants

No.	Root diameter (μm)			Average*
	~200.0	200.0~	366.7~	
1	0.0%	29.6%	16.7%	28.0%
2	0.0	26.9	40.0	27.3
3	0.0	18.9	0.0	17.5
4	0.0	16.9	0.0	16.5
5	0.0	13.8	0.0	13.6
6	0.0	11.8	0.0	11.2
7	0.0	9.4	0.0	9.0
8	0.0	8.4	0.0	8.1
9	0.0	6.8	0.0	6.5
10	20.0	5.4	0.0	5.6
Average*	6.7	15.6	10.2	15.3

* Averages are not simple averages of three or ten figures because the distribution of root diameters and the measured real number of individual plants are different.

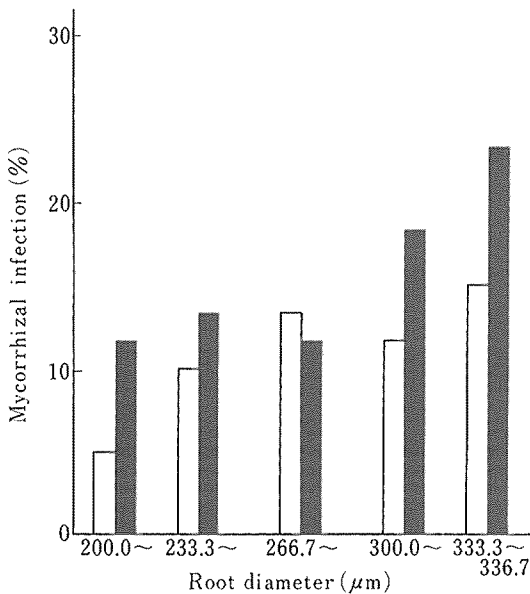


Fig. 2 VA-mycorrhizal rate in lateral roots of different sizes.

□: 28days after sowing.
■: 50days after sowing.

れより細くなるにつれて感染率は低下した。

考 察

実験1から明らかなように、ダイズの2次根と3次根では部位による感染率の差はなかった。また、3次根と4次根の感染率の日数の推移は、ほぼ同様であったが、2次根では大きく異なり、播種後60日目まではほとんど感染が認められなかったが、60日以降に感染率が上昇した (Table1, Fig. 1)。さらに、次数別の感染率を根径別でみると、いずれの時期、いずれの次数とも200.0~366.7 μmの根径の根の感染率が最も高く、これより太いものや、細いものは感染率が低かった (Table2)。このことからダイズの根でVAMFが最も感染しやすいのは根径が200.0~366.7 μmの根であると思われた。さらに実験3ではこの範囲にある根を詳しく調査した結果、同範囲内における根径の分布は266.7~300.0 μmをピークにこれより太かったり細かったりするにつれて分布割合は低下していた。これに対し、感染率が最も高かったのは、333.3~366.7 μmの根で、根径の分布と感染の分布とは必ずしも同じ傾向を示さなかった。これはダイズの場合、VAMFは200.0~366.7 μmの根径の中でも特に333.3~366.7 μmに感染しやすいことを示すものと思われる。そこで、2次根の感染率の推移が3・4次根と大きく異なっていたことを、各次数の根の根径の

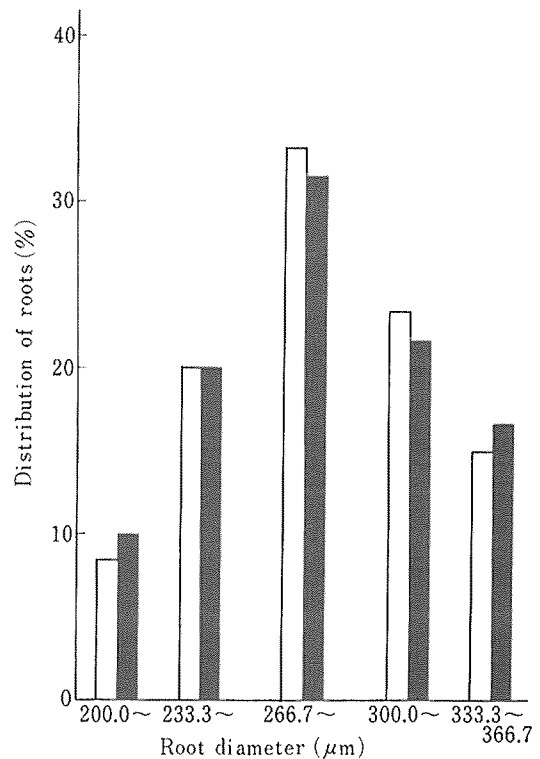


Fig. 3 Distribution of roots by root diameter.

