

水耕栽培における AM 菌共生Ⅱ

静岡県立磐田南高等学校
生物部 2 年 落合穂花 1 年 熊岡和真

1 概要

アーバスキュラー菌根菌（以下 Arbuscule Mycorrhiza 菌の略称、AM 菌とする）は、植物と共生する菌根菌の一種で、土壌中のリン酸や無機物などの養分や水分を吸収し植物に供給するはたらきを持つ。広範な植物と共生する一方、水中の根とは共生しないことで知られているが、2022 年上半期に行なった研究で AM 菌資材を加えて育てたネギとそうでないネギで生長に有意な差が見られたことから、AM 菌が水耕栽培においてもネギに影響を与えていることが確認された。今回の研究では共生に関わりの深い器官である根に着目し、実験を行った。結果、AM 菌胞子を加えて生育したネギでは加えなかったネギに比べて根が発達しなかった。このことから AM 菌は水耕栽培のネギに共生したと考えた。今後は、実際に根に AM 菌特有の構造物を観察することを目標に実験していきたい。

2 研究の背景と目的

水耕栽培で野菜を育てた際、土が無くとも生長することに驚いた。しかし、常に水に浸されていることで根がどのような影響を受けているのか興味を持ち、土中と比較する為に土耕栽培の根についても詳しく調べた。単に養液に根が浸されている水耕栽培とは異なり、土中では植物の根を中心に土壌微生物などが生息する根圏が形成され、多くの生物が相互に作用していることが分かった。またその中で、植物の根が土中において菌根菌と呼ばれる菌類と共生していることを知った。

菌根菌は植物の根と絶対共生し、菌根を形成する真菌の総称である。大きく外生菌根と内生菌根に分かれ、後者の一種である AM 菌は共生の特異率が低いという特徴を持つ。AM 菌は植物から糖などの炭素源を受け取る一方、植物にリン酸を供給したり水分の吸収を助けたりするはたらきを持ち、両者は相利共生の関係にある。

この AM 菌は水生植物とは共生せず、イネなどの通常共生する種とも水耕栽培においては共生しないことが知られている。しかし 2022 年上半期に行なった研究では、市販の菌根菌資材を加えてネギを水耕栽培すると、加えないネギに比べ、葉がより大きく生長するという結果が得られ、AM 菌が水耕栽培においてもネギに影響を与えていることが確認された。

そこで 2022 年下半期は、水耕栽培における植物と AM 菌の関係を明らかにするために、根に着目して研究を行なった。AM 菌は植物の根に侵入して養分や水分の吸収を行なうため、根は共生に最も関わりの深い器官と考えたからである。また、研究の方法を改善し、AM 菌とネギの共生の有無を改めて確認することとする。

3 仮説

AM 菌との共生が起こると、AM 菌が養分や水分を吸収し植物に供給する役割を担うため、根毛が減少することが知られている（磯部 2002 年）。よって AM 菌を加えたネギでは、根がより未発達になると考えられる。

4 方法

研究する植物としてネギを選択した理由は、ネギは AM 菌と共生する代表的な植物であり、小ネギは水耕栽培でも育てることができるためである。また、室内でも栽培が可能であり、生長が速いからで

ある。

(1) 養液の作成

Dr. キンコンは AM 菌を水溶性の物質で固めて粒状にした商品である。AM 菌孢子以外の成分が植物の生長に影響を与える可能性を除外する為、AM 菌孢子以外の物質を分離する方法を考えた。ろ紙 No 2 は孢子を通さないため、以下の方法で孢子有、孢子無の養液を作成した。

ア 材料・機器

乳鉢、菌根菌資材(ネギ用 Dr. キンコン)、ろ紙 No 2、ろうと、ろうと台

イ 手順

(ア) 粒状の菌根菌資材 50g を乳鉢ですり潰し粉状にした。

(イ) すり潰した菌根菌資材を 1800mL の水道水に懸濁した。

(ウ) 懸濁液をろ紙 No 2 でろ過した。

(イ)の懸濁液を用いて育てるネギを孢子有、(ウ)のろ過後の懸濁液を用いて育てるネギを孢子無、水道水を用いて育てるネギを control として実験を行った。

(2) ネギの水耕栽培

以下の方法で、ネギの水耕栽培を行なった。

ア 材料・機器

ネギ(*Allium fistulosum*)、2L ペットボトル、スポンジ、バーミキュライト、アルミホイル、エアポンプ

イ 手順

(ア) 栽培容器(2L ペットボトルを横向きに置き、上面に4つの穴を開けたもの)を3つ用意し、それぞれに(1)の養液を入れた。

(イ) スポンジを用いて、上面の穴にネギを固定した。ネギは発芽後 14 日間バーミキュライト(菌根菌を含まない)で生育したものを使用し、それぞれの栽培容器で4本のネギを育てた。(資料 1 参照)

