

称号及び氏名	博士（応用生命科学）	服部 林太郎
学位授与の日付	平成26年3月31日	
論文名	水田転換畑における過剰水分がダイズとアーバスキュラー菌根菌との共生関係に及ぼす影響	
論文審査委員	主査	大門 弘幸
	副査	大木 理
	副査	青木 考

## 論文要旨

植物の共生微生物の一種であるアーバスキュラー菌根菌(以下, **AM** 菌)が植物のリン吸収を促進することは古くから知られており, 養分吸収や共生関係成立の機序が明らかになるにつれて, 作物栽培における **AM** 菌の利用が検討されるようになってきた. 我が国のダイズ作付面積約 **13** 万ヘクタールのうち **85%**が水田転換畑での栽培であり, 今後益々有効活用が必要となる転換畑における低投入型のダイズ生産技術の開発においても, **AM** 菌の活用は重要な要素となる. しかし, **AM** 菌のはたらきを活用したリン施用量の節約は生産現場で広く普及しているとはいえない. その最も大きな要因の一つは, **AM** 菌のはたらきが環境要因の影響を受けやすく, 必ずしも安定しないことである. すなわち, リンをはじめとする土壌の養分濃度, 気候条件, 前作の種類などの作付体系によって作物と **AM** 菌との共生関係が変動し, **AM** 菌から植物へのリン供給に基づく作物の生育量や収量が変化する.

作物と **AM** 菌との共生関係の程度は, 感染率, 孢子数, 外生菌糸のバイオマスを指標として評価することができる. ダイズにおいては, 感染率や栽培土壌における孢子数については, これまでもいくつかの報告がなされてきたが, **AM** 菌を介した土壌からのリン吸収に関与する可能性のある外生菌糸のバイオマスについては評価されてこなかった. この点を明らかにすることは, 今後さらに栽培面積が拡大する転換畑ダイズにおいて不可欠である. そこで, 本研究では, 水田転換畑におけるダイズの生育と収量を制限する環境要因の一つである過剰水

分条件に着目して、外生菌糸のバイオマスが感染率や根の発育とどのように相互に関連するのかといった視点から、転換畑におけるダイズと AM 菌との共生関係の一端を明らかにすることを試みた。

## 第1章 水田転換畑における過剰な土壤水分がフクユタカの根長密度および AM 菌感染率に及ぼす影響

大阪府立大学附属教育研究フィールド内の水田転換畑において、基肥として  $\text{N:P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O} = 3:10:10 \text{ kg}/10\text{a}$  を施用し、2010 年 7 月 2 日にダイズ(品種:フクユタカ)を条間 70 cm, 株間 20 cm で点播した。異なる土壤水分条件として湿潤区と対照区を設け、湿潤区には 8 月 6 日まで畝間灌漑を連続して行い土壤含水率を高く保った。両区の任意の 2 箇所から土壤コアサンプル(直径 5 cm, 長さ 20 cm)を採取し、異なる土壤深度(表層:土壤表面から 0-10 cm と深層:10-20 cm)における根長密度と AM 菌感染率を測定した。

土壤含水率は 8 月上旬までは湿潤区で 30~50 % と高く、それ以降 9 月末までは両区ともに 20 % 程度で推移した。根長密度は、畦間灌漑終了直後の 8 月 11 日までは両区ともに表層で  $0.3\sim 0.5 \text{ cm cm}^{-3}$  と著しく高く、深層で低かった。フクユタカの開花始期(R1 期)にあたる 8 月 25 日には対照区では土壤深度による差異は認められなくなった。AM 菌感染率は、対照区(40.5 %)に比べて湿潤区(29.6 %)で明らかに低かった。また、湿潤区では表層と比べて深層で低かったが、対照区ではその傾向はみられなかった。これらの結果より、フクユタカの根における AM 菌の感染は湛水処理によって著しく抑制されるものの、土壤表層においては深層と比較すると AM 菌感染率が高く維持されることが示された。セスバニアなどの湿性植物の根は湛水条件下で通気組織を形成するが、ダイズの下胚軸や根においても発達した通気組織が観察される。フクユタカを供試した本試験では、湿潤区において明らかな浅根化が観察され、胚軸根(不定根)も旺盛に形成された。このような根系の形態変化が両区における土壤層位別の AM 菌の感染率の差異に影響を及ぼすことが推察された。

## 第2章 湛水処理がフクユタカの根における AM 菌の感染部位に及ぼす影響

上述の圃場試験で観察された過剰水分条件下でのフクユタカの根系における形態変化と AM 菌の感染率との関係を詳細に検討するために、過剰水分を被りやすい生育初期に絞って湛水の影響をポット試験で調査した。実験には孢子約 160 個を含む AM 菌資材を用い、本資材を混和した育苗培土を充填した  $1/10000 \text{ a}$  ワグネルポットに、フクユタカを播種深度を 3 cm とし播種した。初生葉展開後にポットを半数ずつに分け、湛水深度を 0 cm とし 39 日間の湛水処理を行う処理区(湛水区)と湛水処理を行わない処理区(灌漑区)を設けた。試験は人工光型グロースチャンバー内で行った。

