

第17回根研究集会発表要旨

2002年11月9日(土)・10日(日)
拓殖大学(八王子キャンパス)
恩賜記念館・国際交流会館

—11月9日(土)—

口頭発表

<セッション1 座長 関谷信人(名大大学院生命農学)>

「イネによるケイ酸吸収特性の解析」

*馬建鋒・玉井一規(香川大農学部)

「寒天溶液を用いたコムギ耐湿性の品種間差異の検討」

*村中聡・小柳敦史(東北農業研究センター(*現 筑波大農学))

「土壌乾燥過程における塩類集積に対する根の役割」

石原邦・小山文子・増岡彩子・高橋久光(東京農大国際食料情報学部)

<セッション2 座長 村中聡(筑波大農学)>

「ソルガム種子根系における根の内部組織構造と水吸収の関係」

*市川里紗・山内章(名大大学院生命農学)

「*Sesbania rostrata*における硝酸態窒素施用による根系構造の変化と根粒形成との関係」

*朝倉草平1・大門弘幸1・上田英二2

(1大阪府大大学院農学生命科学、2大阪府大先端研)

<セッション3 座長 下田代智英(鹿児島大農学部)>

「Variation of $\delta^{15}\text{N}$ abundance between shoot and root in nitrogen fixing plants」

*Janardan KHADKA and Jiro TATSUMI(名大大学院生命農学)

「深い根を持つことが水を獲得する上で本当に有利なのか？」

—深根性マメ科植物のキマメ・セスバニアにおける比較—

*関谷信人・矢野勝也(名大大学院生命農学)

「バビショウ林の斜面位置と細根量」

*陳学群・益守真也・丹下健・八木久義(東大大学院農学生命科学造林)

<セッション4 司会 仁木輝緒(拓殖大工学部)>

特別講演

「土壌界生類憐れみ源平盛衰絵巻」

犀川亭無常庵(こと犀川政稔・東京学芸大教授)

根研究ワークショップ —根研究よろず討論会—

—11月10日(日)—

ポスター発表

「乾燥ストレス条件下でのソルガムの乾物生産におけるケイ酸施肥の効果」

服部太一朗・稲永忍(鳥取大乾燥地研究センター)

「AM菌胞子発芽と菌糸伸長に対するオーキシンの影響」

*金子美千代・谷本英一(名市大大学院システム自然科学)

「茶園流出水が作物種子の発芽と幼根伸長に及ぼす影響」

松尾喜義1・鳥飼絵里2・野中邦彦1・森田明雄3

(1野菜茶研、2静大農学部:現富士食品、3静大農学部)

「異なるリン施用条件下における数種マメ科植物の生長とリン吸収」

*信田和恵・大門弘幸・大江真道・原田二郎(大阪府大大学院農学生命科学)

「改造セル成型トレイにおけるキャベツセル成型苗の移植直後の生育について」

王学武1,3・*吉田敏1・中野明正2・筑紫二郎1

(1九大生環センター、2野菜茶業研究所果菜研究部、3青島市種苗センター)

- 「菌根共生と土壤圧縮による酸性土壌ストレスの緩和」
*高木美奈子・矢野勝也（名大大学院生命農学）
- 「菌根菌菌糸のトウモロコシへの有機物由来窒素供給能」
田中洋子・矢野勝也（名大大学院生命農学）
- 「トウモロコシとエンバクの根軸における代替呼吸活性の分布」
笹川正樹・巽二郎（名大大学院生命農学）
- 「作物根の成長に及ぼす土壌の水・空気・硬さ環境の影響：幼根の伸長・肥大成長の種間差」
*加藤純子・飯嶋盛雄（名大大学院生命農学）
- 「コムギの種子根伸長角度と草丈および千粒重の関係」
*小柳敦史・桐渕（乙部）千雅子・柳澤貴司・村中 聡（東北農業研究センター）
- 「PCR-DGGE 法を用いた根圏微生物の解析、水田・畑地の根圏微生物相の比較」
土肥哲哉・阿部淳・萩原佑介・森田茂紀
（西原環境衛生研究所、東大大学院農学生命科学）
- 「FISH 法を用いた根圏微生物解析、プロトコールの改善と水田・畑の比較」
土肥哲哉・*萩原佑介・阿部淳・森田茂紀（東大大学院農学生命科学）
- 「水稲における出液中の全窒素濃度の生育にともなう推移と日変化」
境垣内岳雄（東大大学院農学生命科学）
- 「塩化ナトリウム処理に対する水稲幼植物の根の形態的反応」
和田琢磨・阿部淳・森田茂紀（東大大学院農学生命科学）
- 「圃場栽培したトウモロコシの節根における根冠の形態と伸長角度との関係」
*伊藤香織・森田茂紀・阿部淳（東大大学院農学生命科学）
- 「乾燥条件に対するトウモロコシ根系の可塑性について—節根の伸長角度と根系分布—」
*地頭所邦展・下田代智英・佐々木修（鹿児島大農学部）

2002 年度研究会賞授賞式・受賞講演

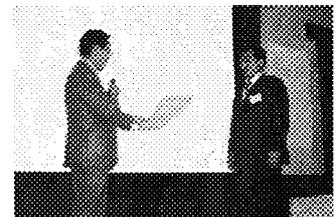
学術功労賞

- 「熱帯陸稲の耐乾性向上を目的とした根系形成に関わる
遺伝的要因と環境要因ならびに水吸収特性に関する研究」
近藤始彦（中央農業総合研究センター）

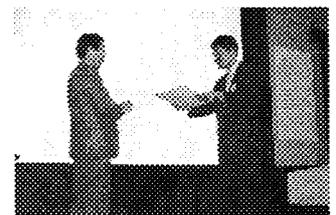


学術奨励賞

- 「Ammonia-oxidizing bacteria in the root environment: studies on
their ecology and possible contribution to
N uptake of rice (*Oryza sativa* L.)」
Aurelio M. Briones, Jr.（米国イリノイ大博士研究員）



- 「野菜施設生産における根圏環境のストレス緩和技術に関する研究」
中野明正（独立行政法人農業技術研究機構野菜茶業研究所）



イネによるケイ酸吸収特性の解析

○馬 建鋒 玉井一規

香川大学農学部

maj@ag.kagawa-u.ac.jp

イネは典型的なケイ酸集積植物で、地上部に数パーセントのケイ酸が含まれている。イネの高いケイ酸集積能は根の吸収能力によるとされているが、その吸収機構については未だに明らかにされていない。ケイ酸は電荷を持たない分子状の形態で吸収され、またその吸収が積極的に行うことから、根に分子状のケイ酸を輸送する特別な輸送システムの存在が予想される。本研究ではイネのケイ酸輸送システムの特徴について解析を行った。

まずは根によるケイ酸の吸収がケイ酸によって誘導されるのかどうかについて検討した。ケイ酸前処理有無の苗を用いて、短期間の吸収実験を行った結果、ケイ酸の前処理がケイ酸の吸収に影響を与えなかった。また、吸収が時間と共に直線的に増加した。この結果はケイ酸の吸収が誘導を必要とせず、ケイ酸輸送システムが常時存在していることを示している。つぎに、ケイ酸吸収の Kinetics について解析した。その結果、ケイ酸の吸収は溶液中のケイ酸濃度の増加に従って増加したが、一定濃度以上で飽和した。このことはケイ酸の吸収が一種の輸送体 (transporter) を介して行われていることを示している。吸収曲線に基づいて、 K_m 値を求めた結果、 0.32mM で、低親和性の輸送体であることを示している。輸送体阻害剤である HgCl_2 、DIDS と Phloretin を用いてケイ酸の吸収に対する影響を調べた結果、ケイ酸の吸収は HgCl_2 によって強く阻害されたが、DIDS によって阻害されなかった。この結果はケイ酸輸送体に Cys 残基が含まれ、Lys 残基が含まれていないことを示唆している。水の吸収も HgCl_2 によって阻害されたが、ケイ酸の吸収に比べ、阻害が小さかった。またケイ酸の吸収に対するホウ酸の影響を調べた。ホウ酸もケイ酸と同様に電荷を持たない分子状の形態で吸収される。したがって、ケイ酸の輸送体とホウ酸の輸送体が類似している可能性がある。しかし、ケイ酸の 10 倍量のホウ酸の共存もケイ酸の吸収に影響を与えなかった。このことはケイ酸の輸送体とホウ酸の輸送体が異なっていることを示している。現在イネのケイ酸輸送体の遺伝子の同定を目指して研究を行っている。

寒天溶液を用いたコムギ耐湿性の品質間差異の検討

村中 聡*・小柳敦史

(東北農業研究センター、*現筑波大学農学研究科)

E-mail: stm00@mac.com

コムギは比較的乾燥した栽培条件を好む作物であるが、我が国のコムギ栽培の多くは水田転換畑で行われ、湿害による成育不良や子実収量の減少、品質の低下が大きな問題となっている。湿害回避には排水設備の設置が有効であるが、一方で耐湿性品種の作出も重要な課題となっている。コムギの耐湿性については1950年代から研究が行われているが、安定した検定方法が確立されてはおらず、実用品種の作出もまだ達成されていない。そこで本研究では、寒天溶液を用いてコムギ根系に対する低酸素処理の影響を調べ、耐湿性検定への利用の可能性について検討した。

材料と方法: まず、供試作物としてコムギ品種 Rosella (オーストラリア)、東北 214 (日本)、BR 8 (ブラジル) を用い、自然光型グロースチャンパー内で荒砂を用いて砂耕栽培を行った。N₂ を吹き込み溶存酸素量が 0.3% 以下になるように調節した寒天 0.1% (w/v) 溶液を、種子下 2 cm まで湛水することで処理を行った。播種後 3、9 および 18 日目の個体に対して処理を開始し、それぞれ 18 日間処理を行った。処理前および処理後 6 日目ごとにサンプリングを行い乾物重、SPAD 値、葉面積および太さ別根長を測定した。次に世界各地域から選んだコムギ 30 品種を 2002 年 9 月に網室内で砂耕栽培し、播種後 9 日目から 12 日間の寒天溶液処理を行った。処理後、地上部および地下部乾物重を測定した。

結果および考察: 地下部への寒天溶液による処理は、処理開始時期に関わらず供試した 3 品種の地上部および地下部乾物重を大きく減少させた。地上部乾物重の減少程度は、他の 2 品種と比較して BR 8 で有意に小さく、葉面積にも同様の品種間差異がみられた。根長はどの品種も寒天溶液による処理によって大きく減少したが、直径が小さい根の伸長が抑制されていた反面、直径が 0.75 mm 以上の太い根の長さは対照区よりも増加していた(写真 1、図 1)。また、30 品種の地上部乾物重の対照区比には大きな品種間差があり、地下部乾物重の対照区比と正の相関関係がみられた。

以上の結果より、寒天を用いて培養液の流動性を抑えることにより、安定した低酸素処理を行うことができ、耐湿性検定への利用の可能性が示唆された。

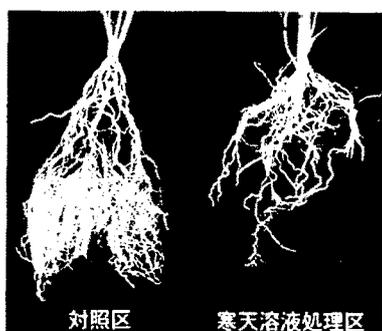


写真1 処理後12日目の Rosellaの根の様子

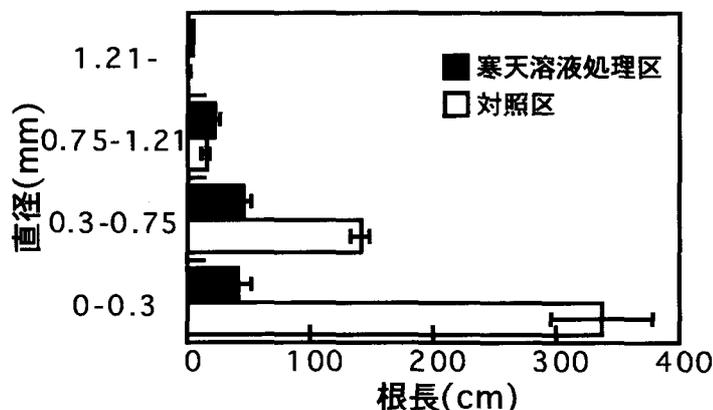


図1 処理後6日目のRosellaの直径別根長

土壌乾燥過程における塩類集積に対する根の役割

石原邦*・小山文子・増岡彩子・高橋久光
(東京農業大学国際食料情報学部)

乾燥し、土壌表層に塩類集積がみられる地帯に行ってみると、植物が生育していないところでは白く塩が集積しているのに対して、イネ科の草本植物などが生育している土壌の表面には塩がみられないことがしばしば観察される。本研究は、この原因を明らかにする手始めとして、植物の生育の有無によって土壌中の塩類の移動方向がどのように影響を受けるかを検討したものである。

