
 総 説

アーバスキュラー菌根共生の圃場における機能・価値

小八重善裕

キーワード アーバスキュラー菌根, 菌根機能, 作物品質向上, 付加価値, 圃場

1. はじめに

多くの植物は根においてアーバスキュラー菌根菌(AM菌)と共生しており、この菌糸を介して土壤から効率よく養分を吸収している。AM菌が農学的に最も注目されてきたのは、その宿主植物へのリン酸供給能力においてである。リン酸は土壤に吸着しやすくその欠乏が植物生長の律速となりやすい(Bielecki, 1973; Vance, 2001)。そのため、土壤に広く伸びた菌糸でリン酸を吸収して植物に提供するAM菌は、作物の栄養改善やバイオマス増につながることが期待され(Hatting *et al.*, 1973)，それを支持する証拠が実験室レベルの研究で数多く示されてきた(Smith and Smith, 2011)。ほかにも、窒素や微量要素(鉄、亜鉛、銅など)の吸収促進(Cavagnaro, 2008; Pellegrino and Bedini, 2014; Lehmann and Rillig, 2015)，微量要素(ヒ素、カドミウムなど)の過剰害抑制(Zhang *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2010; Tamayo *et al.*, 2014)，乾燥耐性(Augé *et al.*, 2015; Chitarra *et al.*, 2016)や病虫害抵抗性(Borowicz, 2001; Garcia-Garrido and Ocampo, 2002; Pozo and Azcón-Aguilar, 2007; Koricheva *et al.*, 2009)の付与など、AM共生は多様な機能を持つことが示唆されており、これらの機能を農業に生かすことで、肥料や農薬などの過剰使用の抑制、収穫物の品質や価値の向上につながることが期待される(Berruti *et al.*, 2016)。その一方で、実験室レベルで示唆されるこれらの有用な機能が、実際の圃場でも発揮されているのか、それを知る方法がきわめて限られているため、菌根を農業で積極的に活用することの重要性や利点を理解することが難しい。圃場における菌根の機能を“見える化”し、その有用性と価値が消費者と生産者で共有されることで、菌根を活用した環境低負荷型の農業につながっていくと期待できる。本論文では、菌根の機能を実験的に調べる方法について、これまでの限界

と可能性を今一度ふり返り、近年の研究から浮かび上がってきた圃場における菌根の有用な機能と、菌根が農作物に与えることのできる新たな価値について解説し、その利点を農業に生かしていくための展望を述べる。

2. 圃場における菌根

圃場における菌根とは、根とそこに感染する遺伝的に多様なAM菌の集合体である。根に感染するAM菌の詳細な形態観察(Sanders and Sheikh, 1983; Bonfante-Fasolo, 1984)やそのライブイメージング(Kobae and Hata, 2010)などから、菌根の機能は、「根に感染するAM菌の総体あるいはその一部が未知のダイナミズムのもとに発現するきわめて複雑かつ動的なもの」と捉えることができる。わずか1cmの根の中には数種類のAM菌が感染していることがあり(van Tuinen *et al.*, 1998)，それ一つ一つの感染が機能的であるのはわずか数日(機能を反映する樹枝状体の形成は2日ほど)でしかない(Smith and Read, 2008; Gutjahr and Parniske, 2013)。樹枝状体を形成していないても、囊状体(ベシクル)を作つて根の中にとどまっている菌も多く、それらがどういう機能を持つのかも分かっていない(Smith and Read, 2008)。それゆえ、その時々の菌根の中に含まれるAM菌のDNAが我々に教えてくれる情報は限定的である。栽培期間を通じて、生産物の収量や価値に影響を与える菌根の作用とは、多様で一過的なAM菌の機能の「積み重ね」であるといえる。こうした見方を通して、植物と多様なAM菌の共生が、移りゆく土壤環境や宿主の生理状態、そして栽培管理の中でどのように維持され、機能的に制御されているのか、これまでほとんど研究されてこなかった。根の中でダイナミックに変化する菌ごとの感染動態や、その機能性を調べる方法がこれまでになかったことが、圃場における菌根の機能や有用性がよく理解できていない最大の原因といえる。

3. 菌根の機能を知る

菌根の機能を知るにはいくつかの方法があるが、根の中の多様なAM菌をどのレベルの時間的、空間的解像度をもつて調べていくかによって、その機能の姿かたちは変化する。

Yoshihiro KOBAE: Function and value of arbuscular mycorrhizal symbiosis in fields

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構北海道農業研究センター (062-8555 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘1)

2016年11月1日受付・2017年2月21日受理

日本土壤肥料学雑誌 第88巻 第3号 p. 258~264 (2017)