(ウ) 水質の悪化を防ぐ為に栽培容器をアルミホイルで覆って遮光し、各栽培容器にエアポンプを設置した。

(エ) 実験前のネギの草丈を計測した。

(オ) 常温、自然光で生育し、適宜蒸発分の水道水を追加した。定期的にネギの草丈を計測した。

(3) 収穫と乾燥重量の測定

根長、根の乾燥重量との関係を調べるため、生長量、葉の乾燥重量も測定した。

ア 材料・機器

解剖バサミ、新聞紙、定温乾燥機、電子天秤

イ 手順

(ア) 実験開始から 28 日後、再度ネギの草丈を計測し、収穫を行った。全てのネギを、解剖バサミを用いて葉、根に分けた。

(イ) 全ての根を蒸留水で洗浄し、(4)に示す格子法を用いて根長を計測した。

(ウ) 各栽培容器から1個体の根を(5)に示す方法で染色、観察した。これは根における AM 菌の構造物の存在を調べるためである。



資料 1：栽培容器(遮光前)

(エ) 葉と(ウ)以外の根を新聞紙で包み、定温乾燥機を用いて 80℃で 9 時間 30 分乾燥させた。その後、電子天秤でそれぞれの乾燥重量を測定した。

(4) 格子法を用いた根長の算出

ア 材料・機器

黒色の 5 mm 方眼用紙(エクセルで自作)、たこ糸、シャーレ

イ 手順

- (ア) 黒色の 5 mm 方眼用紙に 12cm のたこ糸をのせ、格子と糸の交点を数えた。
- (イ) (ア)の作業を糸の置き方を変えて 20 回行なった。
- (ウ) [糸の長さ(12cm)]= k *[糸と格子の交点の個数]となるような k を求めた。
- (エ) k の 20 回分の平均値を求めた。
- (オ) 水を張ったシャーレに根を広げた。
- (カ) シャーレを方眼用紙にのせ、格子と根の交点を数えた。
- (キ) (イ)で求めた k を用いて k *[格子と根の交点の個数]を計算し、根長を算出した。

(5) 根の染色と観察

ア 材料・機器

10%水酸化カリウム、電子レンジ、蒸留水、10%過酸化水素水、2%塩酸、万年筆用ブラックインク、5%酢酸

イ 手順

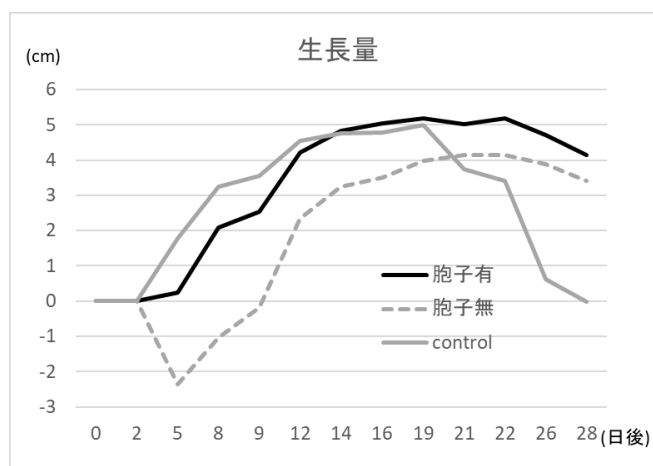
- (ア) 根を 10%水酸化カリウムに浸し、電子レンジで 3 分間加熱した。その後蒸留水で根を洗浄した。
- (イ) 10%過酸化水素水に 10 分間浸した。その後蒸留水で根を洗浄した。
- (ウ) 2%塩酸に根が白くなるまで浸した。その後蒸留水で根を洗浄した。
- (エ) 染色液(万年筆用ブラックインク 25mL, 5%酢酸 475mL)に浸し、電子レンジで 3 分間加熱した。
- (オ) よく洗浄し、樹枝状体や嚢状体などの AM 菌特有の構造物の有無を実体顕微鏡で観察した。