東京農業大学構内に設置されたハウス内で、赤土と砂を容積比で7:3の割合で混合し、化成肥料8-8-8を6.25g施用した風乾土壌3kgを1/5000aワグネルポットに充填し、灌水後2001年7月29日にコマツナ(黒波小松菜 カネコ種苗)を播種した。処理区として、土壌へNaClを重量比で0.4%、0.8%添加した区および無添加区を設け、それぞれNaCl 0.4%区、NaCl 0.8%区およびNaCl 0%区とした。これらそれぞれの区にコマツナを栽培した区(栽培区)と栽培しない区(無栽培区)を設け、さらに、それぞれの区について発泡スチロールでポットにふたをし、地表面からの水分蒸発を抑制した区(蒸発抑制区)とふたをせず、蒸発を抑制しない区(蒸発区)を設けた。なお、コマツナの生育に合わせて、栽培区と無栽培区の間でも同量の水を灌水した。処理区は合計12区で、各区6ポット、1ポット1本植とし、土壌中のNa濃度は、Naを原子吸光光度計(島津原子吸光AA-645)で測定し、土壌風乾重当たりで表した。

まず、播種前の土壌中のNa濃度を測定した結果、土壌中のNa含量は、ポット各部位で相違はなく、土壌中のNaClはポット全体で均一に分布していたので、播種後時間の経過とともに、Na含量が高くなった土壌部位があれば、その部位へNaClが移動したと考えることとした。

NaClの添加量が多くなるのに伴い、コマツナの生育は阻害され、0.8%区ではほとんど生育せず、実験途中で枯死し、また蒸発抑制区に比べ、蒸発区の生育はよくなかった。蒸発抑制区では、コマツナ栽培の有無に関係無く、播種23、37日後のポット各部位の土壌中のNa含量にほとんど相違は認められず、発泡スチロールでふたをし、土壌表面からの蒸発がなければ、土壌中のNaClの移動は少ないことがわかった。

発泡スチロールのふたがない蒸発区についてみると、NaCl 0.4%無栽培区では、土壌上層部のNa含量は常に中層部、下層部に比較して著しく高く、土壌からの蒸発によってNaClが上層に集積したことは明らかであった。一方、コマツナ栽培区では、コマツナの生育量が小さい播種23日後に採取したポットでは、無栽培区と同様に、上層部の土壌中Na含量は高かったが、コマツナの生育が進んだ播種30日後、37日後になると、上層部の土壌中Na含量は低下し、各部位での土壌中のNa含量の相違は非常に小さくなった。

本研究の結果から、植物が生育している場所の土壌表層に塩類が集積していないのは、塩類が集積していないところに植物が生育したのではなく、植物が生育するに伴って発達した根群の水吸収によって、土壌中の水の移動方向が複雑になり、土壌表層に塩類が集積しなくなったと結論することが可能である。この結論をさらに確実なものとするためには、蒸発量、灌水量、蒸散量などの定量、根の吸水に伴う土壌中の水の移動方向、移動量、それに伴うNaClの移動方向、特に根周辺へのNaClの移動、集積などの検討が必要であると考えている。

ソルガム種子根系における根の内部組織構造と水吸収の関係

市川里紗・山内章

名古屋大学院生命農学研究科

(E-mail: ayama@nuagr1.agr.nagoya-u.ac.jp)

種子根系において、側根が大部分の水を吸収すると考えられる。植物体内での水の通導性は、内皮・下皮細胞のカスパリー帯の発達、リグニンやスベリンなどの疎水性物質の細胞壁への蓄積、導管の成熟によって大きく変わる。Sulphorhodamine G は、アポプラストからシンプラストへと水が入る部位に蓄積するので、色素の蓄積量から水の吸収量を測定できると考え、根から色素を吸収させた。種子根の LMX (late metaxylem vessel) の隔壁が消失し通導機能が高いと考えられる部位から発生した側根のうち内皮・下皮細胞のカスパリー帯が不完全な側根が、水の吸収・輸送能が高いという仮説をたて、色素の蓄積量から推定した根の部位・種類別の水の吸収量と、内皮・下皮細胞のカスパリー帯の発達および導管の成熟程度とを比較した。

〈材料と方法〉 人工気象室内で 8 日間生育させたソルガム幼植物 (種子根長約 32 cm) を、蛍光色素 Sulphorhodamine G (分子量 552) を溶解させた水耕液に移植し、4.5 時間後に植物体を採取した。2 次側根を有する太い側根を L 型、細くて分枝のない側根を S 型、太いが分枝のない側根を M 型とした。種子根根端から 2 cm ずつ 5 cm ごとに種子根軸を切り出し、種子根軸とそこから発生している側根 (L 型、M 型、S 型) とに分けて、色素を抽出し、濃度から蓄積量を求めた。また色素を抽出した根について、長さと直径を実体顕微鏡下で計測し、表面積を計算した。これらの根について、ベルベリン・アニリン染色をしてカスパリー帯の発達程度を観察した。導管中の縦に並んだ導管細胞の間の隔壁が消失すれば、導管が通導機能を持つと考えられ、LMX の隔壁の有無も観察した。

〈結果と考察〉 側根は種子根根端から約 7 cm の部位より基部側で発生していた。種子根根端から 25 cm より基部側に発生した側根で 2 次側根の発生が観察された。

種子根軸の色素蓄積量は、根端から 15 cm より根端側で大きかった。種子根根端から 15 cm の部位から発生した M 型側根が最も色素の蓄積量が大きく、種子根根端から 10 cm の部位に発生した M 型側根、種子根根端から 15 cm の部位から発生した S 型側根の順に蓄積量が大きかった。一方、単位根表面積当たりでは、種子根根端から 15 cm の部位から発生した M 型側根が最も大きく、種子根根端から 15 cm の部位から発生した S 型側根、種子根根端から 10 cm の部位から発生した S 型側根の順に大きかった。種子根根端から 25 cm、30 cm の部位に発生した L 型側根は表面積が大きいにもかかわらず蓄積量は比較的小さかった。

次に組織構造を見ると、カスパリー帯は、内皮では種子根根端から 5 cm の部位より、下皮では 7 cm の部位より基部側で観察された。種子根根端から 25 cm の部位より基部側に発生した L 型側根では、根端から 1 cm の部位より基部側で内皮に、基部から 1 cm の部位より基部側で下皮にカスパリー帯が観察された。しかし、同じ部位から発生した S 型側根では、内皮をカスパリー帯が完全に囲むことは観察されず、下皮にもカスパリー帯が観察されなかった。一方 LMX の隔壁は、種子根根端から 20 cm の部位まで観察された。また、種子根根端から 30 cm の部位に発生した L 型側根の最も基部よりの部位で LMX の隔壁が観察された。

種子根 LMX は種子根根端から 25 cm より基部側で隔壁が消失し、水の通導機能が高いと考えられるが、この部位から発生した側根の水吸収量は最大とはならなかった。それに対して、隔壁が存在する根端から 15 cm の部位から発生した側根で水吸収量が最大となった。両部位の側根の間では、内皮・下皮細胞の細胞壁のリグニンやスベリンなどの疎水性物質の蓄積程度、細胞膜の水の透過性などが異なると考えられる。また、根の齢や種類によって根組織と色素の親和性の差異など、色素の蓄積量と実際の水吸収量との関係を今後あきらかにする必要がある。

報告

Sesbania rostrata における硝酸態窒素施用による根系構造の変化と根粒形成との関係

朝倉草平^{1)*}・大門弘幸¹⁾・上田英二²⁾

¹⁾大阪府立大学大学院農学生命科学研究科, ²⁾大阪府立大学先端科学研究所

*E-mail: a_sohei@plant.osakafu-u.ac.jp

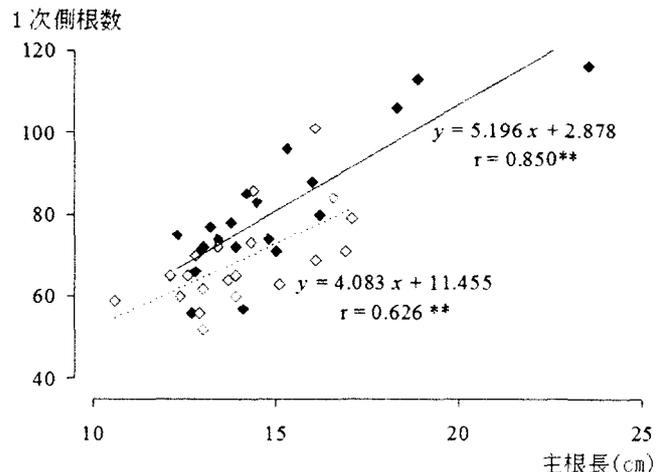
Sesbania rostrata では、側根が出現する際に生じる主根の亀裂部位から根粒菌が侵入して、側根基部の皮層組織に根粒原基が形成されるために、根系構造、とくに側根形成に及ぼす様々な環境要因が根粒形成を制御する可能性がある。演者らはこれまでに、スライドグラス法を用いた培養系により、硝酸態窒素の施用による根粒形成の阻害（抑制もしくは遅延）を確認するとともに、その際に形成される一次側根数の減少を認めた。そこで、本研究では、根系構造についてより詳細に観察することができる水耕栽培法を用いて、硝酸態窒素施用条件下における根系の発育と根粒形成との関係について調査した。

【材料および方法】

表面滅菌と磨傷処理を施した *S. rostrata* の種子を、滅菌パーミキュライト 120 mL と滅菌水 70 mL を入れたプラントボックスに置床し、人工光型グロースキャビネット内 (25°C・15 時間日長) で発芽させた。置床後 4 日目に主根が 5 cm 程度伸長した実生を、水耕栽培装置に移植した。水耕液には、BD 無窒素培地を基本として、窒素源として KNO₃ を 0, 5, 10, 15 mM を添加したものをを用いた（カリウムイオン量は K₂SO₄ を用いて補正）。根粒菌 (*Azorhizobium caulinodans*) は、乳酸培地で 2 日間培養後、10⁸ cells/mL の懸濁液を移植時と移植後 4 日目と 8 日目に接種した。移植後 7, 14, 21 日目にサンプリングをおこない、根粒数、地上部・地下部別の乾物重を測定した。根系の発育を詳しく調べるためにサンプリング直後にスキャナーの上に根系を広げて、画像としてコンピュータに保存した。

【結果と考察】

移植後 7 日目において、いずれの硝酸濃度処理区においても、主根長は無施用区に比べて短く、その程度は高濃度区で大きい傾向にあった。根粒菌の接種は、地下部の乾物重と総根長を減少させた。1 次側根数については、根粒菌非接種の場合には、硝酸施用により減少したが、側根の形成密度には差がなく、この減少は主根長の阻害によるものと考えられた。しかし、根粒菌接種の場合には、硝酸施用による側根数の減少は認められず、菌の接種が硝酸態窒素による側根形成の制御に影響することが示された。移植後 7 日目の根粒菌接種個体には、既に根粒が形成され始めていたが、接種後 7 日間で根粒の窒素固定による植物体内の急激な窒素レベルの上昇や C/N 比の変化は起こりにくいと考えられる。エンドウやアルファルファでは、根粒原基の形成を制御するといわれているエチレンが、硝酸態窒素施用後 48 時間目までに生成されることが知られており、本植物においても、エチレンが介在した初期の根系発育および根粒形成の制御機構について明らかにする必要がある。



第 1 図 移植後 7 日目における主根長と 1 次側根数との関係

◆ 菌非接種区 ◇ 菌接種区

報告

Variation of $\delta^{15}\text{N}$ Abundance Between Shoot and Root in Nitrogen Fixing Plants

Janardan KHADKA and Jiro TATSUMI

(Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University)

Tel: +81-52-789-5551 Fax: +81-52-789-5558 E-mail: i011013m@mbox.media.nagoya-u.ac.jp

Most of the N-fixing plants showed no ^{15}N discrimination during nitrogen fixation that is which means the whole plant $\delta^{15}\text{N}$ value was close to 0‰. Significant ^{15}N isotopic discrimination occurred during transfer of fixed N, that resulted in ^{15}N depletion in shoots compared with roots and nodules. Hence, $\delta^{15}\text{N}$ value difference between shoot and root can be an indicative of nitrogen fixation. In case of nodule N-fixing leguminous plants (nitrogen fixing endosymbiont is rhizobia), ^{15}N enrichment is a common feature. However, in case of actinorhizal plants *Frankia* is the nitrogen-fixing endosymbiont and is difficult to conclude whether actinorhizal plant nodule is enriched in ^{15}N due to insufficient data.