1) 実験室レベルの接種試験

土壤から採取した単胞子を宿主植物で培養し、樹立したAM菌の系統を単独、あるいは数種類のミックスとして特定の検定植物に接種する。その結果、検定植物に発現する接種効果（生育増やリン濃度上昇など）を評価する方法が広く用いられてきた。これまでに行われたほとんどの機能解析はこの方法による。膨大な接種試験から、接種効果は菌のタイプだけでなく、植物種、土壤環境、栽培条件など、様々な要因を受けて大きく変化することが分かっており（Ijdo *et al.*, 2011; Verbruggen *et al.*, 2013; Berruti *et al.*, 2016），この方法で観察された接種効果が、実際の圃場で同タイプの菌が感染している植物にも、同じように発現しているという保証はない（Plenchette *et al.*, 1983）。

2) 圃場にAM菌を接種する方法

土壤に直接、あるいは播種時や育苗時に特定のAM菌資材を加え、その接種効果（主に収量）を評価する方法である。しかしこの方法では、もとから圃場にいるその環境に適応した土着AM菌の機能が対照区（非接種区）でも十分に発現してしまうことが多いため、接種したAM菌の機能を知ることは多くの場合難しい（Rodriguez and Sanders, 2015）。しかし、接種の方法を改良することや、従来のように収量増を狙うだけでなく収穫物の品質や生産性への変化などにも注目することで、圃場に接種したAM菌の機能が少しづつではあるが示されつつある。

ネギ類の栽培では直播を行うと苗立ちが安定しないため、育苗後に移植することが一般的である。この育苗期間にAM菌を接種することで、接種菌を根系全体に高密度に定着させることができ、長ネギでは接種効果が収量増として現れやすい（Tawaraya *et al.*, 2012）。キャッサバは10～30cmの枝を土に挿しておくとその周囲に不定根と塊根を発達させる。毛状根培養したAM菌（*Rhizophagus irregularis*）の懸濁液にキャッサバの枝を浸し、移植穴にも懸濁液を注ぎ込んで感染を促すと（12,500 propagules/枝）、塊根の収量を増加させることができる（Ceballos *et al.*, 2013）。移植しない機械播種の場合、接種資材の種子粉衣が接種資材のコストを抑えた効率的な接種方法として考えられる（Vosátka *et al.*, 2013）。ダイズと綿花の種を毛状根培養したAM菌（*R. clarus*）にピートモスと焼成粘土を合わせた担体で粉衣し播種することで、感染率と収量を高めることができる（Cely *et al.*, 2016）。収量ではなく他の接種効果に注目した例として、トマトをAM菌（5種の混合）とともに3週間育苗し、露地栽培すると、果実のクエン酸含量の増加に加え、商品としての質が安定する（低規格のものが減る）との報告がある（Bona *et al.*, 2016a）。AM菌の接種によりイチゴの収量増やネギの規格が揃い品質が安定することは、国内でAM菌資材製造販売を行う最大手、出光興産株式会社の製品広告でも謳われている（Dr キンコンシリーズ：http://www.greenjapan.co.jp/soil_drking.htm）。しかしながら、接種によって外部から導入されたAM菌の機能が顕在化するのは、多く

の場合、土着AM菌がきわめて少ない土壤に限られている（Tawaraya, 2003; Plenchette *et al.*, 2005）。

3) 宿主植物の輪作

輪作体系の中にAM菌の宿主作目を加えることで、AM菌の感染源を土壤中に増やすことができ、その効果を推測することができる。これは数年単位の試験期間を要する大変な研究ではあるが、きわめて実践的なアプローチである。「前作による土着AM菌の増殖の程度（後作の感染程度により判断）」と「後作の収量や養分吸収」との関係から、AM菌の機能を推測する。宿主あとの栽培では、非宿主あとの栽培に比べて収量増が認められ（Arihara and Karasawa, 2000; Karasawa, 2004），加えてリン酸減肥も可能となる（Oka *et al.*, 2010；八木ら, 2014；大友ら, 2015）。しかし、そこには作期を通じたAM菌の多様で複雑な機能が含まれており、また菌根以外の効果も含まれていると考えられる。このため、輪作体系の中で推測される菌根の具体的な機能とそのメリットは、別の方法を使って検証される必要がある。