□: 28days after sowing.
■: 50days after sowing.

分布の違いによるものと考え、Table 7に各次数根の根径分布を示した。表でも明らかなように、3次根と4次根では200.0~366.7 μmの根の割合は4次根の90日目を除いていずれも90%前後と高かった。これに対し、2次根ではその割合が、30日目で2.2%、60日目で15.0%、90日目でも38.8%と、いずれも3・4次根に比べ著しく低かった。このことから2次根のVAMF感染率が3・4次根と比較して低かったのは、VAMFが感染しやすいと考えられる200.0~366.7 μmの根の割合が著しく低いからであろうと思われる。過去の同様な研究として、REINHARDT & MILLERはイネ科牧草の太さ1mm以上の根ではコルク化が著しくほとんど感染が認められず、また1mm以下では細くなるにつれて感染しにくく、特に0.075mm以下では急激に低下したと報告している[11]。また、St. JOHNは数種の熱帯樹木の根径とVAMFの感染程度について調べ、0.3mm以下の根が多い樹木ほど感染が著しかったとしている[12]。以上のことから、種々の作物ではVAMFの感染は、いずれも根径に左右され、最も感染しやすい根径は作物の種類によって異なるようである。しかし、本実験では作物の種

Table 7 Distribution of different orders of lateral roots by root diameter

Order of lateral roots	Days after sowing	Range of root diameter (μm)				
		~200.0	200.0~	366.7~	533.3~	700.0~
2	30	—*	2.2%	48.9%	40.0%	8.9%
	60	—	15.0	42.5	34.5	8.0
	90	2.9	38.8	35.0	17.1	6.2
3	30	1.0	86.3	12.2	0.5	—
	60	0.8	90.8	8.4	—	—
	90	2.3	80.3	17.1	0.3	—
4	30	5.0	91.2	3.8	—	—
	60	11.0	89.0	—	—	—
	90	60.1	39.9	—	—	—

* Not detected.

類によるVAMFの感染がしやすいか否かの根径を明らかにすることはできなかったが、REINHARDT & MILLER[11]も述べているように、根のコルク化、木化程度および皮層の発達程度など、根の構造的な要因がVAMFの感染に影響しているようであることは間違いない。

WARNERは、根の密度とVAMFの感染率の関係を調べ、根の密度が高い方が感染に有利と報告し[13]、JAKOBSEN & NIELSENは逆に、感染率と根の密度の間には負の相関関係があるとしている[14]。さらに、SUTTONは圃場条件とポットを用いた制御環境下で生育した場合の菌根の発達経過では、ほぼ同様であったとしている[15]。このように根の密度と感染率の関係については、研究者によりその結論は様々である。そこで実験2ではポットと圃場で栽培したダイズのVAMF感染率を比較した結果、ポット栽培の方がいずれの調査日でも感染率が高かった。これは、ダイズを1/2,000aまたは1/5,000aポットで栽培した結果、ポット内の根の伸長域が制限され、根の密度が高まり菌体と根の遭遇する機会が増加し、VAMFの感染が促進されたのではないかとと思われる。一般に作物に対するVAMFの影響を調べる場合、ポットを用いる場合が多い。しかし、本報の結果からポット栽培におけるVAMFの感染状況は圃場栽培の感染状況とは若干異なり、やや高くなるのではないかとと思われる。

SUTTONは、インゲンとトウモロコシの菌根の多くは地表面より20cmまでに集中し、それ以下ではVAMFの感染は急激に低下して、さらに50cm以下では菌根は認められなかったと報告している[15]。また、JAKOBSEN & NIELSENは深さ40cm以下でVAMFの感染率が急激に低下するのは、孢子数の減少によるものとしている[14]。本実験は圃場の表土を良く耕起した後、ポットに均一につめたので、ポット内のVAMF胞

子はほぼ均一に分布しているものと考えられる。しかし、結果は深さによって感染率が大きく異なった。このことからVAMFの感染は土壤中の孢子数だけではなく、土壤中の様々な環境要因（土壌養分、物理性など）によっても左右され、結果的に根の深さによって感染率が異なったのではないかとと思われる。従って、処理区間のVAMF感染率を比較する際、根の深さを考慮するか、または根系全体から均一にサンプルを採取することが重要と思われる。