湛水処理による地上部の生育量の違いは認められなかったが、根系の形態は湛水処理によって特徴的な変化を示した。湛水区では下胚軸の水面際の部分で表皮の裂開が観察され、水面下の部分では皮層が剥離、脱落して白色でスポンジ状の二次通気組織が露出した。灌

漑区では表皮の裂開や皮層の剥離、脱落は観察されなかった。また、水面下の下胚軸では旺盛な不定根の発生が観察された。下胚軸に形成された不定根の一部は土壌表面に露出した。一方、主根および側根の伸長は湛水区で著しく抑制された。その結果、湛水区では根系全体の根長に占める不定根の割合は **90 %** に達した。さらに、湛水区では不定根においても下胚軸と同様に二次通気組織が認められ、その形成率は **82.5 %** であった。湛水区における **AM** 菌感染率は、主根および側根 (**0.8 %**) ならびに不定根 (**7.5 %**) のいずれにおいても、漑区と比較して著しく低く、フクユタカの根における **AM** 菌の感染率が湛水処理によって著しく阻害されることが確認された。ただし、湛水区における主根および側根の感染率が著しく低かったのに対して、不定根においては比較的高かったことは注目に値すべき点であろう。なお、ダイズの窒素栄養に重要な根粒の着生数を調べたところ、主根および側根では湛水区で著しく少なかったのに対して、不定根では湛水区で漑区と同程度であった。

以上のように、湛水条件下では土壌表層に形成された不定根が **AM** 菌が感染するための場所として重要な役割を担っていることが示唆された。湛水条件下においても土壌表層では土壌中の酸素分圧が比較的高いことや、不定根が二次通気組織を形成することから、不定根の根圏や組織内では酸素分圧が高く、好気性微生物である **AM** 菌の感染に適した状態である可能性が推察された。

### 第3章 水田転換畑における過剰な土壌水分がフクユタカの **AM** 菌バイオマスに及ぼす影響

過剰水分に対するフクユタカの根と **AM** 菌の感染率に関する圃場試験とポット試験によって得た知見を基盤にして、実際の水田転換畑における過剰な土壌水分が **AM** 菌バイオマスに及ぼす影響について2年間にわたり調査した。試験は大阪府立大学附属教育研究フィールド内の水田転換畑において行った。2011年6月15日および2012年6月18日にフクユタカを播種し、出芽を確認した後、湿潤区では両年ともに播種後37日目まで畝間漑を行った。畝間漑期(播種後36日目)および開花盛期(播種後80~83日目)に地上部を採取し、また、その株元において上述のように表層と深層の土壌コアサンプルを採取した。それぞれの土壌コアから土壌1gを取り出し、t-ブチルメチルエーテルおよびヘキサンを用いて抽出した脂肪酸に含まれる16:1 $\omega$ 5の含有率を **AM** 菌のバイオマーカーとしてキャピラリガスクロマトグラフィーで定量して、バイオマスを求めた。また、土壌コアから根を洗い出して **AM** 菌感染率を測定した。

2010年の圃場試験と同様に、フクユタカの地上部の生育は両年ともに畝間漑によって抑制され、地上部の乾物重、リン含量と窒素含量は湿潤区で低い値を示した。処理区間における生育差は開花盛期になっても維持された。両年ともに **AM** 菌感染率は畝間漑によって抑制され、いずれの時期においても湿潤区で低かった。処理区間の差異は特に畝間漑期において大きかった。 **AM** 菌バイオマスは地上部の生育や **AM** 菌感染率とは異なる傾向を示し、畝間漑期においては両年ともに湿潤区で著しく低かった。土壌1gあたりの **AM** 菌バイオマスは、2011年には表層において対照区で **12.2  $\mu$ g** であったのに対して湿潤区で **4.3  $\mu$ g**、深

層においては対照区で **11.3 µg** であったのに対して湿潤区で **1.3 µg** であった。一方、開花盛期においては両年ともに処理区間で差異は認められなかった。

これらの結果より、水田転換畑における **AM** 菌感染率と **AM** 菌バイオマスは、フクユタカの生育初期における過剰な土壤水分に対して、生育時期によってやや異なる反応を示すことが明らかとなった。すなわち、過剰水分を被りやすい播種後約 **1** ヶ月においては、生育を遅延させ、**AM** 菌感染率が低い過剰水分条件下では、バイオマスも低く、感染率と高い正の相関を示すが、その後の光合成同化産物が十分に獲得できる開花盛期には、**AM** 菌バイオマスと地上部リン含量との間には相関関係は認められず、**AM** 菌を介した土壤からのリン吸収には土壤中の **AM** 菌バイオマスが必ずしも制御要因となっていないことが示唆された。光合成同化産物が地下部に十分に供給できない生育初期においては、根の養分吸収機能を補完するために **AM** 菌バイオマスの多寡が生育を制御するが、日射量が豊富で過剰水分から根系が開放された開花盛期には、主として根の機能に依存した養分吸収が行われるのかもしれない。

