

野外植物群落における VA 菌根の共生菌バイオマス

藤吉 正明

広島大学大学院生物圏科学研究科

Biomass of arbuscular mycorrhizal fungi
in a wild plant community

Masaaki FUJIYOSHI

*Graduate School of Biosphere Sciences, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 739-8521, Japan*

要 旨

第 1 章 序論

植物と接合菌綱グロムス目の菌類との共生体である VA 菌根(vesicular-arbuscular mycorrhiza)は、菌類の宿主特異性が低いために、シダ、裸子植物、被子植物といった広範囲の植物に形成される。VA 菌根菌は、宿主の根細胞内に菌糸を侵入させ、のう状体(vesicle)や樹枝状体(arbuscule)などの特徴的な構造を形成し、また、同時に根外の土壌中にも菌糸を張り巡らす。土壌中に張り巡らされた菌糸は栄養塩や水を吸収し、宿主植物にそれらを与えている。その一方で、VA 菌根菌は、ほとんど全ての炭素源を宿主植物に依存している。したがって、菌根共生を介して、宿主植物によって固定された光合成産物の VA 菌根菌への移動および集積が生じるため、植物根内や根外土壌中に存在する VA 菌根菌は、宿主由来の炭素のシンクと考えることができる。このために生態系における植物の炭素経済や土壌炭素フローに対する VA 菌根菌の役割を明らかにするためには、土壌中に存在する VA 菌根菌を定量的に把握することが必要である。しかし、野外植物群落土壌中には、VA 菌根菌以外の他の菌根菌や腐生菌などの様々な菌類が存在しているため、それらの中から VA 菌根菌のみを定量することは極めて困難である。それゆえに、野外植物群落における VA 菌根菌バイオマスの定量はほとんど行われていない。エルゴステロールは、真菌類の膜に特有の物質であり、また、他の指標物質に比べ定量方法が容易であるため、真菌類バイオマス定量の際の指標物質として多用されている。しかし、エルゴステロールは真菌類全般の指標物質であるため、この指標物質を用いて様々な菌類が存在する野外植物群落の VA 菌根菌バイオマスの定量を行うことは困難である。そこで、本研究では、エルゴステロールを指標とした新たな方法を用いて、野外植物群落における VA 菌根菌バイオマスを定量することを目的とした。新たに考案した方法とは、まず、培養実験において宿主植物と VA 菌根菌による VA 菌根形成のためのポット栽培を行い、土壌中に存在する VA 菌根菌の菌糸体当たりのエルゴステロール含量を求め、ついで根内と土壌のエルゴステロール量から VA 菌根菌のバイ

オマスと根内外に形成されたバイオマス比を求めた。つぎに、野外植物群落内に生育する植物の根のエルゴステロール量から培養実験で求めた菌糸体当たりのエルゴステロール含量を用いて根内のバイオマスを求め、さらに培養実験で求めたバイオマス比から根外土壌中のVA菌根菌バイオマスを推定した。

第2章 エルゴステロールの有効性の検討

エルゴステロールの指標物質としての有効性を明らかにするため、一年生マメ科草本植物ヤハズソウ (*Kummerowia striata*) とVA菌根菌 (*Gigaspora margarita*) を用いて無菌的な培養条件下でVA菌根形成のためのポット栽培を行い、GC-MSによるエルゴステロールの同定およびHPLCによるエルゴステロールの定量を行った。その結果、GC-MSにより、VA菌根菌の孢子の中にエルゴステロールが含まれていることを確認することができた。次に、HPLCによるエルゴステロール分析において、VA菌根菌が共生したヤハズソウの根のエルゴステロール量は、培養開始後日数の経過と共に、個体あたり0.036 μg (培養開始後20日目) から1.85 μg (80日目) に増加した。VA菌根菌の共存しないヤハズソウの根からは、エルゴステロールは検出されなかった。一方、土壌中のエルゴステロール量も培養日数の経過と共に増加する傾向を示した。根の場合と同様にVA菌根菌の共存しない土壌からエルゴステロールは検出されなかった。根内に対する根外土壌中のエルゴステロールの絶対量比は、24.7 (培養開始後40日目) から5.6 (80日目) へと減少する傾向であった。また、VA菌根菌の菌糸体当たりのエルゴステロール含量は、培養日数の変化にもかかわらずほぼ一定で、平均値0.63 mg g^{-1} であった。そこで、菌糸体当たりのエルゴステロール含量から培養開始後80日目のポット中のVA菌根菌バイオマスを推定すると、植物根内と根外土壌中のVA菌根菌バイオマスは、それぞれ5.86 mg と16.5 mg であった。VA菌根菌が共生した根および土壌からのみエルゴステロールが検出されたことから、エルゴステロールを指標としたバイオマスの定量が可能であることを明らかにし、また、菌糸体当たりのエルゴステロール含量が安定していたため、VA菌根菌バイオマスの定量の有効な指標物質であることが示唆された。また、根内に対する根外のVA菌根菌バイオマス比は、生育日数とともに減少し、培養日数60日目以降は安定することが明らかになった。