5 結果と考察

(1) 生長量

実験開始時とのネギの草丈の差を生長量として資料 2 のグラフに示す。実験開始から 5 日後に、孢子無の値が大きく下がった。12 日後頃までは control の値が最も大きかったが、その後孢子有が control を超えた。孢子無は、常に孢子有より 2 cm 程度小さかった。なお後半に全てのグラフで値が降下しているのは、一番目の葉から二番目の葉への生え変わりが始まったためである。

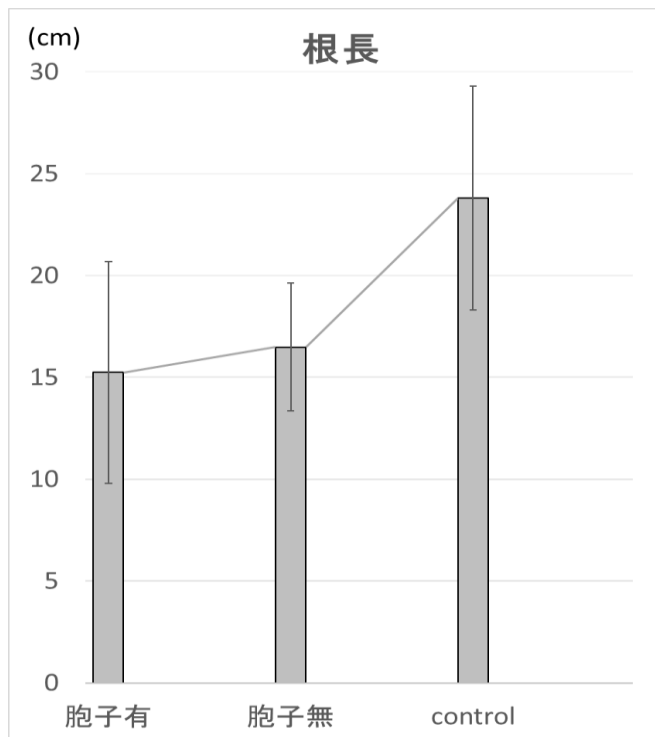
2022 年上半期の実験結果と同様、実験終了時点で孢子有が最もよく成長した。19 日付近で control の値が大きく下がっているのは、control の養液に養分が殆ど含まれていないからであると考えられる。



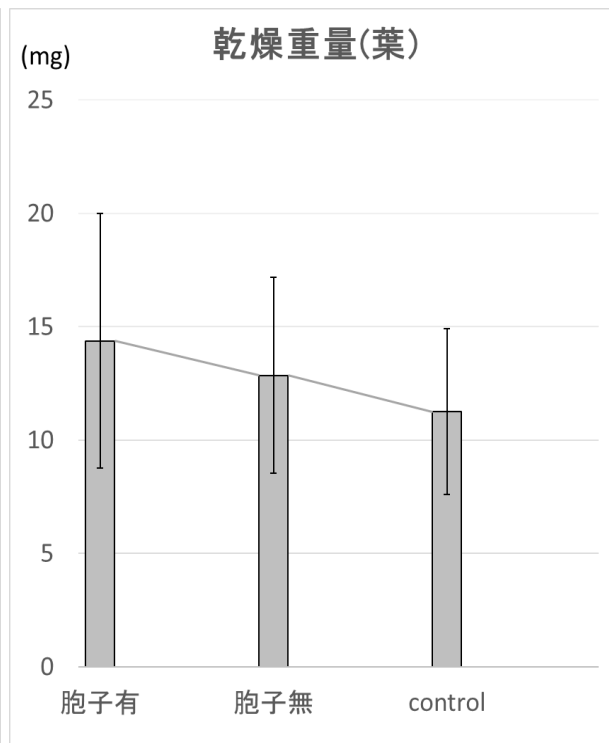
資料 2

(2) 根長

格子法を用いて算出した根長の平均を資料3のグラフに示す。control、孢子無、孢子有の順で値が大きかった。control では養液にほとんど養分が含まれていない為、根が養分を得るためにより長く伸長したと考えられる。孢子有では、仮説で考えたようにネギの根に共生した AM 菌が養分の吸収を助けた為、孢子無に比べて根が伸長しなくても、養分が得られたと考えられる。



