

学 位 論 文 題 名

Arbuscular 菌根菌を接種した菌根性および
非菌根性作物にみられる生長促進効果に関する研究

学位論文内容の要旨

近年、持続可能な環境保全型農業の実現のために、農薬や化学肥料を極力使わない有機農業が注目され、菌類による自然循環機能を作物栽培に利用しようという微生物農法に関心と期待が寄せられている。微生物資材の中でも Arbuscular 菌根菌（AM 菌）は明確な効果が期待できることから、園芸作物栽培での育苗や、施設園芸での利用が始まっている。これまでの研究によって、AM 菌との共生関係を成立させる菌根性作物では明確な生長促進効果が現れ、AM 菌との共生関係を成立させない非菌根性作物では生長促進効果は認められないとされていた。ところが本研究の中で、非菌根性作物であるキャベツを用いた場合、AM 菌の感染は認められないに関わらず、生長が促進されるという事実直面した。

そこで本研究では、菌根性作物としてアスパラガスを材料に、組織内成分含量ならびにそれに関連した酵素活性を測定し、AM 菌が感染した植物体の生理的な変化に着目して生長促進効果の解析を行った。一方、非菌根性作物としてキャベツを材料に、AM 菌が感染していない植物体でもたらされた生長促進効果の要因について、組織内成分の変化、さらにキャベツ実生の根の表面殺菌後に検出される糸状菌（根内糸状菌）に着目して検討を行った。

本論文の要旨は、以下の通りである。

I. AM 菌の形態観察ならびに核 DNA 量の変化

AM 菌を各種顕微鏡で観察したところ、胞子内および菌糸に大量の核が観察された。また、補助細胞や胞子嚢様器官内にも核の存在が認められた。フローサイトメトリーによる分析から、休眠胞子内には DNA 量が C, 2C, 3C と 3 種類の核が確認され、それらの核は、胞子の発芽とともに減少し、菌糸へと移行したことが認められた。この観察は、AM 菌の生長促進効果に重要なリンの輸送に、胞子内および菌糸内の DNA が関与していることを示唆するものである。

II. AM 菌の感染による菌根性作物の生長促進

土壌への 4 段階のリン施用量 (P0, P20, P100 および P500) を設定し、アスパラガス実生への AM 菌接種試験を行った。AM 菌が感染したアスパラガスにおいて、生長促進効果が認められ、その効果はリン肥料を施用することで増大したが、適正施用量を大幅に超える P500 (500 mg P₂O₅/100 g 乾土) では生長が抑えられ、AM 菌の感染率ならびに接種効果も抑えられた。擬葉、主茎および吸収根においては、乾物重と単位

乾物重あたりの糖含量との間に負の相関が認められた ($P<0.01$)。一方貯蔵根においては、乾物重の増加にともない糖含量が増加した。

糖代謝関連酵素の活性を調査したところ、分解酵素に分類されるインベルターゼおよび β -フルクトシダーゼは、AM 菌の感染によって主に地上部で活性が増大した。一方合成酵素に分類されるスクロース：スクロース 1^F-フルクトシルトランスフェラーゼおよび 1^F-フルクトシルトランスフェラーゼは AM 菌の感染によって主に地下部で活性が抑制された。以上のことから、AM 菌の感染により、植物体内で低次の糖が増加する方向に糖代謝関連酵素の活性が変換され、エネルギー源として糖が利用しやすくなったと考えられる。

擬葉におけるクロロフィル含量は、土壤がリン欠乏の場合にのみ AM 菌の感染によって顕著に増加し、リンが十分に土壤に存在する場合には、クロロフィル含量の変化はみられなかった。土壤中のリンの多少に関わらず、AM 菌が感染したアスパラガスの光合成関連組織においては、旺盛な光合成能が発揮されていることが考えられた。

AM 菌の感染によって、貯蔵根および吸収根における遊離アミノ酸含量および可溶性タンパク質含量が増加した。このことは、アスパラガスでは貯蔵根に炭素源としての糖の蓄積に加え、窒素源としてタンパク質やアミノ酸を蓄積することを示している。また、酵素や構造タンパク質の増加、および遊離したアミノ酸の増加に伴い、組織内における各種代謝が活発化したことが考えられる。

貯蔵根や吸収根におけるホスファターゼ活性の増大は組織中への遊離したリン酸の増加をもたらし、感染によって AM 菌から受け取ったリンが組織中を移動しやすくなったことを示している。

以上の結果、AM 菌が感染したアスパラガスの実生においては、代謝や構造に関わる種々の物質が、組織中で転流・分配しやすい形態に変換され、活発に利用された結果、生長が促進したものと考えられる。

III. AM 菌を接種した非菌根性作物の生長促進

非菌根性作物であるキャベツの実生に AM 菌を接種したところ、AM 菌の感染は認められなかったにも関わらず、生長が促進された。接種試験の作業行程の中で AM 菌以外の要因が作用した可能性が考えられたが、検討の結果、それらの可能性は除去された。資材の種類、AM 菌の菌種による差はあったものの、AM 菌が含まれる資材の接種により生長促進が明確になった。キャベツにおいては、組織内糖含量および遊離アミノ酸含量に、アスパラガスで認められたような AM 菌の感染による変化は認められなかった。

生長が促進されたキャベツ実生の根を表面殺菌し、根内から検出された糸状菌（根内糸状菌）を単離し、それらの糸状菌を単独でキャベツ実生に接種したところ、いくつかは無接種のものと比較して実生の生長が促進された。無接種区から単離された糸状菌の接種では、実生の生長は促進されないか、抑制する菌株も認められた。AM 菌資材を接種すると、単離した糸状菌単独の場合よりも生長は促進されたことから、AM 菌とそれらの糸状菌との相互作用、あるいは糸状菌同士の相互作用が植物の生長にとって有利に働くことが示唆された。他の非菌根性作物として、ハウレンソウ、ソバ、ハクサイの実生に対する接種試験を行ったが、生長促進はみられず、場合によっては抑制効果も認められ、キャベツの実生とは異なる反応を示した。AM 菌接種による反応が植物種によって異なったのは、土壤中の微生物が作り出す根圏環境と植物との親和性の差および生育環境（温度、水分条件など）の差違によるものと考えられ、今後の重要なテーマとなろう。