第3章 VA菌根菌バイオマスに対するリンの影響

本研究で、新しく考案した方法は、培養実験で求めた植物根内外のVA菌根菌バイオマス比を用いて、野外植物群落土壌中のVA菌根菌バイオマスを推定するため、培養実験で求めるバイオマス比が重要なポイントである。VA菌根形成は、土壌条件、特にリン濃度の影響を受けることが知られている。また、宿主植物の種類によってそれら植物に形成されたVA菌根に対するリンの影響が異なる可能性がある。そこで、本章では、VA菌根菌バイオマスに対するリンの影響を明らかにすることを目的とした。まず、実験1ではヤハズソウとVA菌根菌 (*G. margarita*) を用いて、異なるリン条件下 (0, 0.1, 1, 5 および 10 mgP kg^{-1} soil) で60日間のポット栽培を行い、エルゴステロールを指標にして根内外に形成されたVA菌根菌バイオマスの定量を行った。つぎに、実験2では4種のマメ科草本{ヤハズソウ (*K. striata*)、レンゲ (*Astragalus sinicus*)、アカツメクサ (*Trifolium pratense*)、カラスノエンドウ (*Vicia angustifolia*)} とVA菌根菌 (*G. margarita*) を用いて、異なるリン条件下 (0 と 10 mgP kg^{-1} soil) で60日間のポット栽培を行い、栽培終了時に各植物根内のVA菌根菌の感染率を測定し、リンに対するVA菌根の反応を比較検討した。その結果、実験1で

は、VA菌根菌が共生したヤハズソウの根のエルゴステロール量は、低濃度のリン投与(0, 0.1 および 1 mgP kg⁻¹ soil)では変化が見られなかったが、高濃度のリン投与(5と10 mgP kg⁻¹ soil)により減少した。顕微鏡観察による根内のVA菌根菌感染率の測定でも同様の結果が得られた。一方、根外土壤中のエルゴステロール量は、リン投与に関わらず変化はみられなかった。土壤中のVA菌根菌の菌糸長を測定したところ、異なるリン投与区間で有意な差は確認されなかった。この結果、根内に対する根外土壤中のエルゴステロールの絶対量比は、高濃度のリン条件下(5-10mgP kg⁻¹ soil)では大きくなったが、低濃度リン条件下(0-1mgP kg⁻¹ soil)では比較的幅の狭い範囲(2.0-2.9)に落ち着いた。実験2において、実験1の結果と同様に、ヤハズソウはリン投与(10mgP kg⁻¹ soil)により根内のVA菌根菌の感染率が減少した。一方、他の3種(レンゲ、アカツメクサ、カラスノエンドウ)は、リン投与(10mgP kg⁻¹ soil)を行ってもVA菌根菌の感染率には変化がみられなかった。結果として、リンの施肥が行われていない野外植物群落土壤中のリン濃度は低いことが知られているため、野外植物群落での植物根内外のバイオマス比は土壤中のリン濃度に影響されることなくほぼ一定に保たれると考えられた。

第4章 野外植物群落におけるVA菌根菌バイオマスの定量

第2章と第3章の結果より、本章では新たに考案した方法を用いて野外植物群落のVA菌根菌バイオマスを定量した。野外調査地は、先駆性マメ科草本植物ヤハズソウが優占する草本植物群落を対象とし、2000年6月から9月まで毎月ヤハズソウを採取し、根のエルゴステロールの分析を行った。培養実験では、ヤハズソウと群落内に土着するVA菌根菌3種(*Glomus sp.*, *Gigaspora sp.*, *Sctellospora sp.*)を用いて、温室内で150日間のVA菌根形成のためのポット栽培を行い、菌糸体当たりのエルゴステロール含量と根内外に形成されたVA菌根菌バイオマスおよびその比を求めた。その結果、培養実験において、培養開始後150日目のヤハズソウの根とポット内土壤のエルゴステロールの絶対量は、それぞれ2.5 μgと5.8 μgであった。また、菌糸体当たりのエルゴステロール含量は、0.54 mg g⁻¹であった。これらの結果から根内に対する根外のVA菌根菌バイオマス比を推定すると、比率は2.3であった。この値は、第3章の結果とほぼ同一であった。野外実験においてヤハズソウ根のエルゴステロール量は、6月で0.88 μg、7月で1.43 μg、8月で4.96 μg、および9月で5.93 μgと植物体の生長と共に増加する傾向であった。調査地では4月にヤハズソウの発芽が確認されたことから、培養実験における生育期間150日は、野外の8月に相当する。そこで、培養実験の結果(バイオマス比2.3、菌糸体エルゴステロール含量0.54 mg g⁻¹)を野外8月に当てはめVA菌根菌バイオマスを推定すると、ヤハズソウ個体当たりのVA菌根菌バイオマスは、根内で9.18 mg、根外で21.11 mg、合計30.29 mgと推定された。また、調査地のヤハズソウの個体密度(1390 m⁻²)およびVA菌根菌の炭素含量(24%)の結果により、野外植物群落におけるVA菌根菌の炭素量は、根内で3.1 gC m⁻²、根外で7.0 gC m⁻²、合計10.1 gC m⁻²と推定された。さらに、調査地内のヤハズソウの根乾重(69.9 mg plant⁻¹)と土壤有機炭素量(281.4 gC m⁻²)の結果から、8月の根外土壤中もあわせたVA菌根菌バイオマスは、ヤハズソウの根乾重の43%に相当し、全土壤有機炭素の3.6%を占めていた。多くの研究により耕作地や草地土壤での全土壤有機炭素に対する土壤微生物バイオマスの占める割合は1-4%と報告されている。したがって、本研究で推定されたVA菌根菌バイオマスは非常に大きな値であり、野外植物群落(ヤハズソウ群落)においてVA菌根菌バイオマスは宿主由来の炭素の大きなシンクであることが明らかになった。菌根菌のターンオーバータイムは、速いことが知られているため、VA菌根菌バイオマスは野外植物群落内の植物の炭素

経済や土壌炭素フローに大きな影響を与えている可能性が示唆された。