資料3



資料4

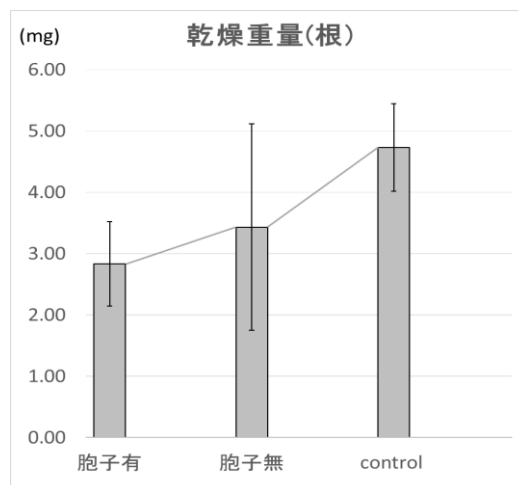
(3) 葉の乾燥重量

収穫時の葉の乾燥重量の平均を資料4に示す。孢子有、孢子無、control の順で値が大きかった。孢子有では、AM 菌が養分や水分の吸収を助けたため、孢子無に比べて大きく生長したと考える。また、control と比べて孢子無が生長していることから、菌根菌資材中には孢子以外にわずかにネギの養分となる成分が入っていたと考えられる。

(4) 根の乾燥重量

収穫時の根の乾燥重量の平均を資料5に示す。control、孢子無、孢子有の順で値(mg)が大きかった。これは根長(cm)と同じ結果である。また、生長量(cm)及び葉の乾燥重量(mg)と比較すると、孢子有において、根が伸長しないにも関わらず葉がより成長しているのが確認できた。このことから、control では養分を得るために根が生長し、孢子有では AM 菌の菌糸が根の働きを補ったために根が伸長しなくても養分が得られたことが明らかになった。

以上のことから「AM 菌を加えたネギでは、根がより未発達になると考えられる。」という仮説は証明された。



資料5

(5) 根の観察

共生の存在を確認するために染色した根の観察では、確実に AM 菌特有の構造物であると考えられるものを観察することはできなかった。原因として、共生していた根が少なかったことや、染色・観察の技術が未熟であったことが考えられる。

6 まとめ

(1) ネギの葉の生長量・葉の乾燥重量

AM 菌胞子を加えたものと加えないもので明らかに違いが見られた。AM 菌の胞子を加えることで葉がより大きく生長することが分かった。このことから、AM 菌は水中でもネギとの共生を行っており、ネギは AM 菌から水分や養分の供給を受けていると考えられる。

(2) ネギの根長・根の乾燥重量

AM 菌胞子を加えたネギでは加えなかったネギに比べて根が未発達になった。これは、ネギの根に AM 菌が共生したためにより多くの養分を得ることができるようになり、ネギの根が発達する必要がなくなったからではないかと考えられ、仮説が証明されたことになる。

7 今後の課題

- (1) AM 菌特有の構造物を観察するために、ネギの個体数を増やし、また、染色・観察技術を高めて、水耕栽培で生育したネギの根に AM 菌が共生することを実証したい。
- (2) ネギ以外の農作物において、AM 菌共生による収穫量の増加が可能かを研究する。将来的には農業に適さない地域などで、水耕栽培の野菜の収穫量を増やすことに貢献したい。
- (3) 自然界でも水中での AM 菌共生が行われている可能性はないか。自然界の水生植物で AM 菌を含む菌根菌と共生している植物がないか調べていきたい。

8 参考文献

(1) 書籍

菌根の世界(齋藤雅典)、野菜とハーブの水耕栽培(北条雅章)

(2) 論文

植物の根、菌根の発達と土壌物理性(磯部勝孝)、VA 菌根とその働き(小川眞)、砂丘未熟土壌からの耐塩性アーバスキュラー菌根菌の分離と植物の耐塩性向上への利用(俵谷圭太郎)

(3) ホームページ

根長の測定-格子法 (<http://agrobio.jp/lc/lc98mtd2.htm>)

9 謝辞

研究に際してたくさんのアドバイスをくださった日本大学の磯部勝孝様、静岡理工科大学の齋藤明広様、快く Dr. キンコンを提供してくださった有限会社サギサカ様、出光アグリ株式会社様、本当にありがとうございました。心より感謝申し上げます。