Materials and Methods

In this study the following species were used:

Plant species used	Family	Endosymbiont
1. <i>Alnus hirsuta</i>	Betulaceae	<i>Frankia</i>
2. <i>Pseudo acacia</i>	Leguminosae	Rhizobia
3. <i>Lespedeza cuneata</i>	Leguminosae	Rhizobia
4. <i>Lespedeza bicolor</i>	Leguminosae	Rhizobia
5. <i>Bauhinia purpurea</i>	Leguminosae	Control plant (no N-fixing)
6. <i>Ilex paraguariensis</i>	Aquifoliaceae	Control plant (no N-fixing)

Natural ^{15}N Abundance Method was used to compute $\delta^{15}\text{N}$ value and glycine ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$)

having $\delta^{15}\text{N}$ value of -0.37‰ was taken as laboratory standard.

$$\delta^{15}\text{N}\text{‰} = \left[\left(\frac{R_s}{R_{std}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

Where, R_s is $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ of sample and R_{std} is $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ of atmospheric nitrogen

$$\% \text{Ndfa} = \left[\frac{\delta^{15}\text{Nn} - \delta^{15}\text{Nf}}{\delta^{15}\text{Nn} - \delta^{15}\text{Na}} \right] \times 1000$$

Where, $\delta^{15}\text{Nn}$ is $\delta^{15}\text{N}$ value of non N-fixing plant (control), $\delta^{15}\text{Nf}$ is $\delta^{15}\text{N}$ value of nitrogen fixing plant and $\delta^{15}\text{Na}$ is $\delta^{15}\text{N}$ value of nitrogen fixing plants solely depend on atmospheric nitrogen

Result and Discussion

In this experiment, it was observed that a nodule of legume plants were enriched in ^{15}N but were depleted in non-legume actinorhizal plant. Actinorhizal plant nodules grown in N-free medium were more depleted than those grown in field condition (Fig. 2). The difference between shoot and belowground $\delta^{15}\text{N}$ values were negatively correlated with percentage nitrogen derived from atmosphere (%Ndfa) in both legume and non-legume N-fixing plants. However, correlation coefficients differ from species to species.

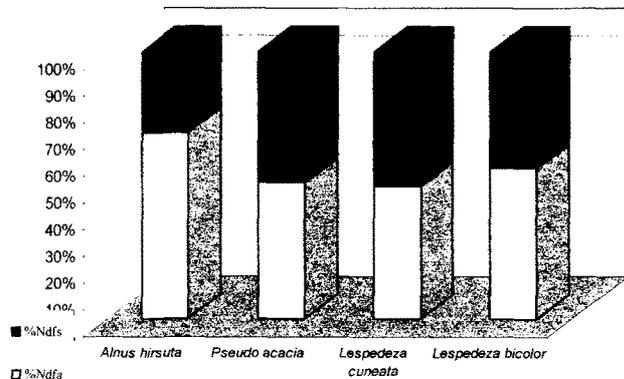


Fig. 1: %Ndfa calculated by natural abundance method

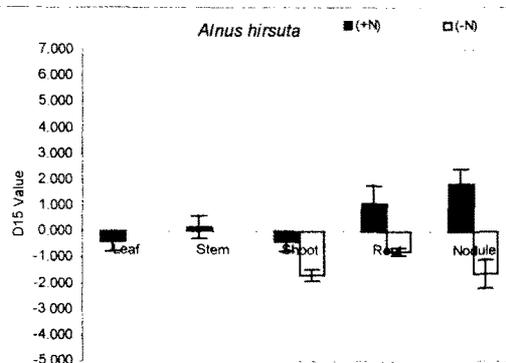


Fig. 2. Isotopic fractionation in different plant parts of *Alnus hirsuta*

深い根を持つことが水を獲得する上で本当に有利なのか？ —深根性マメ科植物のキマメ・セスバニアにおける比較—

関谷信人*・矢野勝也 (名古屋大学大学院生命農学研究科)

TEL 052-789-7957 FAX 052-789-5558 E-mail i021010d@rmbbox.media.nagoya-u.ac.jp

我々はこれまでに、ザンビア共和国 国立灌漑研究所の試験圃場にて、キマメ (*Cajanus cajan*)・セスバニア(*Sesbania sesban*) を栽培し、水素の安定同位体自然存在比法 (関谷・矢野, 2002) を用いて両マメ科植物における地下水および降水への依存度の季節変動を解析した (Sekiya and Yano, 2002). その結果、両植物とも 2m以上の深さまで根系を発達させ、潜在的に地下水へアクセスしていたにも関わらず、セスバニアは地下水に依存する割合が高く、キマメは降水に依存する割合の高いことが明らかとなった。しかし、雨期から乾期に入ると、地下水への依存度が低いキマメでは継続して出液を採取できたが、逆に、地下水への依存度が高いセスバニアは出液を停止した。このことから、キマメは乾燥した表層土壌からの吸水能力が高いために、相対的に地下水への依存度が低くなり、セスバニアでは、地下水へアクセスできた深い根が必ずしも水吸収に寄与していないのではないかと考えた。そこで本研究では、この仮説を検証するため、円筒土壌を用いたモデル実験を行った。

直径 5cm・高さ 15cm の円筒土壌を上・下 2 層に重ねてキマメ・セスバニアを生育させた。上層には灌水と乾燥を繰り返すことで降水を模し、下層は湿潤を維持することで地下水を模した。播種後 57 日目に上層への灌水を停止した後、上・下両層からの水吸収量の推移を 7 日間に渡って測定した。その結果、キマメは上層土壌での乾燥が進行すると下層土壌からの積算水吸収量が増加した。一方、セスバニアは上層土壌の乾燥が進行しても下層土壌からの積算水吸収量は増加せず、落葉によって葉面積が減少した。また、葉面積はキマメの方が常に高く推移した。その後、上・下両層から別々に根系を採取して根長を測定した。その結果、上層土壌ではキマメの方が長い根を発達させた。一方、下層土壌ではセスバニアの方が長い根を発達させ、積算水吸収量の関係と一見矛盾した。そこで、直径別根長 (木村, 1998a:1998b) および比根長を測定したところ、下層土壌に発達したセスバニアの根はキマメに比べて太く・軽い根の多いことが明らかとなった。そこで、横断切片を作成して内部構造を観察した結果、キマメでは観察されなかった破生組織をセスバニアは皮層によく発達させていた。

以上の結果から、セスバニアはキマメに比べて葉面積が小さいため、水吸収を引き起こす駆動力がキマメに比べて小さいと考えられた。さらに、セスバニアは深い根を発達させて地下水へアクセスしても、その内部には破生組織を発達させるため、通導抵抗が大きいと思われた。これらの要因により、セスバニアは深い根を発達させても地下水を吸収できなかったと推察され、深い根を持つことが水を獲得する上で有利とはならなかったと考えられる。

[引用文献]

- 木村和彦 1998a. 画像解析による根長と根の直径の測定—その 1.実践編—. 根の研究 7: 8-11
木村和彦 1998b. 画像解析による根長と根の直径の測定—その 2.理論編—. 根の研究 7: 32-35
関谷信人, 矢野勝也 2002. 水素の安定同位体自然存在比から評価した植物が利用する水資源の由来. 根の研究 11: 35-42.
Sekiya, N., Yano, K. 2002. Water acquisition from rainfall and groundwater by legume crops developing deep rooting systems determined with stable hydrogen isotope compositions of xylem waters. Field Crops Res. 78: 133-139.

バビショウ林の斜面位置と細根量

陳 学群*・益守真也・丹下 健・八木久義(東大院農)

I はじめに

根系の細根は、養水分吸収機能だけでなく、森林生態系の物質生産においても重要な役割を果たしている。森林の物質生産構造に解明には、細根の量や分布、およびこれらを制御する環境要因について知ることが必要であるが、測定の困難さから研究例は少ない。そこで本研究では、中国東南部で最も主要な造林樹種であるバビショウ (*Pinus massoniana* Lamb.) 林の細根量に及ぼす斜面位置の影響について解析した。

II 調査方法

中国の東南部にある福建省林業科学院来舟試験場(北緯 26° 38' , 東経 117° 57')に造成された 20 年生(2000 年時点)のバビショウ人工林を調査地とした。調査地は標高 190~420m の南向き斜面にあり、平均斜度 25 度である。調査地の母材は黒雲母花崗岩である。当地域は、年平均気温 19.4℃、平均年降雨量 1,800mm、相対湿度 80% であり、亜熱帯の気候帯に属する。

2000 年 11 月に斜面の上部(標高 380m)、中部(300m)、下部(230m)でそれぞれ 20m×20m のプロットを設け、胸高直径、樹高の毎木調査を行なった。2000 年 11 月時点での、斜面上部、中部、下部の林分平均胸高直径はそれぞれ 12.8、14.8、17.2cm、平均樹高はそれぞれ 11.6、14.7、16.5m、立木密度はそれぞれ 1,875、1,550、1,375 本/ha であった。

毎木調査を行なったのち、胸高直径の分布に応じて各プロットで 7 本の標準木を伐倒した。伐倒した標準木の樹冠投影面の根系を掘り上げ、地表から深さ 10cm ごとの階層に区分し、それぞれの階層に含まれる根を根株、大径根(直径 $d \geq 20\text{mm}$)、中径根($20\text{mm} > d \geq 2\text{mm}$)、細根($d < 2\text{mm}$)に分け、それぞれの現存量を測定した。樹冠投影面より外に出ている標本木の根もあったが、標本木の樹冠が隣接する個体の樹冠と接している鬱閉した林分であることから、周囲に出ている根量と入っている根量と同じであると仮定し、樹冠下にある根がすべて標本木の根として現存量を算

出した。

測定した根の各部分から得た試料を一昼夜 85℃ で乾燥し、生重と絶乾重の比を求め、現地得た採取時重を絶乾重に換算した。なお、本論文では、重量データをすべて絶乾重で示す。

III 結果と考察

1) 土壌の理化学性質の斜面位置間での変化

土壌型は、斜面上部で A 層や土壌構造の発達が悪く、やや乾燥の酸性岩粗骨性紅壤土属(日本林野土壌の分類体系の R_0 型に近い)、斜面中部および斜面下部で A 層や土壌構造の発達が良く、潤~湿の酸性岩紅壤土属(R_0 型に近い)である。A 層土壌の深さは、斜面上部、中部、下部でそれぞれ 4、13、30cm である。いずれの斜面においても土壌深さの増加に伴って全 N 含有率、全 P 含有率、交換性 Ca および交換性 Mg は指数関数的な減少傾向がみられた。

2) 細根量の斜面位置間での変化

斜面上部、中部、下部の細根量は、それぞれ 1.48、0.91、0.83t/ha、根系全量に対する細根の現存量配分は、それぞれ 6.7%、3.7%、2.8%であった。斜面位置が高いほど細根量や細根の現存量配分は大きかった。斜面上部の乾性土壌においては養水分の吸収が困難であるため、より多くの吸収根を要しなければならずその結果細根量が多くなると考えられる。

3) 細根の垂直分布の斜面位置間での変化

斜面上部、中部、下部の細根の垂直分布は、それぞれ 130、160、170cm まで分布し、斜面位置が低いほどより深く分布している。細根量の垂直分布は、いずれの斜面においても土壌断面の深さの増加に伴って指数関数的な減少傾向がみられた。表層下 40cm までの細根量の割合は、斜面上部、中部、下部でそれぞれ 92.4%、84.7%、83.8%であった。深根樹種であるバビショウの細根量の大部分が土壌層の浅いところに存在することが明らかになった。土壌が深くほど有機物、酸素および土壌の理化性が細根の成長に不適当になることに原因にしていると考えられる。

*連絡先 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Fax: 03-5841-5433 E-mail: cxq@fr.a.u-tokyo.ac.jp

乾燥ストレス条件下でのソルガムの乾物生産におけるケイ酸施肥の効果

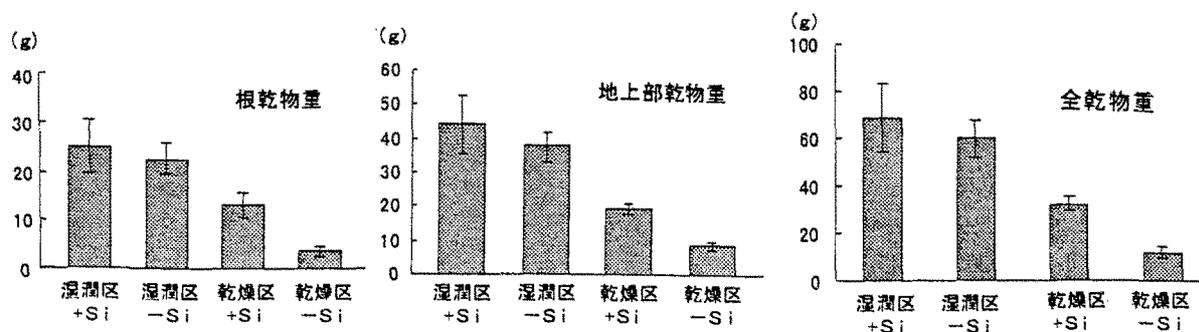
服部太一朗^{1*}・稲永忍¹・荒木英樹²・杉本幸裕¹¹鳥取大学乾燥地研究センター, ²山口大学農学部附属農場

* hat@alrc.tottori-u.ac.jp 〒680-0001 鳥取市浜坂 1390, 鳥取大学乾燥地研究センター.

イネやコムギなどのイネ科作物では, ケイ酸を施用することによって, 耐病性や耐塩性などの環境ストレス耐性を向上させ得ることが知られている. 本研究では, 世界の半乾燥地における主要イネ科作物であるソルガム (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) において, ケイ酸施肥が乾燥ストレス条件下での乾物生産に与える効果を解析することを目的とした.