本研究の結果から，AM 菌の接種による，感染を経由した植物体の生長促進と，感染を経由しない生長促進には，異なる機構が作用していることが示された．今後，植物組織内，および根圏に対する園芸生態学的なアプローチにより，新たな微生物利用法の提案や，自然生態系における植物と微生物との相互作用の解析に役立つものとする．

学位論文審査の要旨

主査	教授	大澤	勝次
副査	教授	富田	房男
副査	教授	内藤	繁男
副査	助教授	増田	清

学位論文題名

Arbuscular 菌根菌を接種した菌根性および 非菌根性作物にみられる生長促進効果に関する研究

本論文は4章からなり、図 41, 表 19, 引用文献 107 を含む、総頁数 130 の和文論文であり、他に参考論文 3 編が付されている。

近年、持続可能な環境保全型農業の実現のために、菌類による自然循環機能の活用が注目され、微生物農法への関心と期待が高まっている。中でも菌根菌は、植物との共生関係を成立させ、その植物に生長促進効果を示すので、施設園芸や育苗への利用が始まっている。これまでの知見では、菌根菌が感染せず、共生関係が成立しないアブラナ科植物などには生長促進効果は無いものと考えられていた。ところが、Arbuscular 菌根菌（AM菌）を用いた本実験中に、非菌根性作物のキャベツを用いた場合、AM菌の感染は認められないにも関わらず、生長が促進される事実と直面した。そこで本研究は、菌根性作物としてアスパラガスを用い、AM菌が感染する作物の生長促進効果を解析し、同時に、非菌根性作物としてキャベツを用い、AM菌が感染しない作物の生長促進効果の要因を解析したものである。得られた結果の概要は以下のとおりである。

1. AM菌の形態観察ならびに核 DNA 量の変化

AM 菌の胞子内および菌糸に大量の核が観察され、補助細胞や胞子嚢様器官内にも核が散在していた。フローサイトメトリーによる核量分析から、休眠胞子内には DNA 量が C,2C,3C と 3 種類確認され、菌の発芽とともに減少し、菌糸へと移行した。この観察は AM 菌の感染と生長に重要な役割を果たしているリンの輸送に、DNA の移行が関与していることを示唆するものである。

2. AM 菌の感染による菌根性作物（アスパラガス）の生長促進

育苗土のリンの施用量を 4 段階（P0,P20,P100,P500）に設定し、アスパラガス

の実生へ AM 菌接種を行って生育量等を測定した。AM 菌の接種はリンの施用と同様か、それ以上の効果のあることが認められた。乾物重と糖含量の関係では、擬葉、主茎および吸収根においては負の相関($P<0.01$)が認められ、貯蔵根のみ乾物重の増加にともない糖含量が増加した。そこで、糖の代謝に関連する酵素活性を調査したところ、分解酵素(Invertase 等)は AM 菌の感染によって地上部で活性が増大し、合成酵素(Fructosyltransferase 等)は AM 菌の感染によって地下部の活性が抑制されていることが明らかとなった。このことは AM 菌の感染によって植物体内で低次の糖が増加する方向に酵素が変換され、糖が利用されやすくなっていると考えられる。

AM 菌の感染によって貯蔵根および吸収根における遊離アミノ酸含量および可溶性タンパク質含量が増加していることが明らかとなった。このことは組織内における各種代謝が活発化していることを示し、特に phosphatase の活性増大は組織中の遊離リン酸の増加をもたらし、AM 菌から受けとったリンが移動しやすくなったと判断できる。

3. AM 菌を接種した非菌根性作物（キャベツ）の生長促進

AM 菌の感染は認められないにも関わらず、キャベツの実生に AM 菌を接種すると生長促進が認められる原因を検討した。まず、AM 菌資材などのオートクレーブ処理等により、菌以外の要因の点検が行われ、キャベツにおける生長促進効果が確認された。一方で、AM 菌感染性のアスパラガスで確認された組織内糖含量や遊離アミノ酸含量の変化はキャベツでは認められなかった。

生長が促進されたキャベツ実生の根を表面殺菌し、根内から検出された糸状菌（根内糸状菌）を単離し、それらの糸状菌を単独でキャベツの実生に接種してその効果を検討した。無接種区から単離した糸状菌には生長を促進する菌株は全くなかったが、AM 菌接種区からの糸状菌には明らかに生長を促進する菌株があった。また、これらの単離糸状菌単独の場合より AM 菌資材を接種した時の生長促進効果の方が大きく、AM 菌と糸状菌との相互作用、あるいは糸状菌同士の相互作用に AM 菌の存在が有利に働いていると考えられた。

本研究の結果から、AM 菌の接種による感染を経由した生長促進効果と、感染を経由しない生長促進効果には異なる機構が関与していることが示された。今後、植物組織内、および根圏生態系に対する園芸学的なアプローチにより、新たな微生物利用農法の展開に生かされることを期待する。

以上のように本研究は、非菌根性作物（キャベツ）における AM 菌接種後の生長促進効果の存在を初めて明らかにし、従来認知されていた菌根性作物（アスパラガス）の生長促進効果とは異なる機構が存在していることを明らかにしたものであり、学術上、応用上高く評価される。よって審査員一同は秋山克（まさる）が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有すると認めた。