実験3でダイズの個別感染率を調べた結果、播種後28日目では5.1~25.0%、50日目では5.6~28.0%の範囲であった。このことから平均的な感染率を正確に把握するには1回の調査で1処理区当たり10個体近くをサンプルとする必要があると思われる。また、根径が200.0~366.7 μm 根の感染率と個体全体の感染率との間には高い正の相関関係を認めたことから、200.0~366.7 μm の根の感染率を調べれば、その個体の感染状況を把握することができるのではないかとと思われる。

以上のように、ダイズの根へのVAMFの感染は回数や部位より根径によって大きく左右され、最も感染しやすいのは333.3~366.7 μm の根であることが認められた。また、地表面から深くなればなるほど感染しにくくなるものと思われる。さらに、ポット栽培のダイズは根の密度が高まることから、圃場での通常の栽培密度で栽培したものより感染率が高まるものと思われる。従って、ダイズのVAMF感染率を正確に測定するには少なくとも1処理区につき10個体近くの個体を用い、材料の根の採取は各個体の根系全体かまたは特定の層から200.0~366.7 μm の太さの根に限って行うことが重要である。また、ポット試験の場合、その結果は必ずしも圃場での結果を的確に表すものではないと思われる。

摘 要

ダイズのVA菌根菌の感染率を測定するために考慮すべき感染特性をGridline intersect methodによって調べた。

1. ダイズの根におけるVA菌根菌の感染率は、根径の違いによって大きく異なり、333.3~336.7 μ mの太さの根に最も感染しやすいことを認めた。
2. VA菌根菌の感染率は、ポット栽培の方が圃場栽培のものより高かった。
3. 感染率は、地表面から深くなるほど低下した。
4. 200.0~366.7 μ mの根径の根の感染率は、個体全体の平均感染率と高い正の相関関係があった。

(本研究の一部は日本作物学会第191回講演会において発表した。)

文 献

- 1 SMITH, S. E. 1982: Inflow of phosphate into mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of *Trifolium subterraneum* at different levels of soil phosphate. *New Phytol.*, 90, 293-303.
- 2 HAYMAN, D. S. and MOSSE, B. 1979: Improved growth of white clover in hill grasslands by mycorrhizal inoculation. *Ann. appl. Biol.*, 93, 141-148.
- 3 SAFIR, G. R., BOYER, J. S. and GERDEMANN, J. W. 1972: Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Plant Physiol.*, 49, 700-703.
- 4 HARDIE, K. and LEYTON, L. 1981: The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover I In phosphate deficient soil. *New Phytol.*, 89, 599-608.
- 5 DAVIS, R. M. and MENGE, J. A. 1981: *Phytophthora parasitica* inoculation and intensity of vesicular-arbuscular mycorrhizae in citrus. *New Phytol.*, 87, 705-715.
- 6 BALTRUSCHAT, H. and SCHÖNBECK, F. 1972: Untersuchungen über den einfluß der endotrophen mycorrhiza auf die chlamydosporenbildung von *Thielaviopsis basicola* in Tabakwurzeln. *Phytopath. Z.*, 74, 358-361.
- 7 ABBOTT, L. K. and ROBSON, A. D. 1982: The role of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. *Aust. J. Agric. Res.*, 33, 389-408.
- 8 HAYMAN, D. S., MORRIS, E. J. and PAGE, R. J. 1981: Methods for inoculating field crops with mycorrhizal fungi. *Ann. appl. Biol.*, 99, 247-253.
- 9 SIQUEIRA, J. O., SYLVIA, D. M., GIBSON, J. and HUBBELL, D. H. 1985: Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Microbiol.*, 31, 965-972.
- 10 GIOVANNETTI, M. and MOSSE, B. 1980: An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84, 489-500.
- 11 REINHARDT, D. R. and MILLER, R. M. 1990: Size classes of root diameter and mycorrhizal fungal colonization in two temperate grassland and communities. *New Phytol.*, 116, 129-136.
- 12 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.
- 13 WARNER, A. 1980: Spread of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Ph. D. Thesis, University of London.
- 14 JAKOBSEN, I. and NIELSEN, N. E. 1983: Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field-grown crops I. Mycorrhizal infection in cereals and peas at various times and soil depths. *New Phytol.*, 93, 401-413.
- 15 SUTTON, J. C. 1973: Development of vesicular-arbuscular mycorrhizae in crop plants. *Can. J. Bot.*, 51, 2487-2493.