〈材料および方法〉鳥取大学乾燥地研究センター実験圃場のビニールハウスにおいて, 2002年6月20日に, 1/2000ワグネルポットに耐乾性ソルガム品種 Gadambalia と乾燥感受性品種 Tabat を播種した. 基肥には, 窒素, リン酸, カリをポットあたり 1, 1, 3.3 g の割合で与えた. カリの給源としてケイ酸カリウムを用いたものを +Si 区, 塩化カリウムを用いたものを -Si 区とした. 消石灰を用いて, 処理区間の土壌 pH を 7.6 に矯正した. 播種後 25 日目から, 土壌含水比を毎日 0.08 g g⁻¹ に補正する湿潤区と, 0.03 g g⁻¹ に補正する乾燥区を設けた. 播種後 25 日目および 50 日目に乾物重および葉面積を測定した. 播種後 39, 40 日目に上位第 3 葉の光合成蒸散速度を測定した. 播種後 46 日目に葉身木部の水ポテンシャルを測定した. ポット重の推移から, 乾燥処理期間中の水利用効率を算出した.

〈結果および考察〉湿潤区では, +Si 区と -Si 区の間で, 地上部および根系の乾物重 (第 1 図), 乾物分配率, 光合成速度などに有意な差は認められなかった. 一方, 乾燥区では, ケイ酸を施用することによって乾物重が有意に増加した (第 1 図). 成長解析の結果, +Si 区では, -Si 区に比べて相対成長率や純同化率が高く, 上位第 3 葉における蒸散速度や葉身水ポテンシャルも有意に大きかった. 乾燥区では, ケイ酸施肥によって S/R 比が減少した. 乾燥区では, 湿潤区に比べて水利用効率が高まったが, ケイ酸施肥による効果は認められなかった. 以上の結果から, ソルガムでは, ケイ酸を施肥することによって乾燥ストレスによる炭素同化速度の低下が抑えられ, 乾物生産の減少が軽減されることを明らかにした. また, 乾燥条件下においてケイ酸を施与することによって, 地上部に対して大きな根系を形成することが明らかとなった.



第 1 図. 乾物生産量に及ぼすケイ酸施肥および土壌乾燥処理の影響 (品種 Gadambalia). 左からそれぞれ根, 地上部および全乾物重. 図中の値は平均値±標準誤差 (n=3).

AM 菌胞子発芽と菌糸伸長に対するオーキシンの影響

金子美千代、谷本英一

名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科、名古屋市瑞穂区瑞穂町字山の畑 1

E-mail: m.kaneko@nsc.nagoya-cu.ac.jp

植物ホルモンは低濃度で植物の生長を制御し、植物の生理現象に不可欠な物質であるが、これが菌根菌の発芽と菌糸の伸長にどのような働きをしているのかは明らかではない。そこで、いくつかの根圏微生物も生成しているオーキシンが、内生菌根菌 *Gigaspora margarita* の胞子発芽や菌糸伸長にどのような影響を与えるかを調査した。また、「根」存在下での菌の動態をみるため、エンドウ毛状根存在下でのオーキシンの効果もあわせて調査した。

[材料と方法]

天然オーキシン IAA および合成オーキシン NAA と 2,4-D をそれぞれ 10^{-9}M ~ 10^{-4}M 含む 1.5%寒天培地に、表面殺菌した *G.margarita* 胞子を植え付け、発芽と菌糸の伸長を計測した。菌糸長を CCD カメラ付き顕微鏡で観察し写真画像から菌糸長を計測した。MS 培地上のエンドウ毛状根の有無で同様に菌糸の伸長を比較した。また毛状根存在下での 2,4-D の効果も調査した。

[結果]

IAA, NAA, 2,4-D はいずれも 10^{-9}M ~ 10^{-7}M 濃度では発芽および菌糸伸長を促進し、 10^{-4}M では強く阻害した。MS 培地上でエンドウ毛状根が存在すると菌糸の伸長は阻害された。一方、胞子の発芽は毛状根存在下で 10^{-9}M , 10^{-7}M の低濃度 2,4-D により促進された。

[考察]

外生菌根菌では菌自体がオーキシンを合成するものがあることやオーキシンが与えられると菌根が形成され易くなることが報告されている。この実験では内生菌根菌である *G.margarita* に対するオーキシンの影響を調べたところ 10^{-9}M ~ 10^{-7}M 濃度で胞子の発芽や菌糸の伸長を促進した。このことは内生菌根菌でも微量のオーキシンが根との共生成立に効果的な働きをしていることが示唆された。植物の根の伸長にはオーキシンは 10^{-10}M で促進的であるが、 10^{-8}M 以上では阻害的である場合が多い。この実験でも 10^{-7}M の 2,4-D は毛状根の成長を阻害した。オーキシンは植物細胞と同様に AM 菌菌糸伸長に有効なホルモンであるようだが植物根細胞より高濃度でもその効果があることがわかった。この違いには、エチレンの生成や感受性の違いが関与しているかもしれない。

また毛状根により菌糸伸長が阻害された。多くの実験で根からの滲出物には発芽や菌糸伸長を促進するものや、阻害するものがあることが知られている。毛状根存在下でも低濃度 (10^{-9}M) の 2,4-D が与えられると発芽は促進された。これは根からの滲出物質による発芽阻害がオーキシンにより緩和されたとも考えられる。これまでの実験では毛状根の阻害因子が何なのか、またそれが本当にオーキシンによって緩和されているのかは確かではない。

茶園流出水が作物種子の発芽と幼根伸長に及ぼす影響

松尾喜義¹・鳥飼絵里²・野中邦彦¹・森田明雄³

(1 野菜茶研、2 静大農学部: 現富士食品、3 静岡大学農学部)

〒428-8501 静岡県榛原郡金谷町金谷2769 野菜茶業研究所茶業研究部

TEL: 0547-45-4101 E-mail: matuok@affrc.go.jp

近年、農業に起因する公共水域の硝酸性窒素による汚染の実態が次第に公表されはじめ、汚染が全国的規模であることとその深刻さにより世間の関心が向けられはじめた。農業の中でも硝酸性窒素による地下水や表流水の汚染が多い部門は、家畜糞尿の不完全処理に起因する畜産部門と集約的な肥培管理が長年続いてきた茶や野菜が代表的である。そのなかでも茶業では、ごく最近まで10アールあたり窒素施用量が年間100kgを越えるような著しい多肥栽培が長年続けられていた。緑茶の主産地である静岡県牧ノ原台地でも表流水の硝酸性窒素濃度が環境基準10ppmを越える状態が依然として続いている。畜産や野菜作などによる汚染とは異なり、茶園では茶樹がもともと強酸性土壌でも生存できることから、多肥による土壌酸性化によって茶園畝間土壌がpH 3前後まで低下しており、そこを浸透して地下から流出する地下水もpH 4程度の強酸性を呈する場合が多い。このような強酸性流出水は生物に有害で、特に魚など水生生物は強酸性の茶園流出水が流れる水系ではほとんど見いだされない。強酸性の茶園流出水は植物に対しても影響が大きいのではないかと考えられることから、本研究では数種作物種子の発芽と幼植物の生育におよぼす茶園流出水の影響について、湧出源から下流へ流下して酸が中和される過程を追って水を採取し比較調査した。

[材料と方法]

茶園流出水: 野菜茶業研究所金谷茶業研究拠点の西南方向約500mにある牧ノ原台地湧水とこの湧水が溪流を流下して棚田に流入し流出する経路で時期を変えて試験用水を採取した。

発芽試験: コムギ (イワイノダイチ)、イネ (ヒノヒカリ)、ダイコン (阿波新晩生) について直径10cmシャーレに試験水10mlを加えた湿潤ろ紙床に100粒づつ置床し恒温器で生育させた

(イネは25℃暗所で発芽、同温明所で生育、そのほかは20℃明所発芽、同温生育)、発芽試験は3反復で実施し、発芽率と幼芽・幼根の伸長を調査した。

茶園流出水の水質成分分析: pHとECを携帯型測定器で、硝酸イオンなど主要陰イオンは高速液クロ、陽イオンを原子吸光とICP発光分光法で測定した。

[結果と考察]

発芽試験を行った茶園流出水は、最も茶園に近い部分で採水した牧ノ原レキ層の宙水からの湧水でpH4.02と強酸性で硝酸性窒素30.5ppmと高濃度であったが、溪流を流下したあと棚田からの流出水では中和が進みpHが高くなり硝酸性窒素も減少していた。水に含まれるアルミニウムは宙水で28.8ppmと著しく高濃度であったが棚田から流出する水にはほとんど含まれず大幅に減少していた。種子の発芽率に及ぼす茶園流出水の影響はそれほど大きくなく、大きな影響が見られたのは幼根の伸長で、pHが低くアルミニウムイオンが多い宙水湧出で伸長阻害が大きかった。これらの阻害作用は、溪流を流下して棚田を通過する過程で緩和されていた。

以上のことから、牧ノ原台地の茶園地帯から湧出する強酸性の地下水には、作物種子の発芽生育、特に幼根の伸長を強く阻害する特性があり、溪流を流下して棚田に流入し流出する過程で、酸性の中和がおこり幼根伸長の阻害作用も消失することが明らかになった。また、幼根の伸長を阻害する成分は、強酸性の茶園地下水に含まれるアルミニウムと推定された。

[謝辞] 発芽試験に用いた穀物種子を提供いただいた九州沖縄農業研究センター (現在東北農業研究センター) 吉永悟志氏に感謝いたします。

異なるリン施用条件下における数種マメ科植物の生長とリン吸収

信田和恵*・大門弘幸・大江真道・原田二郎

(大阪府立大学大学院農学生命科学研究科)

*e-mail : k-nobuta@plant.osakafu-u.ac.jp

施肥リンの多くは土壤中で Al, Fe, Ca などの無機イオンと結合して、難溶性のリンとして土壤中に蓄積する。そのため、火山灰土壌、酸性土壌などが広く分布するわが国では、作物生産のために農耕地へ大量のリン資材が投入されてきた。その結果、農耕地におけるリンの蓄積量は増大し、一部ではリン過剰が引き起こされるまでとなった。有限であるリン資源を有効に利用するためには、低可給態リン条件下やリン過剰条件下においても優れたリン吸収を行い、かつ生育の旺盛な植物種を利用することが一つの手段として考えられる。本研究では、数種マメ科植物を異なるリン施用条件下で栽培した際の生育を調査し、あわせて難溶性リン酸の吸収能と、過剰リン施用条件下での回収能について比較した。

【材料および方法】

Sesbania cannabina, *S. rostrata*, *Crotalaria juncea*, *Cajanus cajan*, *Arachis hypogaea* (品種：千葉半立), *Glycine max* (品種：タチナガハ) を供試した。リン源として、①難溶性リン酸 ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, AlPO_4 , $\text{FePO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ をそれぞれ P として等量ずつ混合) と②易溶性リン酸 (過リン酸石灰) を用い、1/5000a ワグナーポットあたり 1.2gP (①のみ), 2.4gP (①のみ), 3.2gP (①2.4gP+②0.8gP), 4.0gP (①2.4gP+②1.6gP), 8.0gP (①2.4gP+②5.6gP) を施用する区を設けて、それぞれ P1 区, P2 区, P3 区, P4 区, P5 区とした。これらのリン源を混和した赤玉土を充填したポットに、2002 年 6 月 28 日に各植物を播種し、網室内にて 40~57 日間栽培した。

【結果および考察】

いずれの植物種においても、地上部リン含有量は P5 区で最も多く、P1 区で最も少なかった。供試植物間で比較すると、*S. cannabina* と *S. rostrata* は、難溶性リン酸単独施用区 (P1 区, P2 区) においても他種と比べて高い乾物重とリン含有量を示し、両植物種が低可給態リン条件下においても乾物生産能と難溶性リン酸吸収能に優れることが示唆された。*G. max* と *C. juncea* における易溶性リン酸混合施用区 (P3 区~P5 区) における地上部リン含有量は、難溶性リン酸単独施用区 (P1 区, P2 区) に比べて著しく高い値を示し、その程度は両 *Sesbania* 種に比べて大きかったことから、両植物では易溶性のリン吸収が乾物生産に大きく貢献したと考えられた。一方、アルミニウム態および鉄態のリン酸の吸収能に優れていると報告されている *C. cajan* と *A. hypogaea* では、P1 区と P2 区において乾物重ならびにリン含有量が著しく少なく、本実験条件下では難溶性リン酸の吸収機能は確認できなかった。

S. cannabina と *S. rostrata* の難溶性リンの吸収には、根による有機酸の分泌が影響することが報告されている。一方、本実験では、それぞれに共生する根粒菌を接種したが、*C. juncea*, *C. cajan*, *A. hypogaea*, *G. max* の難溶性リン酸単独区における根粒着生は著しく少なく、*S. cannabina*, *S. rostrata* では多かったことから、根粒菌の土壤中での増殖程度や窒素固定能の発現時期の差異が難溶性リン酸吸収に何らかの影響を及ぼしている可能性も考えられた。そこで、これらの根粒菌のリン酸溶解能について調べたところ、*S. cannabina* の根粒菌に溶解能が認められた。今後、*S. cannabina* と *S. rostrata* の難溶性リン酸吸収機能を植物体側と根粒菌側の要因別に明らかにしていきたいと考えている。