4) 植物の二次代謝

植物の収量や生産性など目に見えやすい部分にAM菌の機能を求めるのではなく、植物の二次代謝の変化に求める方法もある（Araim *et al.*, 2009）。タマネギにAM菌を接種すると、接種していないときに比べてビタミンB1（チアミン）やクエン酸などが葉に多く蓄積されるようになる（Rozpádek *et al.*, 2016）。レモンバーム、マジョラム等シソ科のハーブにAM菌を接種すると、葉に抗菌作用などを持つフェノール物質が多く蓄積される（Engel *et al.*, 2016）。二次代謝物の合成、蓄積は、植物の生育ステージの影響を受けるため、これら二次代謝物の蓄積が、AM菌の接種による生長促進の結果生じたことなのかどうか、注意が必要である。しかし、同じくシソ科のバジルの培養根にAM菌を接種すると、根の形態やバイオマスに変化を伴うことなく抗菌物質（ロズマリン酸等）が多く蓄積されることから（Srivastava *et al.*, 2016），少なくとも一部の植物では、AM菌が感染することで二次代謝物の生産と蓄積が特定の組織に誘導されると考えられる。一方で、異なる5つの植物種、すなわちタルウマゴヤシ（*Medicago truncatula*：マメ科），カラフトヒヨクソウ（*Veronica chamaedrys*：ゴマノハグサ科），スズメノカタビラ（*Poa annua*：イネ科），セイヨウオオバコ（*Plantago major*），ヘラオオバコ（*Plantago lanceolata*）に同じAM菌（*R. irregularis*）を接種し、地上部のメタボローム解析を行うと、それぞれの植物の種に特異的な変化パターンを示すことが分かった（Schweiger *et al.*, 2014）。セイヨウオオバコとヘラオオバコという近縁の植物種であっても、同じAM菌の感染に対して異なる応答を示すことから、植物とAM菌の相互作用から生じる植物の代謝変動は共進化を遂げている（Schweiger *et al.*, 2014）か、あるいは、同一のAM菌とはいえその種内・系統内遺伝的多様性は高く（Munkvold *et al.*, 2004；Sanders and Rodri-

guez, 2016), 植物に多様な代謝変化を引き起す可能性がある。

これまでの研究は、収量増という目に見える接種効果に拘泥するあまり、AM菌接種によって付加されていた価値ある効果を見過ごしてきた可能性がある。一種のAM菌を使った接種試験においても、条件によっては多様な効果が現れることを考えると、遺伝的に多様なAM菌が存在する圃場では、さらに多様で未知の機能が発現している可能性が高い。

5) 統計モデルからの予測

菌根の中の具体的な機能はさておき、植物が菌根を介して効率的な養分吸収を行い、一定の収量が得られる条件、あるいはより高い価値を生み出す条件を予測できれば、菌根を活用することができる。圃場で生育した作物における大規模なオミクス解析から、そういうことも可能になるかもしれない(Plenchette *et al.*, 2005)。菌根を形成している植物は、その大部分のリン酸を根の表面から(直接経路)ではなく、AM菌を介して(菌根経路)吸収するようになる(Pearson and Jakobsen, 1993; Smith *et al.*, 2003, 2004)。このリン酸吸収に特異的に関わっている植物のリン酸トランスポーター遺伝子などの発現レベルが、菌根機能が発現していることを示す一つのマーカーとなる(Smith and Smith, 2011; Garcia *et al.*, 2016; Sawers *et al.*, 2017)。トマトのポット試験では、AM菌を接種することで、果実の窒素代謝関連遺伝子の発現プロファイルに変化が認められ、グルタミンとアスパラギン含量が増加することが報告された(Salvioli *et al.*, 2012)。地上部では病害抵抗性に係わる脂質代謝経路(オキリピン経路)が活性化され、灰色かび病への抵抗性が発揮される(Sanchez-Bel *et al.*, 2016)。トウモロコシの圃場試験では、接種により子実の酵素プロファイルに変化が生じることがプロテオーム解析により示されている(Bona *et al.*, 2016b)。しかしながら、こうした変化は菌根の機能を反映していると考えられるものの、それは限られた条件においてであり、今のところ圃場における菌根機能の普遍的なマーカーとはならないだろう。こうしたマーカーを得るには、AM菌の機能を反映すると考えられる植物への変化が、接種AM菌や土着AM菌の動態変化とあわせて、土壤特性や気象等の異なる多数の圃場で長期間調査される必要がある。そこで蓄積された共生の動態データをもとに、統計解析を行うことで、菌根を有効利用できる栽培体系をモデルから予測できるかもしれない。

4. 圃場のAM菌のダイナミックな機能を“見える化”する

圃場の根には遺伝的に多様なAM菌が感染しており、それらの樹枝状体の寿命が数日であることを考えると(Kobae and Fujiwara, 2014; Kobae *et al.*, 2016)，圃場の菌根ではAM菌を入れ代わり立ち代わり、状況に応じて異なる機能を発揮している姿が想像できる(図1)。まず、AM菌の一胞子、あるいは一菌糸が多様な機能性を内蔵し