報告

改造セル成型トレイにおけるキャベツセル成型苗の移植直後の生育について

王学武^{1,3}・*吉田 敏¹・中野明正²・筑紫二郎¹¹九州大学生物環境調節センター・²野菜茶業研究所果菜研究部・³青島市種苗センター

*〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1 九州大学生物環境調節センター yochi@agr.kyushu-u.ac.jp

セル成型トレイを用いたセル成型苗育成は既に様々な園芸作物の苗生産場面に広く普及している。ところが、キャベツなどの一部の作物種では、セル成型苗を本圃に移植した場合に「活着が悪い」と呼ばれる移植後の初期生育の不良や根の伸展が土壌の浅い領域にとどまる現象が、かつて慣行法であったビニルポット苗や直播き栽培と比べて頻繁にみられることが以前から指摘されており、その状況は未だに改善されていない。また、セル成型トレイは小さなセルが多数集まった形状であることから根域が小さく制限され、個体間の距離が近い。このため苗の移植適期が短く、根づまり、地上部の過繁茂および徒長を起こして移植後生育が不良となる、いわゆる「苗の老化」を生じやすい。このような移植後生育の良否こそが苗の品質を決める最大要因であることから、著者らはこれまでセル成型苗の移植直後の根の生育を改善する方法について検討してきた(吉田, 2000)。

セル成型苗の育成過程で、狭いセルの外縁に沿って根が巻いて密集し、根系全体が塊となる現象を根鉢形成といい、これが生じると移植後生育が良くないということが経験的に指摘されている。この根鉢形成がセル内の播種用土に水分が滞留するために生じるという仮定のもとにセル壁にスリット状の穴(溝)をあけて排水を促したトレイでキャベツ、トマトなどの苗を育成する試みが行われ、根が横方向に伸びて外縁に沿って巻く傾向が抑えられ、根鉢形成の抑制効果があることが認められている(中野, 1998)。そこで、本研究では根鉢形成を抑えた苗の移植後生育の様相を明らかにするために、セル壁にスリットを入れたトレイで育成したキャベツセル成型苗の移植直後(2週間)の苗の生育を調べた。併せて、セル壁と用土との間に滞留する水分の排除を促す目的で、撥水剤を塗布して壁面の撥水性をより高めたトレイを用いて苗を育成し、その移植後生育を調べた。

128穴セルトレイについて無処理のもの、スリットを入れたものおよびシリコーン系撥水剤を塗布したものを用意し、それぞれに播種用土を詰めてキャベツ(品種おきな)の種子を播種した。これを人工照明グロースチャンバ(気温20℃、湿度70%RHおよび光強度200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の12時間日長)に置き、同じ頻度で灌水して4週間生育させた。これを1/5000 aワグネルポットに硅砂を詰めたものに移植し、引き続き同じ環境条件で生育させて2週間後に生育調査を行った。

セル壁にスリットを入れて育苗した場合、苗を抜いた際に用土の外側にみられる根は少なくなった。また、撥水処理トレイでも外壁に沿って根が巻く傾向はいくぶん弱くなり、セル内の水分滞留を抑えることを意図した処理によって根鉢形成が抑えられることが再確認された。この方法で育成された苗の移植後生育をみると、地上部の生育(展開葉数・個体あたり葉面積)には顕著な差はみられなかった。一方、根の移植後生育については、無処理トレイの苗では前報と同様に多数の細かく短い根が発生する、いわゆる「浅根性」の根系構造を呈し、スリット・撥水処理では深く大きく伸展する根が発生する個体もみられたものの無処理トレイの苗との明瞭な差異はみられなかった。むしろ、移植後に伸展した根の重量を調べると、無処理トレイ苗よりもスリットあるいは撥水処理トレイ苗において根重が小となる傾向にあった。これは、全てのトレイについて育苗中に同じ頻度で灌水したためにセル内の排水が良好であることが逆に用土の水分不足を生じさせ、その結果として移植後の活着が遅れたことを示唆している。

以上のように、セル内の水分滞留を抑えることを意図したトレイの改造では根鉢形成の抑制効果はみられたものの移植直後の初期生育への効果は見出せず、セル内の水分滞留対策が移植後の根の生育を改善するための方法として有効であるとはいえなかった。しかし、トレイの排水を促す改造をした場合の最適水分量の制御を検討する、あるいは移植後生育期間をより長くして再度調査するなど、検討の余地はあると考えられる。

* 本研究は平成14年度科学研究費補助金：基盤研究(C)(2)；課題番号 12660237 により遂行された。

菌根共生と土壤圧縮による酸性土壤ストレスの緩和

高木美奈子*・矢野勝也 (名古屋大学大学院生命農学研究科)

*E-mail: i011022m@mbox.media.nagoya-u.ac.jp

土壤の酸性化が進行すると作物の生育が抑制されることはよく知られている。その原因としては、1) K, Ca, Mg および P などの必須元素の欠乏と 2) Al や Mn などの過剰障害の 2 つに大別することができる。本研究は、1) 養分吸収を促進する菌根共生、2) 有害元素から根端を保護する根分泌物を増加させる土壤圧縮を取り上げ、酸性土壤ストレスの緩和効果を検証した。なお、ここでは茶園から採取した強酸性土壤 (pH 4.2) を供試した。

1) pH 5.2 以下で収量が著しく低下するサツマイモにおいて、菌根形成が酸性土壤ストレスを緩和できるかを調査した。菌根菌 (*Gigaspora margarita*, 以下 AM) 接種区・非接種区を設け、サツマイモ (関東 83 号) を 30 日間栽培した。その結果、AM 接種区において、AM 非接種区と比較して地上部地下部共に乾物重の増加が確認できた (下図)。植物体の元素分析の結果、サツマイモに対するこの土壤の生育阻害要因として Al の過剰や P, K, Ca の欠乏を確認することはできなかったが、地上部 Mn 濃度は明らかに増加していた。ただし、ストレスが緩和された接種区の Mn 濃度は非接種区同様に高かった。葉身 Mn 濃度が高くても、Si 共存下ではその毒性が弱まることが知られている。したがって、菌根形成が Si 吸収を促進し、その結果 Mn 過剰ストレスを緩和させたのではないかと推察している。

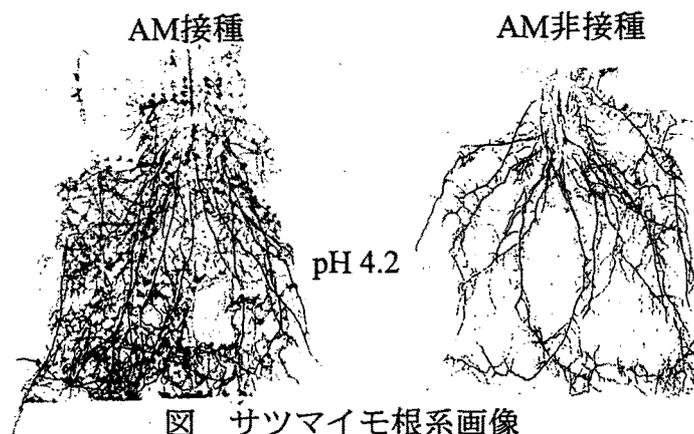


図 サツマイモ根系画像

2) 土壤圧縮区 (1.0 g/cm^3)・非圧縮区 (0.8 g/cm^3)を設けてコムギ (農林 61 号) を 28 日間栽培した。その結果、非圧縮区と比較して圧縮区コムギの根系はよく発達し、乾物重も明らかに大きくなった。このことから、土壤圧縮により、コムギに対する酸性土壤ストレスを緩和できることを確認した。

以上の結果から、サツマイモに対する菌根共生が酸性土壤条件下の養分欠乏を改善するよりもむしろ、Mn 過剰障害を緩和させることを見いだした。その機構として、菌根共生による Si 吸収の促進が考えられるので、これを調査する必要がある。コムギを用いた実験から、土壤圧縮処理は根の分泌活動を旺盛にして、根端を Al などの有害物質から保護したために酸性土壤ストレスを緩和できたと考えている。

【謝辞】

独立行政法人 農業技術研究機構 野菜茶業研究所 (金谷茶業拠点) 松尾喜義氏により茶園土壤*をご提供頂いた。ここに記して、謝意を表す。

菌根菌糸のトウモロコシへの有機物由来窒素供給能

田中洋子*・矢野勝也

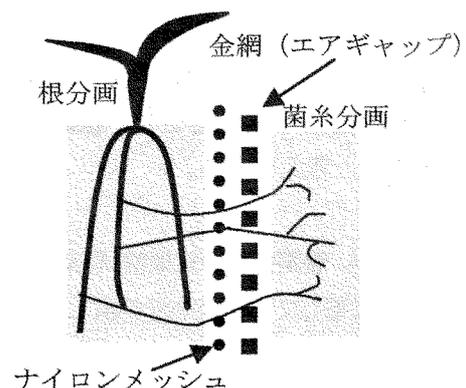
(名古屋大学大学院生命農学研究科)

*E-mail: i011027m@mbox.media.nagoya-u.ac.jp

【背景および目的】作物が VA 菌根を形成すると、地力窒素（土壤腐植由来窒素）の利用能が向上することは以前から知られている。しかし、その機構としては菌糸の窒素供給能よりもむしろ、菌根形成に伴って根系が良く発達したためと考えられてきた。私たちは、菌根菌が硝酸態窒素をトウモロコシに供給する能力は無視できるのに対し、アンモニア態窒素を宿主作物へと供給する能力は非常に高いことを明らかにした。この結果は、土壤腐植の無機化に伴って放出されたアンモニア態窒素を、菌糸が速やかに獲得し宿主へと供給することで、宿主の地力窒素利用能を向上させる可能性を示唆する。そこで、本研究では菌根菌が土壤腐植由来窒素を宿主へと供給するか否かを検証した。また、植物残渣由来窒素に対する菌根菌の供給能についても同時に検証した。

【材料および方法】根は通過できないが菌糸は通過できるナイロンメッシュ（孔径 50 μm ）を用いて、根分画と菌糸分画に分けた根箱（下図）を用意した。根分画には有機物含量の低い壤質砂土を充填し、菌根菌 (*Glomus aggregatum*) を接種してトウモロコシを栽培した。十分に感染が進んだ後、以下に述べる 3 種類の菌糸分画を設置した。すなわち、根分画と同じ壤質砂土（対照区）、腐植に富む黒ボク土（腐植区）、壤質砂土にトウモロコシ残渣 (0.46 atom% ^{15}N , C/N 比 13) を加えたもの（植物残渣区）の 3 処理区を設けた。なお、この壤質砂土と黒ボク土の $\delta^{15}\text{N}$ 値が大きく異なること、そして、それぞれの土壌で栽培したトウモロコシの $\delta^{15}\text{N}$ 値にもその差異が反映されることをあらかじめ確認している。菌糸分画を設置する際に、分画間に厚さ 1.5 mm の金網をエアギャップとして設け、菌糸を介してしか作物が菌糸分画から窒素を獲得できないようにした。

【結果および考察】本実験において、対照区と他の処理区との間でトウモロコシ地上部の $\delta^{15}\text{N}$ 値に差異が生じた場合、それは菌糸が菌糸分画から有機物由来の窒素を吸収し、トウモロコシへと輸送したためと考えることができる。結果として、菌糸分画設置後 40 日目のトウモロコシ地上部の $\delta^{15}\text{N}$ 値は、対照区と他の処理区との間で有意な差異が認められた。また、トウモロコシ地上部の窒素含量は植物残渣区で最も高く、続いて腐植区、対照区の順であった。したがって、菌根菌は植物残渣および土壤腐植から放出された窒素を吸収し、宿主であるトウモロコシへ供給していたと考えられる。本研究により、菌根菌が腐植由来窒素を宿主に直接供給する能力をはじめて確認することができた。



トウモロコシとエンバクの根軸における代替呼吸活性の分布

笹川 正樹*・巽 二郎

(名古屋大学大学院生命農学研究科)

*E-mail : i011017m@mbox.media.nagoya-u.ac.jp

作物の根の呼吸の数 10%は ATP を生産しない代替呼吸であると言われている。代替呼吸は、ストレス応答などに関与しているという指摘もあるが、その生理的意義は十分解明されていない。代替呼吸の割合は作物の種類や根のエイジによって変化すると考えられている。本研究ではトウモロコシとエンバクの根の呼吸に占める代替呼吸 (Alternative 経路キャパシティー, Alternative 経路活性) の分布をトウモロコシとエンバクの根軸にそって調べた。

材料と方法：発芽させたトウモロコシ (ポップコーン) とエンバク (エンダックス) をグロースチャンパー内で温度 25°C、明期 12 時間の条件下で、水道水で生育させた。それぞれ播種後 3、5、7 日目に種子根の先端から 2cm までの部分 (エンバクは 1.5cm) 基部から 2cm までの部分、中央部の 2cm の部分 (それぞれ先端部、基部及び、中央部と呼ぶ) とに切り分けた。酸素電極 (Clark 型 Hansatech 社製) を使用して 25°C で、根の呼吸速度を測定し、その後、2.5mMKCN と 10mMSHAM を順次加えてチトクローム経路活性と代替呼吸速度を測定した。

結果と考察：種子根の各部位における呼吸速度の平均値の推移について見ると、トウモロコシの呼吸速度は時間と共に減少したが、エンバクでは増加した。両者の呼吸速度のレベルはほぼ同じであった。根軸に沿った全呼吸速度の分布を播種後 5 日目のトウモロコシについて見ると、先端部で最も高く、基部に向かって急速に低下した。しかし根軸の中央部と基部との間の差は小さかった。全呼吸中に占める代替呼吸の割合を代替呼吸活性で見ると、先端部、中央部及び、基部でそれぞれ約 26%、30%及び、31%であった。これは代替呼吸容量に対してそれぞれ、約 93%、41%、74%に相当した。種子根における代替呼吸活性の割合は全呼吸量の約 30%程度であり、トウモロコシとエンバクとの間で顕著な差は認められなかった。次に播種後 5 日目のエンバクについてみると、根軸に沿った全呼吸速度の分布はトウモロコシの場合とよく似ていたが、中央部と基部における低下が顕著であった。代替呼吸の割合を見ると、先端部、中央部及び、基部でそれぞれ約 82%、86%及び、78%に相当した。種子根における代替呼吸活性の割合は全呼吸量の約 30%程度であり、トウモロコシとエンバクとの間で顕著な差は認められなかった。代替呼吸活性の割合について根軸に沿ってみると、播種後日数によって多少の変動はあるものの、根軸全体に渡ってほぼ同じレベルの割合を示した。また、この傾向は両種の間で同様であった。

以上の結果から、試供した種子根では呼吸速度は根軸に沿って大きく変化するが、代替呼吸活性は全呼吸のほぼ 30%前後を占めることが解った。

作物根の成長に及ぼす土壤の水・空気・硬さ環境の影響 ：幼根の伸長・肥大成長の種間差

加藤純子*・飯嶋盛雄

(名古屋大学大学院生命農学研究科)

*E-mail:i011012m@mbox.media.nagoya-u.ac.jp

自然条件下の土壤は、時として根の成長に対して不適な環境となる。根の生育を制限する物理的ストレスには、乾燥、嫌気および機械的ストレスなどがあり、圧縮された土壤ではこれらのストレスが複合して作物根に影響を及ぼす。Eavis(1972)は土壤の水・空気・硬さ環境がエンドウ幼根の伸長成長に及ぼす影響を調査し、それぞれの環境因子がどの強度でストレス要因になりうるかを明らかにした。しかし、その後類似する研究は原著論文としては認められず、はたして他の作物種についても同様の傾向が認められるか否かに興味もたれる。さらに、Eavis(1972)の研究では土壤の空気環境は気相率によって評価されているため、異なる粒径組成の土壤では適用し得ないという制限がある。そこで本研究では、イネ科、マメ科を含む異なる4種の作物を供試し、上記3種類の複合ストレスに対する幼根の成長反応に、種間差が認められるかどうかを明らかにすることを目的とした。また、土壤の空気環境に関しては、酸素拡散速度を測定することによって、供試土壤の違いによる影響を排除することを試みた。

【材料および方法】 実験には木曾川壤質砂土(砂 87.0%,シルト 9.6%,粘土 3.4%)を用いた。

供試土壤の物理性を評価するため、異なる容積重における水分特性曲線、酸素拡散速度(ODR)および貫入抵抗値を測定した。土壤容積重は 1.3、1.4、1.5 Mg m^{-3} の3段階に設定した。土壤の水ポテンシャルは、0～-120kPaでは加圧板法、それよりも負圧の領域ではサイクロメーター法を用いて測定した。酸素拡散速度(ODR)は白金電極法により、貫入抵抗値は直径 0.98mmの探針により 1mm/minの貫入速度で測定した。

トウモロコシ(ポップコーン)、イネ(IRAT109)、エンドウ(成駒三十日)、ワタ(ドワーフコットン)を供試した。土壤容積重を3段階(1.0、1.3、1.5 Mg m^{-3})、水ポテンシャルを4段階(-1, -5, -10, -80, -900kPa)に設定した円筒(内径 50mm×深さ 50～150mm)に各作物を播種し、20℃のグロースチャンバー内で2日間生育させた。その後サンプリングを行い根長と根端から 5mm 部位の根の直径を測定した。

【結果および考察】 土壤容積重が 1.0 Mg m^{-3} の場合、機械的ストレスは全く認められず、土壤乾燥の影響だけを単独に評価できる。その場合、トウモロコシとワタではマイルドな乾燥ストレス(-80 kPa)により伸長促進を認めたが、イネとエンドウでは認められず、また強い乾燥(-900 kPa)でも伸長抑制は認められなかった。一方、土壤容積重が 1.3 Mg m^{-3} の場合、土壤乾燥に伴い機械的ストレスが大きくなることによって、いずれの作物でも伸長抑制を認めた。同様に、土壤容積重が 1.5 Mg m^{-3} の場合には、その傾向がより強調された。トウモロコシとエンドウでは、-5 kPaの水環境で嫌気ストレスが認められたのに対し、イネとワタでは、成長速度の低下は認められなかった。根の直径をみると、ワタでは、土壤の水分条件に関わらず、土壤の抵抗と比例的に肥大成長を認めた。これに対し他の3種では、乾燥条件下において比例的な根の肥大を認めなかった。すなわち、乾燥ストレスによって肥大程度が緩和されたといえよう。今後は内部形態の比較も行う予定である。

コムギの種子根伸長角度と草丈および千粒重の関係

小柳敦史・乙部 (桐渕) 千雅子・柳澤貴司・村中聡
(農業技術研究機構)

e-mail: oyanagi@affrc.go.jp

コムギの種子根の伸長角度には品種間差異があり、1週間令の幼植物の種子根について水平から下向きに測った伸長角度は、北日本や海外の品種で大きく、関東以西の品種で小さいことが分かっている。このことを利用して、私達は同じ交配組み合わせで得た姉妹系統 (DH固定系統) から浅根性の実験系統 (S群9系統) と深根性の実験系統 (D群9系統) を選抜し、D群がS群より深い根系を作ることを確認した (小柳ら 2001)。一方、地上部については、個体あたりの莖数、地上部全重、子実重については群間に差が見られなかったが、S群はD群に比べ草丈が高く、千粒重が大きい傾向が見られた。この理由として、種子根の伸長角度を決める遺伝子が草丈や千粒重を決める遺伝子と連鎖している可能性がある反面、選抜過程における偶然の片寄りの結果である可能性も考えられる (小柳ら 2001)。そこで、本研究では、前報と同じ交配組み合わせから得た113系統と別な交配組み合わせから得た50系統について、幼植物の種子根伸長角度と成熟期の草丈および千粒重の関係を調べた。

材料と方法

前報と同じあやひかり (浅根性: 旧系統名関東119号), キヌヒメ (深根性: 旧系統名東山30号) および Rosella (深根性) の三系交配から得た113系統 (DH系統) とバンドウワセ (浅根性と推定), きぬあずま (浅根性: 旧系統名関東117号), Cadoux (深根性) の三系交配から得た50系統 (DH系統) を供試した。2001年~2002年の冬作として、福島市にある東北農業研究センターの淡色黒ボク土の畑圃場および厚層腐植質黒ボク土の土壤枠圃場に栽培し、成熟期の草丈と千粒重を調べた。また、これとは別に20℃に設定した人工気象室内で、バスケット法により各系統の種子根伸長角度を求めた。

結果と考察

成熟期の草丈の値は栽培土壌間に有意な正の相関関係があり、また両圃場から得られた種子の千粒重にも有意な正の相関関係があったことから、地上部特性は栽培土壌の違いに関わらず遺伝的に安定した特性であることが確認された。そこで、バスケット法で調べた種子根伸長角度の値と比較したところ、成熟期の草丈の値、千粒重の値とも種子根伸長角度の値と明らかな相関関係にはなかった。このことから、これらのコムギ実験系統においては、種子根伸長角度は草丈や千粒重と直接的な遺伝的関係がないことが明らかになった。

イネ科作物の草丈の変異は半矮性遺伝子の有無に大きく依存している。これまでの報告では、イネでは多くの品種を調べた結果から根系の深さと草丈は正の相関関係が見い出されてもいるが、遺伝的背景を揃えて半矮性遺伝子の有無で比較すると根系の深さと草丈の関係は見られない。一方、コムギでは半矮性遺伝子が根系の深さに影響を与えるという報告もあるが、本研究で用いた実験系統については半矮性遺伝子の数や種類が不明であるため、この点についての検討は今後に残された。

引用文献

小柳敦史・乙部 (桐渕) 千雅子・柳澤貴司・本多一郎・和田道宏 2001. 種子根伸長角度を指標にした根系の深さが異なるコムギ実験系統群の作出. 日作紀 70:400-407.

PCR-DGGE 法を用いた根圏微生物の解析

水田および畑地の根圏微生物相の比較

○土肥哲哉¹⁾・阿部淳²⁾・萩原佑介²⁾・森田茂紀²⁾

1) 西原環境衛生研究所 2) 東京大学農学生命科学研究科

E-mail:tetsuya_doi@nishihara.co.jp

1. はじめに

根圏微生物のなかには植物の養分吸収を促進するものなどがあり、植物の生育状況を把握する上でも微生物の評価は重要である。しかし、従来の微生物試験では正確な評価は難しく、迅速・簡便な試験法が望まれている¹⁾。一方、最近の分子生物学の急速な発展により遺伝子レベルで直接的に微生物の解析が可能となった。筆者らは FISH 法を用いて根圏微生物の解析を試みた先の研究²⁾(土肥 *et al.* 2001) に続き、PCR-DGGE 法を用いて水田・畑地の根圏微生物の菌相解析への適用を検討したので報告する。

2. 材料と方法

2002 年 9 月 5 日に、東京大学附属農場(西東京市)の水田および畑地でイネ(日本晴)の作付区画と無作付区画(Bulk)から深さ約 15cm までの土壌をそれぞれ無作為に 2ヶ所採取し、作付区画については無菌水に浸漬してからハンドリング・水中分画および超音波処理(5min)によって根に付着の土壌を根圏土壌として分画したものを供試料とした。

PCR-DGGE 法は以下のプロセスで実施した。

①ショ糖浮遊: 供試料 1mL をマイクロチューブに入れホモジナイズ処理後 PBS にて基質洗浄してからショ糖浮遊により、根圏土壌から微生物を分離・精製した。②平板培養: 供試料を寒天培地(栄研パールコア標準培地)で 25°C・48 時間培養③DNA 抽出: 培養試験にて得られたコロニーを回収し、ベンジルクロライトにて 48°C・30 分 DNA 抽出を行った。④PCR プライマーおよび PCR 反応: バクテリアの 16SrDNA をコードするプライマー(Forward:5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3' Reverse:5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')を用いた。反応条件は熱変性 94°C・1 分、アニーリング 53°C・1 分、プライミング 72°C・2 分×35 サイクルにてテンプレート DNA の特異部位を増幅後 2%アガロースゲル電気泳動にて 16SrDNA を確認した。なお、PCR は Forward プライマーの GC クランプ付および GC クランプ無の 2 回行って検出感度を上げた。⑤DGGE: PCR により得られた産物について尿素とホルムアミドの変性剤で 20-50%の濃度勾配をもつポリアクリルアミドゲルを用いて 130V・4.5 時間の条件で泳動させた。

M ① ② ③ ④ ⑤ ⑥

3. 結果と考察

PCR-DGGE 法による泳動写真を図-1 に示す。

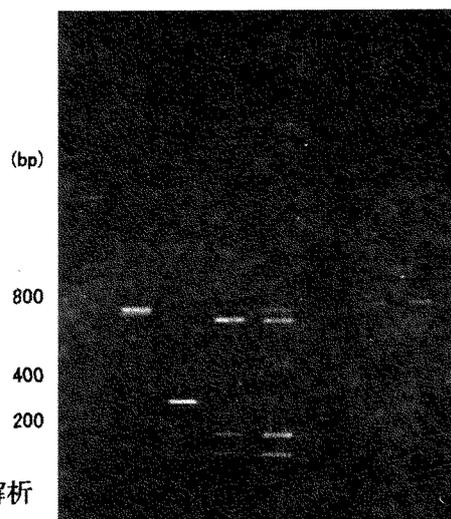
泳動結果から、①②の水田根圏では 400,700,800bp および③④の畑地根圏では 200~800bp で明瞭な DNA バンドが確認され、水田と畑地の根圏を構成する微生物相が異なることが確認された。また、⑤⑥の Bulk の DNA バンドは水田および畑地の DNA バンドよりも少ないことから、根圏は非根圏に比べ微生物種に富み多様性であることが考察された。

4. 今後の展開

水田、畑地および Bulk で確認された DNA について塩基配列を決定して菌種を同定後、系統解析を行なう。

また FISH 法と組み合わせて作物間や根系部位の区分に伴う根圏微生物相の比較・検討を行なう。

図-1 根圏微生物の菌相解析



M:Maker ①②:水田 ③④:畑地 ⑤⑥:Bulk

引用文献: 1)土肥哲哉.2002.分子生物学的手法を用いた根圏微生物の新しい解析-植物の根に関する諸問題(107)-.農業および園芸.Vol77,No6,719-723.