ている(van der Heijden *et al.*, 2015)。AM菌の菌糸は隔壁を持たず、遺伝的に異なる多数の核をもち(異核共存体: ヘテロカリオン)(Sanders and Croll, 2010; Ropars *et al.*, 2016)，それらは菌糸内を自由に(あるいは未知の秩序を持って)動きまわる。それぞれの核は混在した形で根に到達し(Young, 2015)，感染した同一の植物においても異なる表現型を示すことが実験的に示されている(Angelard *et al.*, 2010)。そういうAM菌の遺伝的、機能的特性は、宿主植物によっても変化を受ける。AM菌の一系統を異なる植物種に接種すると、それぞれの宿主で異なる表現型を示すだけでなく、AM菌の遺伝子型が変化することが分かっている(Angelard *et al.*, 2014)。根に感染しているAM菌の菌相は、植物の栄養条件、生育ステージよりも変化する(Ehinger *et al.*, 2009)。さらには気象(日照、温度、水分)、土壤(理化学性、生物性)などの外環境要因や生産者の栽培管理(施肥、農薬、耕起)によっても直接的、あるいは植物を通して間接的に変化を受ける(Smith and Read, 2008; Verbruggen and Kiers, 2010)(図1)。菌根共生には明確な宿主選択性がない(Smith and Read, 2008)と言われてはいるが、植物種が違えば根の菌相も変化し(Pivato *et al.*, 2007)，そこで増殖するAM菌も異なることが予想される。そのため、輪作を基本とする畑作では、前作だけでなく栽培履歴を通して、AM菌の遺伝的、機能的特性が変化を受けていると考えられる。

ダイナミックに変化する圃場の菌根機能を知るには、どのような条件で、どのような機能が発揮されているのかを、“AM菌ごと”に“圃場レベル”で調べていくことが有効なアプローチである。具体的には、圃場の根で発現している菌根機能に関連した植物あるいはAM菌遺伝子の転写産物(mRNA)を、一つのAM菌の感染部位ごとに調べることで、そのプロファイルや発現レベルからAM菌ごとで異なる機能を推定できる(図1)。根が大きな植物種は根系全体を調べることが難しいため、根系の比較的小なネギなどのユリ科植物がまずはモデルとして有望だろう。筆者らのこれまでの研究で、一菌糸に由来するAM菌の感染単位(infection unit)の遺伝子発現解析ができるようになっている(未発表)。栽培履歴や土壤特性、栽培管理等の異なる様々な土壤を使って、感染単位の遺伝子発現を調べることで、これまで検出できなかった菌根のダイナミックに変化する様々な機能を知ることができる。同時にその機能を支え、強化するための栽培上のポイントも少しずつ見えてくると期待できる。さらに特定の機能の発現に重要なAM菌の遺伝子が特定できれば、その情報は将来的に土壤診断へも利用できる可能性がある。

5. 菌根のミクロな観察から見えること

圃場における菌根機能を理解するため、特に一つ一つの菌の動態やその機能に注目する理由は、これまで、菌根の作用が「多様で一過的な共生機能の積み重ね」という視点

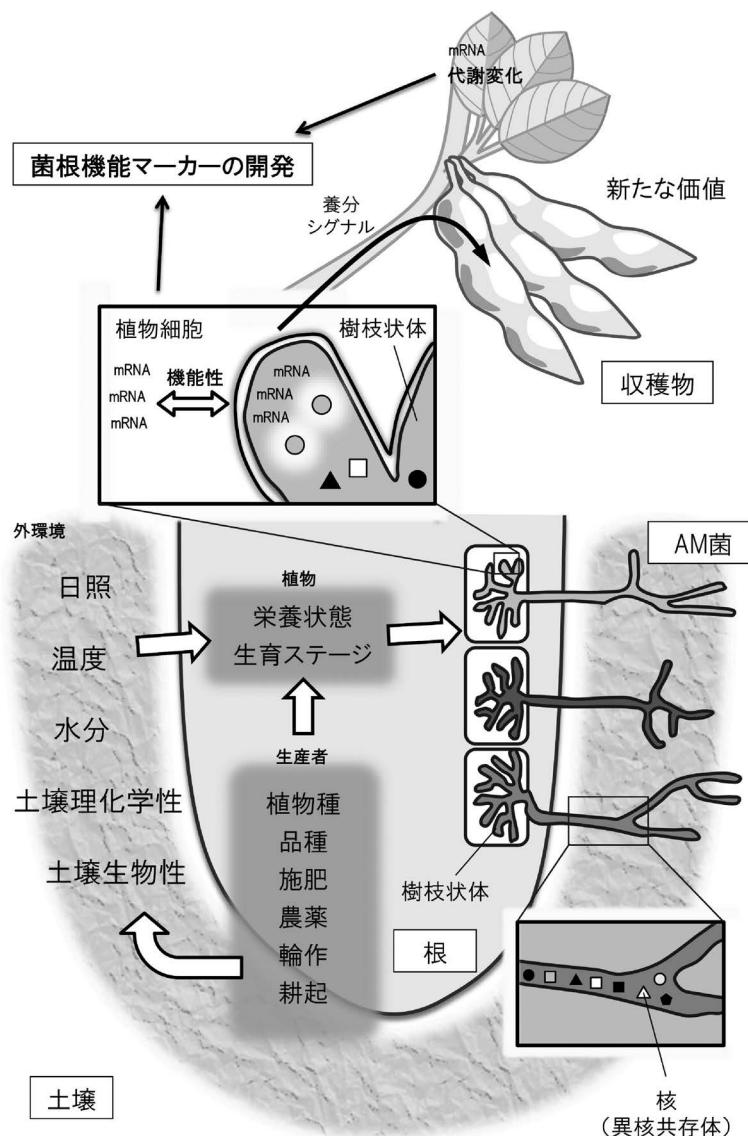


図1 圃場における菌根機能の発現機作

から論じられたことがないことに加え、圃場の複雑なAM菌の機能を“見える化”するには、今のところ感染している一つ一つの菌をターゲットにすることが、確実かつ直接的にその機能を捉えることができると考えるからである。著者は、菌根に検出される一過的な機能が、農業上重要であるとか、あるいはすぐさま活用できると主張するつもりはない。菌根作用が一過的な機能の積み重ねである以上、そのスナップショットやその一部だけを切り出し、それを植物の栄養状態や収穫物の品質に結びつけることはできない。経時的な解析や多様な土壌を使った大規模な調査が、より精度の高い機能の理解には必要だろう。

菌根機能が一過的な機能の積み重ねであるという見方は、圃場における植物養分吸収メカニズムに古くも新しい論点を与えることを最後に指摘したい。土壌における植物の養分吸収とは、そこに貯蔵されている有機物が多様な土壤微生物によって分解され、生じた無機成分が植物の栄養と生長のパターンと符合するように、緩効的かつ安定的に

供給される高度な調節機構を備えるものと予想できる（西尾, 1997）。多様なAM菌が感染する根では、共生が促進されている部分と抑制される部分が常に混在し、細胞レベルで共生のアクセルとブレーキが巧みに踏み分けられている（Etemadi *et al.*, 2014; Couzigou *et al.*, 2017）。これが前述の「高度な調節機能」の一つであるかもしれない。これまで、AM菌の共生動態（ライフサイクル）に基づいた植物の養分吸収が調べられたことはなかった。感染単位レベルでそのライフサイクルを可視化し、共生の消長を調べていく中で、これまでほとんど見過ごされてきた、圃場の多様な微生物との有機的なつながりによる植物の養分吸収機構が、明らかにできるのではないかと期待する。

謝 辞：本稿で紹介した研究の一部は、JST-ACCELの支援により行った。北海道農業研究センターの大友量博士、森本晶博士、岡紀邦博士には本論文をご校閲いただいた。ここに記し感謝申し上げる。