2)Doi,T,Abe,J,Boran,Z,Morita,S. 2001. Proceedings of the 6th Symposium of the International Society of Root Research 11-15 November 2001. Nagoya, Japan. 430-431.

謝辞: イネの栽培管理をして頂いた東京大学大学院農学生命科学研究科附属農場の鷲頭登技術官、市川健一郎技術官ならびに佐々木ちひろ技術官に謝意を表します。

Key word: 根圏微生物, PCR-DGGE, 水田, 畑地.

FISH 法を用いた根圏微生物解析
 プロトコールの改善と水田・畑の比較
 土肥哲哉¹⁾・○萩原佑介²⁾・阿部淳²⁾・森田茂紀²⁾

1) 西原環境衛生研究所 2) 東京大学農学生命科学研究科

E-mail: a10014@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

筆者らは前報(土肥ら 2002)に続き蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション(FISH)による根圏微生物相の解析を行った。本研究では酵素処理によるプローブの透過性の改善と、新たなプローブによる水田と畑地の根圏微生物相の定量化を試みた。

・材料と方法

2002年9月5日に、東京大学附属農場(西東京市)の水田および畑地で深さ15cmまでのイネ(日本晴)の根を採取し、それぞれ10cmの1次根を10本ずつ無菌水に浸漬し、超音波処理により根に付着した土壌を根圏土壌として分画したものを供試料とした。

FISH法は以下のプロセスで実施した。(1)シヨ糖浮遊: 供試料を基質洗浄してから、シヨ糖浮遊により、根圏土壌から微生物を分離・精製した。(2)試料固定: 4%パラホルムアルデヒドで5時間固定。(3)リゾチーム処理: グラム染色を行った結果、グラム陽性菌が多かったため、試料に5mg/mLのリゾチームを添加し30°C・5分、室温・25分反応させ、プローブの細胞内への透過性を改善した。(4)ハイブリダイゼーション: 固定後の試料10 μ lをスライドガラスに添加した後、数種のプローブを46°C・3時間ハイブリダイズし、48°C・20分リンスを行った。(5)検鏡: 蛍光顕微鏡で観察し画像をパソコンに取り込んだ。(6)定量化: 画像を2値化し、観察対象の土壌残渣の面積と蛍光の面積の比を求めた。

また、FISHとの比較のため、供試料の一部を標準寒天培地で25°C・10日間培養した。

・結果と考察

DAPI染色およびFISHによる蛍光顕微鏡画像を図1に示す。今回の方法では、全細菌量や各グループの細菌が占める割合を水田・畑間で数値により相対的に比較できた。全細菌の量は水田より畑地が多く、培養試験のコロニー数が畑地でやや多かったという結果と一致した。このことから、培養できる細菌に関してはFISHによる定量がある程度有効であることがわかる。今後は、定量法の改善に加え、プローブの種類を増やしてより多くの菌種を検定できるようにしたい。



図1 水田の根圏土壌のFISH法による蛍光顕微鏡画像(400倍)。同じプレパラートで、左からDAPI染色、グラム陽性菌低GC含量タイプ用プローブ(LoGC)、*Clostridium*用プローブ(CLOS621)により蛍光標識したもの。

引用文献: 土肥ら 2002. 根の研究 11(2):p81.

謝辞: イネの栽培管理をしていただいた東京大学大学院農学生命科学研究科附属農場の驚頭登技術官、市川健一郎技術官ならびに佐々木ちひろ技術官に謝意を表します。

水稻における出液中の全窒素量の生育にともなう推移と日変化

境垣内 岳雄*・森田 茂紀・阿部 淳

東京大学大学院農学生命科学研究科

E-mail: gaichiman@hotmail.com

出液速度は根系の生理活性を評価する指標となるほか、採取した出液の成分分析も可能であり、養分吸収能の把握にも有用である。本研究では、出液速度と出液中の全窒素量との推移を調査し、根系の生理活性および養分吸収能について検討した。また出液速度は根量×根の生理活性と考えられるので、根量、根長、節根数がどの程度関与しているかについても検討した。さらに重要な栽培管理の1つである追肥による出液速度、出液中の全窒素量への影響についても検討した。

【材料と方法】(1) 千葉県佐倉市の農家水田で慣行栽培されたコシヒカリを対象として、田植え後 46 日から収穫期まで毎週 1 回ずつ午前中に出液速度を測定した。また、穂揃前 28 日の栄養成長期に、2 時間ごと連続 26 時間測定をして日変化を検討した。採取した出液は冷凍保存した後、アルカリ性ペルオキシ硫酸カリウム分解 - 紫外線分光光度法により出液中のすべての窒素成分である全窒素の濃度を測定した。また、出液中の全窒素濃度×出液速度により 1 時間あたりの出液中の全窒素量を算出した。出液速度とともに根重、根長、節根数なども測定したが、出液を採取した株を中心に直径 15 cm、深さ 15 cm の円柱状の土壌モノリスを採取し、そこに含まれる根の長さをルートスキャナで測定した後、乾物重を測定した。(2) 東京大学構内のビニールハウスで、コシヒカリを基肥 1gN 施肥した 1/2000a ワグナーポットにおいて栽培した。移植後 58 日に窒素 0.5gN を追肥し、その後の出液速度と出液中の全窒素量とを経時的に測定した。

【結果と考察】(1) 出液速度は、午前 6~7 時頃に最高となり、午後に低下して夜間に再び上昇するという日変化を示した。また、出液中の全窒素濃度と全窒素量とはいずれも、日の出前後から急激に増加し、8~9 時頃に最高となった後、緩やかに減少を始め、日没前後に急激に減少するという推移を示した。これより出液中の全窒素量は明期に多く、暗期に少ないことから、窒素の吸収は光条件に大きく影響を受ける可能性が示唆された。そこで午前中における出液速度の生育にともなう推移をみると、出穂期まで増加を続けた後、急激に減少した。根重および根長はいずれも出液速度と同様の推移を示し、根重、根長と出液速度との間には正の相関関係が認められた。一方、節根数と出液速度との関係は明瞭ではなかった。出液中の全窒素濃度は全生育期間を通して緩やかに低下する傾向が認められ、全窒素量は穂揃前 20 日にピークとなり、出穂期以後に急激に減少するという推移を示した。(2) 出液速度に対する追肥の影響をみると、追肥 12 時間後までは追肥区と無追肥区との間に有意な差は認められないが、24 時間以後は追肥区が無追肥区を上まわった。また、出液中の全窒素量は出液速度の場合とは異なり、追肥 12 時間後から追肥区において顕著な増加が認められ、出液速度よりも早く追肥の効果が現れていた。また、農家水田における結果と同様に、暗期よりも明期の方が出液中の全窒素量が顕著に多かった。

塩化ナトリウム処理に対する水稻幼植物の根の形態的反応

和田琢磨¹・阿部 淳^{2*}・森田茂紀²・稲永 忍³¹ 東京大学農学部; ² 東京大学大学院農学生命科学研究科; ³ 鳥取大学乾燥地研究センター

*E-mail: abejun@cup.com

作物の耐塩性を向上させるために、直接培地に接している根での障害や適応の様相を把握することは重要と考えられる。水稻の塩ストレスに関する研究は多く行われているが、塩ストレスを受けた際に根の量や形態がどのように変化するかということはあまり明らかになっていない。本研究では、イネの幼植物を用いて培地に塩化ナトリウムを加えた場合の根量の変化を調査した。

材料と方法: 水稻 (*Oryza sativa* L.) の日本晴と Lemont の2品種を用いた。日本晴は耐塩性がやや強いとされる品種である。400ml のポットにイネ育苗用の培土(イセキ)を充填して播種し各ポット2個体で栽培した。苗立ち後に水を張ったコンテナに移して灌水し、さらに播種後17日目から35日目までの18日間にわたって、0mM, 50mM, 100mM の3水準の塩化ナトリウム溶液の入ったコンテナに移して灌水栽培した。

播種後35日目に土を洗い流してイネを採取し、70%エタノール液で保存し、1次根数、1次根長、総根長(ルーツキャナ測定値)、根重(乾物重)を測定した。

結果と考察: 塩ストレスの程度を茎葉部乾物重で評価すると、Lemont は50mM 区では対照区(0mM)と同程度であったが、100mM 区では約45%に低下した。日本晴は50mM 区ではむしろ対照区より85%ほど生育が促進され、100mM 区で対照区と同程度であった。また両品種とも、葉齢は塩処理の影響をあまり受けず、SPAD 値は塩処理により増大した。

根の反応を根重で見ると、Lemont は対照区に比べて50mM 区で65%、100mM 区で35%まで低下し、日本晴も100mM 区では50%まで低下しており、Shoot/Root 比は塩処理により著しく増大した。しかし、根長をみると塩ストレスの影響は小さく、特に1次根の長さは塩処理による差が小さかった。総根長で見ても、50mM 区ではむしろ増加しており、100mM 区でもLemont は対照区の70%、日本晴は95%を保持していた。すなわち、塩ストレスにより根は比根長(=総根長/根乾物重)が大きくなるような形態の変化を示した。

以上の結果から、両品種ともに、塩ストレスにより茎葉部に比べて根への乾物の分配が著しく低下したが、根(特に1次根)が細長くなることで根長を維持していたものと考えられる。根の分枝の発達程度を示す分枝指数(=総根長/全1次根長)は100mM 区で小さく、このことも、塩ストレスにともなう比根長の増大が、側根の発達ではなく、主に1次根の形態的变化によることを示唆している。

圃場栽培したトウモロコシの節根の伸長角度と根冠の形態との関係

伊藤 香織*・森田 茂紀・阿部 淳

東京大学大学院農学生命科学研究科

*E-mail: aa27001@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

根系形態を規定している重要な要因の一つは、根系を構成している個々の根の伸長方向である。個々の根は傾斜重力屈性を示し、様々な方向に伸長しているが、そのメカニズムは未だに明らかでない。そこで、本研究では圃場栽培したトウモロコシの節根を対象とし、異なる節から出現した根長の異なる節根を順次採取し、伸長角度（水平方向からの角度）と根冠の形態との関係について検討した。

【材料および方法】 2002年に、東京大学大学院農学生命科学研究科附属農場（東京都西東京市）で慣行栽培したデントコーンを材料とした。播種後約1ヵ月後の7月24日から8月11日までの間に6回、伸長中の節根（根長15cm以下）を選定して、根長と伸長角度を測定した。また、それらの根を採取して根端部分の凍結縦断切片を作成し、サフラニンを利用したPAS染色を行い、蛍光顕微鏡で根冠およびコルメラの大きさ、コルメラ細胞内のアミロプラストの直径と細胞当たりの数を調査した。

【結果および考察】 本研究で第3-第5節から出現した節根について検討したところ、全体としては根長と伸長角度の間に有意な正の相関関係が認められた。節位別にみると、第3節根の場合は根の伸長に伴う伸長角度の変化が少なかったのに対し、第4-第5節根では伸長に伴って伸長方向が変化し、角度が大きくなる傾向が認められた。また、根の伸長にともなって第3節根では根冠やコルメラが小さくなったのに対し、第4・第5節根では根冠やコルメラの大きさ（とくに根軸方向の長さ）は変わらないか、大きくなっていた。また、第4・第5節根では、コルメラ細胞数や細胞当たりのアミロプラスト数はあまり変化しなかったが、個々のアミロプラストは根の伸長に伴って大きくなる傾向が認められた。

以上から、第5節根のように茎から出現した後も根冠の形成が比較的長く続く場合は、根冠・コルメラ・アミロプラストの大型化と、伸長角度の増加とが対応していた。これらの結果から、トウモロコシの節根が示す傾斜重力屈性、とくに茎から出現してからの伸長角度の変化は、根冠やコルメラの大きさ、さらにいえばコルメラ細胞に含まれている個々のアミロプラストの大きさと密接に関係しているといえるのではないだろうか。さらに、幅広い節位から出現した節根や調査個体数を増やししながら、今後検討していきたい。

乾燥条件下におけるトウモロコシ根系の可塑性について

— 節根の伸長角度と根系分布 —

地頭所邦展*・下田代智英・佐々木修 (鹿児島大学農学部)

鹿児島市郡元 1-21-24 e-mail shimotas@farm.agri.kagoshima-u.ac.jp

植物は、乾燥条件に対する適応戦略として、土壌水分の不足を感知し、より深い根系を形成して乾燥を回避しようとする。こうした根系分布の可塑性は根系構造と深く関わっている。したがって、側根の分枝程度や節根の伸長角度や伸長量の変化など根系構造の変化を明らかにすることは、根系制御の基礎となり、乾燥条件下における作物の増収や生産安定につながると期待される。そこで本研究では、乾燥処理をかけた植物体の根系構造の変化、特に節根の伸長角度に注目して解析を行った。さらにその植物体を湿潤条件に戻したときの生長についても検討した。