文 献

- Angelard, C., Colard, A., Niculita-Hirzel, H., Croll, D., and Sanders, I.R. 2010. Segregation in a mycorrhizal fungus alters rice growth and symbiosis-specific gene transcription. *Curr. Biol.*, **20**, 1216–1221.
- Angelard, C., Tanner, C.J., Fontanillas, P., Niculita-Hirzel, H., Masclaux, F., and Sanders, I.R. 2014. Rapid genotypic change and plasticity in arbuscular mycorrhizal fungi is caused by a host shift and enhanced by segregation. *ISME J.*, **8**, 284–294.
- Araim, G., Saleem, A., Arnason, J.T., and Charest, C. 2009. Root colonization by arbuscular mycorrhizal (AM) fungus increases growth and secondary metabolism of purple coneflower, *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 2255–2258.
- Arihara, J., and Karasawa, T. 2000. Effect of previous crops on arbuscular mycorrhizal formation and growth of succeeding maize. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **46**, 43–51.
- Augé, R.M., Toler, H.D., and Saxton, A.M. 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: A meta-analysis. *Mycorrhiza*, **25**, 13–24.
- Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., and Bianciotto, V. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: Let's benefit from past successes. *Front. Microbiol.*, **6**, 1559.
- Bielecki, R.L. 1973. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 225–252.
- Boiffin, J., Malézieux, E., and Picard, D. 2001. Cropping systems for the future. In J. Nosberger, H.H. Geiger and P.C. Struik (eds.) *Crop science: Progress and prospects*, p. 261–279. CAB International, Oxford, UK.
- Bona, E., Cantamessa, S., Massa, N., Manassero, P., Marsano, F., Copetta, A., Lingua, G., D'Agostino, G., Gamalero, E., and Berta, G. 2016a. Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting pseudomonads improve yield, quality and nutritional value of tomato: A field study. *Mycorrhiza*, **27**, 1–11.
- Bona, E., Scarafoni, A., Marsano, F., Boatti, L., Copetta, A., Massa, N., Gamalero, E., D'Agostino, G., Cesaro, P., Cavaletto, M., and Berta, G. 2016b. Arbuscular mycorrhizal symbiosis affects the grain proteome of Zea mays: A field study. *Sci. Rep.*, **6**, 26439.
- Bonfante-Fasolo, P. 1984. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In C.L. Powell and D.J. Bagyaraj (eds.) *VA mycorrhizas*, p. 5–33. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Borowicz, V.A. 2001. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogen relations? *Ecology*, **82**, 3057–3068.
- Cavagnaro, T.R. 2008. The role of arbuscular mycorrhizas in improving plant zinc nutrition under low soil zinc concentrations: A review. *Plant Soil*, **304**, 315–325.
- Ceballos, I., Ruiz, M., Fernández, C., Peña, R., Rodríguez, A., and Sanders, I.R. 2013. The in vitro mass-produced model mycorrhizal fungus, *Rhizophagus irregularis*, significantly increases yields of the globally important food security crop Cassava. *PLoS ONE*, **8**, e70633.
- Cely, M.V.T., de Oliveira, A.G., de Freitas, V.F., de Luca, M.B., Barazetti, A.R., dos Santos, I.M.O., Gionco, B., Garcia, G.V., Prete, C.E.C., and Andrade, G. 2016. Inoculant of arbuscular mycorrhizal fungi (*Rhizophagus clarus*) increase yield of soybean and cotton under field conditions. *Front. Microbiol.*, **7**, 720.
- Chitarra, W., Pagliarani, C.H., Maserati, B., Lumini, E., Siciliano, I., Cascone, P., Schubert, A., Gambino, G., Balestrini, R., and Guerrieri, E. 2016. Insights on the impact of arbuscular mycorrhizal symbiosis on tomato tolerance to water stress. *Plant Physiol.*, **171**, 1009–1023.
- Couzigou, J.M., Lauressergues, D., André, O., Gutjahr, C., Guilletin, B., Bécard, G., and Combier, J.P. 2017. Positive gene regulation by a natural protective miRNA enables arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Cell Host Microbe*, **21**, 106–112.
- Ehinger, M., Koch, A.M., and Sanders, I.R. 2009. Changes in arbuscular mycorrhizal fungal phenotypes and genotypes in response to plant species identity and phosphorus concentration. *New Phytol.*, **184**, 412–423.
- Engel, R., Szabó, K., Abrankó, L., Rendes, K., Füzy, A., and Takács, T. 2016. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and polyphenol profile of Marjoram, Lemon Balm, and Marigold. *J. Agric. Food Chem.*, **64**, 3733–3742.
- Etemadi, M., Gutjahr, C., Couzigou, J.M., Zouine, M., Lauressergues, D., Timmers, A., Audran, C., Bouzayen, M., Bécard, G., and Combier, J.P. 2014. Auxin perception is required for arbuscule development in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol.*, **166**, 281–292.
- Garcia, K., Doidy, J., Zimmermann, S.D., Wipf, D., and Courty, P.E. 2016. Take a trip through the plant and fungal transportome of mycorrhiza. *Trends Plant Sci.*, **21**, 937–950.
- Garcia-Garrido, J.M., and Ocampo, J.A. 2002. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *J. Exp. Bot.*, **53**, 1377–1386.
- Gutjahr, C., and Parniske, M. 2013. Cell and developmental biology of arbuscular mycorrhiza symbiosis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **29**, 593–617.
- Hatting, M.J., Gray, L.E., and Gerdemann, J.W. 1973. Uptake and translocation of 32P-labeled phosphate to onion roots by endomycorrhizal fungi. *Soil Sci.*, **116**, 383–387.
- Ijdo, M., Cranenbrouck, S., and Declerck, S. 2011. Methods for large-scale production of AM fungi: Past, present, and future. *Mycorrhiza*, **21**, 1–16.
- Karasawa, T. 2004. Arbuscular mycorrhizal associations and interactions in temperate cropping systems. *Res. Bull. Natl. Agric. Res. Cent.*, **179**, 1–71.
- Kobae, Y., and Fujiwara, T. 2014. Earliest colonization events of *Rhizophagus irregularis* in rice roots occur preferentially in previously uncolonized cells. *Plant Cell Physiol.*, **55**, 1497–1510.
- Kobae, Y., and Hata, S. 2010. Dynamics of periarbuscular membranes visualized with a fluorescent phosphate transporter in arbuscular mycorrhizal roots of rice. *Plant Cell Physiol.*, **51**, 341–353.
- Kobae, Y., Ohmori, Y., Saito, C., Yano, K., Ohtomo, R., and Fujiwara, T. 2016. Phosphate treatment strongly inhibits new arbuscule development but not the maintenance of arbuscule in mycorrhizal rice roots. *Plant Physiol.*, **171**, 566–579.
- Koricheva, J., Gange, A.C., and Jones, T. 2009. Effects of mycorrhizal fungi on insect herbivores: A meta-analysis. *Ecology*, **90**, 2088–2097.
- Lehmann, A., and Rillig, M.C. 2015. Arbuscular mycorrhizal contribution to copper, manganese and iron nutrient concentrations in crops—A meta-analysis. *Soil Biol. Biochem.*, **81**, 147–158.
- Munkvold, L., Kjøller, R., Vestberg, M., Rosendahl, S., and Ja-

- kobsen, I. 2004. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, **164**, 357–364.
- 西尾道徳 1997. 有機栽培の基礎知識. 農山漁村文化協会.
- Norse, D. 2003. Fertilizers and world food demand implications for environmental stress. Proc. IFA-FAO agriculture conference: Global food security and the role of sustainable fertilization. Rome, Italy.
- Oka, N., Karasawa, T., Okazaki, K., and Tanabe, M. 2010. Maintenance of soybean yield with reduced phosphorus application by previous cropping with mycorrhizal plants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **56**, 824–830.
- 大友 量・酒井 治・塚本康貴・杉戸智子・谷藤 健・岡 紀邦 2015. 北海道のダイズ作における輪作順序を考慮したリン酸減肥法. 土肥誌, **86**, 550–553.
- Pearson, J.N., and Jakobsen, I. 1993. The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants measured by dual labelling with ^{32}P and ^{33}P . *New Phytol.*, **124**, 489–494.
- Pellegrino, E., and Bedini, S. 2014. Enhancing ecosystem services in sustainable agriculture: Biofertilization and biofortification of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, **68**, 429–439.
- Pivato, B., Mazurier, S., Lemanceau, P., Siblot, S., Berta, G., Mougel, C., and van Tuinen, D. 2007. Medicago species affect the community composition of arbuscular mycorrhizal fungi associated with roots. *New Phytol.*, **176**, 197–210.
- Plenchette, C., Fortin, J.A., and Furlan, V. 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant Soil*, **70**, 199–209.
- Plenchette, C., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J.M., and Fortin, J.A. 2005. Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems. *Can. J. Plant Sci.*, **85**, 31–40.
- Pozo, M.J., and Azcón-Aguilar, C. 2007. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **10**, 393–398.
- Rodriguez, A., and Sanders, I.R. 2015. The role of community and population ecology in applying mycorrhizal fungi for improved food security. *ISME J.*, **9**, 1053–1061.
- Ropars, J., Toro, K.S., Noel, J., Pelin, A., Charron, P., Farinelli, L., Marton, T., Krüger, M., Fuchs, J., Brachmann, A., and Corradi, N. 2016. Evidence for the sexual origin of heterokaryosis in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nat. Microbiol.*, **1**, 16033.
- Rozpałek, P., Rapała-Kozik, M., Wężowicz, K., Grandin, A., Karlsson, S., Ważny, R., Anielska, T., and Turnau, K. 2016. Arbuscular mycorrhiza improves yield and nutritional properties of onion (*Allium cepa*). *Plant Physiol. Biochem.*, **107**, 264–272.
- Salvioli, A., Zouari, I., Chalot, M., and Bonfante, P. 2012. The arbuscular mycorrhizal status has an impact on the transcriptome profile and amino acid composition of tomato fruit. *BMC Plant Biol.*, **12**, 4–10.
- Sanchez-Bel, P., Troncho, P., Gamir, J., Pozo, M.J., Camañes, G., Cerezo, M., and Flors, V. 2016. The nitrogen availability interferes with mycorrhiza-induced resistance against *Botrytis cinerea* in tomato. *Front. Microbiol.*, **7**, 1598.
- Sanders, F., and Sheikh, N.A. 1983. The development of vesicular–arbuscular mycorrhizal infection in plant root systems. *Plant Soil*, **71**, 223–246.
- Sanders, I.R., and Croll, D. 2010. Arbuscular mycorrhiza: The challenge to understand the genetics of the fungal partner. *Annu. Rev. Genet.*, **44**, 271–292.
- Sanders, I.R., and Rodriguez, A. 2016. Aligning molecular studies of mycorrhizal fungal diversity with ecologically important levels of diversity in ecosystems. *ISME J.*, **10**, 2780–2786.