【材料及び方法】 実験1. バスケット法を用いて、乾燥処理による節位別節根の伸長方向を調査した。ステンレス製の水きりかごを埋め込んだポットに、あらかじめ発芽させたトウモロコシをポットの中心に播種した。乾燥処理では1日300cc、湿潤処理では1日1000ccのかん水を行い、乾燥処理をかける期間によって以下の4つの処理区を設けた。播種後7日目から49日目まで乾燥処理をかける連続乾燥処理区、播種後7日目から28日目まで乾燥処理をかける前期乾燥処理区、播種後28日目から49日目まで乾燥処理をかける後期乾燥処理区、乾燥処理をかけない対照区とした。その後、28日目及び49日目に根を洗い出し、節根が水きりかごを通過した点と株の中心(播種位置)を結んだ線の水平からの角度を計測した。また同時に、茎葉部・根系をサンプリングし、乾物重を測定した。実験2. 植物体を中心として半径5cm・15cmの円筒状の金属ケージを土壌中に埋め込み、調査時に根系の3次元構造が保たれるようにした。本実験では乾燥区と対照区のみ設け、調査は28日目にケージを通過し出現した根数を節根と側根に分けて5cmごとの層別に根数分布を調査した。

【結果と考察】 いずれの実験においても、乾燥処理期間中にはトウモロコシの生長が抑制された。しかし、実験1において28日目から乾燥処理を停止し湿潤状態に戻した前期乾燥処理区では、乾燥処理を停止したあと急激な生長回復が認められた。また節根の伸長角度は、乾燥処理をかけると第2、3節で明らかに対照区より大きい角度を示し、節根がより深く伸長することが明らかになった。また、実験2において根系分布についてみると、乾燥区では対照区に比べて約2倍の節根が40cm以上の深層に達していた。また、側根についてみると、対照区と比較して深層での節根数に対する側根数の割合が明らかに大きくなっていった。つまり、側根は水分の多い深層で多く分枝していることが示唆された。これらのことから、乾燥処理によって第2、3節の節根の伸長角度が大きくなり、早い時期に深層に達すること、さらに深層部で多く分枝することにより、深い根系分布と形成していることが明らかになった。以上のことから、乾燥処理を停止し、湿潤条件に戻した後、地上部の生長が急激に回復したのは、早い時期から根系の分布が深くなったことが、その後の養水分の吸収に有利に働いたと考えられる。

熱帯陸稲の耐乾性向上を目的とした根系形成に関わる遺伝的要因と環境要因ならびに水吸収特性に関する研究

近藤始彦 (中央農業総合研究センター)

(連絡先 ; Tel : 0298-38-8827, Fax : 0298-38-8837, E-mail: chokai@naro.affrc.go.jp)

現在熱帯アジアの稲作面積の47%は非灌漑であり、深刻化する水不足を考慮するとそれらの地域の稲の生産性の向上と安定化が期待される。特に陸稲は平均収量が約1.2 t/haと灌漑水田(約4.9 t/ha)に比べ著しく低レベルにとどまっており、耐乾性の向上が求められている。陸稲の耐乾性向上に深層からの水吸収能が重要であることが指摘されて以来主に育種分野で深根性の改良が試みられてきた。そこで筆者等は、栽培・育種的に根系の水吸収能を改良することを目的として(1)根形態の品種比較、(2)根発達における栽培・土壌管理要因および品種×環境交互作用の解析、(3)QTLによる根形態の遺伝的要因解析、(4)水ストレス下での水吸収特性に関する研究を行なった。

1. 水吸収に関与すると考えられる根形態の品種比較の結果、熱帯 Japonica 品種に深い根系の品種が見出されたがこれらは太い冠根径、高いR/S比を伴っていた。一方 Aus や Indica 品種には、中庸な冠根径、R/S比ながら深い根系を持つ品種が見出された。また熱帯 Japonica 品種は導管径/冠根径比が大きいこと、厚壁組織の細胞の複層化や厚壁化の度合いが高いことを見出した。根系の深さ以外の形質の耐干性への寄与の評価が求められる。

2. 窒素施肥は一般に根の垂直分布を大きく変化させずに冠根数、根長とも増加させた。またリン酸施肥は比較的初期に形成される下層へ伸長する冠根生育を促すことにより深層での根密度を高めることを明らかにした。これらの結果は表層への適切な養分供給が下層での根密度の増加と水吸収層の拡大に必要であることを示す。

一方、品種×環境(土壌タイプ、窒素レベル)交互作用を調査した結果、冠根数・太さ、R/S比は品種効果が大きいのにに対し、根重、根系の深さは土壌効果や土壌×品種交互作用の影響が大きかった。また熱帯 Japonica 品種と Aus や Indica 品種では根生育の土壌タイプに対する適応パターンが異なることを示した。これらの結果は深根性の発現には各土壌への適切な品種の配置が重要であり、また根系の土壌物理化学性への反応についての遺伝変異の把握が有効であることを示す。

3. 根形態の遺伝的要因と解明と分子マーカー開発のために、Indica 水稲品種×在来 Japonica 陸稲品種(IR64×Azucena)のDH集団について、異なる窒素条件下で根形態形質のQTL解析を行った。また表現型上の根—地上部の関連をQTL上で解析した。冠根長など根系の深さ形質について異なる栽培条件下で共通に見出されるQTLを明らかにし深根性のマーカー育種の可能性を示した。一方冠根の伸長を抑制するNH₄⁺を窒素源とした条件下では、NO₃⁻を用いた場合と異なるQTLが検出され、QTL×環境交互作用の解析の重要性を示唆した。

4. 弱い水ストレス下では陸稲はトウモロコシとほぼ同等の水吸収能を示したが、強い水ストレス下では陸稲の水吸収能はトウモロコシに比べ劣った。これはストレス下で深層の根長を増加させる能力が低いことと、根の見かけ上の水導抵抗が増大することが要因であることを示した。水ストレス下での根の反応について遺伝変異の利用が重要であることを示唆する。

謝辞：本研究に多大なサポートをいただきました IRRI-Japan Project、IRRI-Japan Shuttle Research Project、IRRI Upland Rice Research Consortium に感謝いたします。

Title: Ammonia-oxidizing bacteria in the root environment: studies on their ecology and possible contribution to N uptake of rice (*Oryza sativa* L.) By: Aurelio M. Briones, Jr.

Institution where this work was done: Laboratory of Environmental Molecular Biology
Graduate School of Environmental Earth Sciences
Hokkaido University, Sapporo 060-0810, Japan

Present institution: University of Illinois at Urbana-Champaign
Dept. of Civil & Environ. Engineering
4162 Newmark Civil Eng. Lab
205 N. Mathews Ave., Urbana, IL 61801 USA
email: abriones@uiuc.edu

I. Introduction

The chemolitho-autotrophic ammonia-oxidizing bacteria (AOB) carry out the rate-limiting step of nitrification in a variety of environments. Because of their functional importance, much effort has been placed in understanding the ecology and physiology of this group of bacteria. Molecular biological approaches, in particular, have been instrumental in elucidating the distribution, diversity and ecology of these bacteria. Methods that have been very useful in biofilm studies, such as PCR, DNA fingerprinting (e.g., denaturing gradient gel electrophoresis-DGGE) and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) can also be applied to characterize the bacterial populations present on rice roots. Knowing more about the community structure and population dynamics of AOB on rice roots can tell us more about their function and the nature of their interactions with rice plants.

II. Rice and nitrification

Rice planted in the lowlands are typically maintained under flooded conditions where the main form of available N is ammonium. Although the accumulation of ammonium is undesirable in most environments, rice is unique among agronomic crops in its ability to utilize ammonium as a main source of N. At first glance, therefore, nitrification appears to be an unwanted process in paddy fields. Moreover, the competition between rice and AOB for a common substrate would lead us to expect a limited role for AOB in the root environment.

III. Characterizing AOB communities on roots of different rice varieties

Our current understanding gleaned from cultivation-independent molecular microbial ecology approach suggests that AOB have an active role in the rice root environment. PCR and DGGE have detected different populations of AOB in the rhizosphere and on root surface biofilms. The populations are enriched on root surfaces, and furthermore, different populations of AOB appear to be specifically associated with different varieties of rice. For instance, PCR-DGGE and FISH have shown that *Nitrosomonas* spp., although rarely predominant, are detected at higher levels on roots of modern breeding lines. In contrast, AOB populations associated with traditional rice cultivars constitute mostly *Nitrospira* spp.

The differences in community structure of AOB in the root environment can be partially due to differences in rates of oxygen excretion from the roots of different rice cultivars. This was confirmed by microelectrode measurements: higher oxygen concentrations were detected on

roots associated with *Nitrosomonas* spp. Many representatives of this group of AOB are known to be *r*-strategists, requiring higher substrate concentrations although capable of higher rates of maximum activity. Oxygen excretion from the roots, however, fails to explain how AOB have adapted to an existence on rice roots where the expected NH_4^+ concentrations are low due to plant uptake.

IV. New insights into the role of AOB in the rice root environment

The differences in population structure of AOB on roots of different rice cultivars could also be supported by differences in the nature of N uptake of the different cultivars. ^{15}N and hydroponic experiments showed that plants that support a greater abundance of *Nitrosomonas* spp. also perform better when supplied with a mixture of NH_4^+ and NO_3^- . This has led us to hypothesize that rice cultivars that are well adapted to utilize NO_3^- or a mixture of the two N species allows for the establishment of more abundant *Nitrosomonas* spp. populations due to less competition for NH_4^+ . This would also suggest that AOB present in the root environment contributes to the N use efficiency of plants that benefit from the co-provision of NH_4^+ and NO_3^- .

The availability of a variety of new scientific tools can enable us to better understand the ecology, diversity and function of microorganisms on rice root surfaces. Such knowledge should provide valuable insights into the nature of N cycling and other biogeochemical processes occurring in the rice root environment.

References:

- Briones, A.M., Okabe, S., Umemiya, Y., Ramsing, N.-B., Reichardt, W. and Okuyama, H. 2002. Influence of different cultivars on populations of ammonia-oxidizing bacteria in the root environment of rice. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3067-3075.
- Briones, A.M., Okabe, S., Umemiya, Y., Ramsing, N.-B., Reichardt, W. and Okuyama, H. 2002. Ammonia-oxidizing bacteria on root biofilms and their possible contribution to N use efficiency of different rice cultivars. *Plant Soil.* In press.

野菜施設生産における根圏環境のストレス緩和技術に関する研究

中野明正 ((独) 農業技術研究機構 野菜茶業研究所 果菜研究部)
e-mail: anakano@affrc. go. jp

野菜生産において大きな問題である連作障害は、その要因の半数が土壌病害に由来するものと言われている。土壌の化学性は土壌病害の補因として関連があるほか、施設栽培では、さらに塩類集積などの特有の問題もある。そのため、根域を良好に維持する手法の開発が求められている。

本研究で取り上げた、緩効性肥料と養液土耕法は、集約化する施設生産における根圏環境のストレスを制御する有効な方策と考えられ、これらの技術が根系を介して生産性に与える影響を明らかにすることにより、今後の技術開発の方向の提示を試みた。

最初に、施設生産土壌の特性を調査するために異なる県と栽培履歴から採取した土壌の化学分析を行い、施設生産土壌の化学性の現状を検討した。施設生産土壌は、露地畑に比べ、約7倍の塩類を集積していた。一方で、土壌のpHに関しては、酸性化はしてなかった。構成する塩類を測定したところ、アニオンでは報告例の多い硝酸イオンの他、硫酸イオンの集積もあった。カチオンではカルシウムが特に集積していた。集積する塩類に関しては、全国規模で、かなりの濃度で硫酸イオンが検出されることが明らかとなった。作後の土壌のECを測定してそれにより次作の施肥量を勘案することは、ECの測定が比較的容易なことから良く行われているが、近年ECと硝酸イオン濃度が一致しない土壌も多く認められている。原因は硫酸イオンの集積であると考えられる。本研究において、全国の様々な土壌に関しても、その傾向が一致していることが示された。

以上の施設生産土壌における塩類、特に硫酸イオンの過剰集積の現状を踏まえて、作物に必要な量以上に施肥される傾向にある硫酸イオンの含有量を低く抑えた低硫酸緩効性肥料 (Low-sulfate slow-release fertilizer: LSR) の使用を検討した。通常のCDU化成においては、多量施肥した場合、過剰の硫酸イオン等が根の生育を阻害したが、LSRについては、根系の生育が維持され、窒素の緩効性のみでなく、副成分の含量についても十分配慮する必要があることが明らかにされた。つぎに、量的な施肥制御により根圏環境を改善し、それが野菜生育に与える影響を明らかにする目的で、養液土耕に関する研究を行った。通常の養液土耕の他、有機液肥を用いた養液土耕の可能性を検討し、養液土耕における根系分布の特徴と、トマトの生産性との関係を明らかにした。

現在は、有機養液土耕についてさらに研究を進め、施用された窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 値と生産物の $\delta^{15}\text{N}$ 値との関係についての研究を行っている。根は大地との境界領域であるが、一般にはその重要性はあまり認識されていない。今後は、循環の中にある根について研究を進め、生産者また消費者にアピールできる、根の研究を目指して行きたいと考えている。