- Sawers, R.J.H., Svane, S.F., Quan, C., Grønlund, M., Wozniak, B., Gebreselassie, M.-N., González-Muñoz, E., Chávez Montes, R.A., Baxter, I., Goudet, J., Jakobsen, I., and Paszkowski, U. 2017. Phosphorus acquisition efficiency in arbuscular mycorrhizal maize is correlated with the abundance of root-external hyphae and the accumulation of transcripts encoding PHT1 phosphate transporters. *New Phytol.*, **214**, 632–643.
- Schweiger, R., Baier, M.C., Persicke, M., and Müller, C. 2014. High specificity in plant leaf metabolic responses to arbuscular mycorrhiza. *Nat. Commun.*, **5**, 3886.
- Smith, S.E., Christophersen, H.M., Pope, S., and Smith, F.A. 2010. Arsenic uptake and toxicity in plants: Integrating mycorrhizal influences. *Plant Soil*, **327**, 1–21.
- Smith, S.E., and Read, D.J. 2008. Mycorrhizal symbiosis, 3rd edn. Academic Press, Inc, San Diego, CA.
- Smith, S.E., Smith, F.A., and Jakobsen, I. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiol.*, **124**, 16–20.
- Smith, S.E., Smith, F.A., and Jakobsen, I. 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytol.*, **162**, 511–524.
- Smith, S.E., and Smith, F.A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystems scales. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **63**, 227–250.
- Srivastava, S., Conlan, X.A., Cahill, D.M., and Adholeya, A. 2016. *Rhizophagus irregularis* as an elicitor of rosmarinic acid and antioxidant production by transformed roots of *Ocimum basilicum* in an in vitro co-culture system. *Mycorrhiza*, **26**, 919–930.
- Tamayo, E., Gómez-gallego, T., Azcón-agular, C., and Ferrol, N. 2014. Genome-wide analysis of copper, iron and zinc transporters in the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*. *Front. Plant Sci.*, **5**, 547.
- Tawaraya, K. 2003. Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **49**, 665–668.
- Tawaraya, K., Hirose, R., and Wagatsuma, T. 2012. Inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi can substantially reduce phosphate fertilizer application to *Allium fistulosum* L. and achieve marketable yield under field condition. *Biol. Fertil. Soils*, **48**, 839–843.
- van der Heijden, M.G.A., Martin, F.M., Selosse, M.A., and Sanders, I.R. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future. *New Phytol.*, **205**, 1406–1423.
- Vance, C.P. 2001. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. *Plant Physiol.*, **127**, 390–397.
- van Tuinen, D., Jacquot, E., Zhao, B., Gollotte, A., and Gianinazzi-Pearson, V. 1998. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR. *Mol. Ecol.*, **7**, 879–887.
- Verbruggen, E., and Kiers, E.T. 2010. Evolutionary ecology

- of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evol. Appl.*, **3**, 547–560.
- Verbruggen, E., van der Heijden, M.G.A., Rillig, M.C., and Kiers, E.T. 2013. Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: Factors determining inoculation success. *New Phytol.*, **197**, 1104–1109.
- Vosátka, M., Látr, A., Gianinazzi, S., and Albrechtová, J. 2013. Development of arbuscular mycorrhizal biotechnology and industry: Current achievements and bottlenecks. *Symbiosis*, **58**, 29–37.
- 八木哲生・松本武彦・大友 量・小林創平・三枝俊哉・岡 紀邦 2014. 根鉤地域における飼料用トウモロコシのアーバスキュラー菌根菌感染率とリン酸施肥反応に及ぼす前作物の影響. 土肥誌, **85**, 501–507.
- Young, J.P.W. 2015. Genome diversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **26**, 113–119.
- Zhang, X.H., Zhu, Y.G., Chen, B.D., Lin, A.J., Smith, S.E., and Smith, F.A. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to resistance of upland rice to combined metal contamination of soil. *J. Plant Nutr.*, **28**, 2065–2077.