本研究では、水田転換畑における過剰な土壤水分によって、フクユタカの根における **AM** 菌の感染は抑制され、過湿条件下における不定根の形成が **AM** 菌を介した土壤からのリン吸収を促進するうえで重要な役割を担っている可能性が示唆された。また、膜脂肪酸組成をバイオマーカーにした定量法によって、水田転換畑ダイズにおける **AM** 菌バイオマスを評価することができ、播種後 **1** ヶ月程度の過剰水分を被る時期における **AM** 菌バイオマスの抑制とその後の回復についての知見が得られた。**AM** 菌の挙動を知ることは、畑作物の生産技術の開発に不可欠であり、本研究で得られた新たな畑作物生産の基盤となる水田転換畑における知見は、低投入持続的なダイズ生産を目指すうえで重要な手がかりとなるであろう。

## 審査結果の要旨

植物の共生微生物の一種であるアーバスキュラー菌根菌 (**AM** 菌) が植物のリン吸収を促進することは古くから知られており、作物栽培における **AM** 菌の利用が検討されるようになってきた。しかし、主要農作物であるダイズ生産における **AM** 菌の挙動には十分には理解されておらず、特に日本におけるダイズの主たる生産の場である水田転換畑での挙動は未解明であり、今後栽培面積が拡大する転換畑ダイズ作においてその理解は不可欠である。そこで、本研究では、転換畑における生育と収量を制限する環境要因の一

つである過剰水分条件に着目して、AM菌の外生菌糸のバイオマスが感染率や根の発育とどのように相互に関連するのかといった視点から、転換畑におけるダイズとAM菌との共生関係について基礎的な知見を得た。

第1章では、転換畑における過剰な土壌水分がダイズの根長密度とAM菌感染率に及ぼす影響を明らかにした。本学の水田転換畑（灰色低地土）において、畦間灌漑によって異なる土壌水分条件の湿潤区と対照区を設けフクユタカを栽培した。土壌含水率は8月上旬までは湿潤区で30～50%と高く、それ以降9月末までは両区ともに20%程度で推移した。根長密度は、畦間灌漑終了直後の8月11日までは両区ともに表層で著しく高く、深層で低かった。AM菌感染率は、対照区（40.5%）に比べて湿潤区（29.6%）で明らかに低く、さらに湿潤区では表層に比べて深層で低かった。すなわち、AM菌の感染率は過剰水分によって著しく抑制されたものの、土壌表層では高く維持されることが明らかとなった。なお、湿潤区では浅根化が生じ、胚軸根もが旺盛に形成され、根系の形態変化がAM菌の感染率に影響を及ぼすことが示唆された。

第2章では、過剰水分条件下での根系の形態変化とAM菌の感染率との関係について、過剰水分を被りやすい生育初期に絞ってポット試験を用いて解析した。初生葉展開後に、土壌表面まで湛水する区と湛水しない区を設け、フクユタカを40日間生育させた。両区間で地上部生育量の差異は認められなかったが、湛水区では下胚軸表層組織が裂開し、水面下では皮層が剥離、脱落してスポンジ状の二次通気組織が露出し、不定根の旺盛な発生がみられた。一方、主根と側根の伸長は湛水区で著しく抑制され、湛水区では全体の根長に占める不定根の割合は90%に達した。さらに、湛水区では不定根においても下胚軸と同様に二次通気組織が認められ、その形成率は82.5%と高かった。湛水区におけるAM菌感染率は、主根および側根（0.8%）ならびに不定根（7.5%）のいずれにおいても、対照区と比較して著しく低く、AM菌の感染は過剰水分によって著しく阻害された。ただし、湛水区においても不定根では感染率が比較的高かったことは注目すべき点である。以上のように、湛水条件下では土壌表層に形成された不定根がAM菌が感染部位として重要な役割を担っていることが示された。

第3章では、転換畑における過剰水分がAM菌バイオマスに及ぼす影響について、本学転換畑圃場で2011年と2012年に調査した。湿潤区では播種後約1ヶ月畝間灌漑を行い、土壌水分を高く維持した。畝間灌漑期および開花盛期に地上部と株元の表層と深層の土壌コアサンプルを採取した。土壌コアから抽出した脂肪酸に含まれる16:1 $\omega$ 5の含有率をAM菌のバイオマーカーとして定量して、AM菌バイオマス量とした。地上部の乾物重、リン含量、窒素含量は湿潤区で低かった。AM菌バイオマスは、畝間灌漑期においては湿潤区で著しく低かったが、開花盛期には両年ともに処理区間で差異は認められなかった。これらの結果より、過剰水分を被りやすい播種後1ヶ月においては、AM菌バイオマスは低く、感染率と高い正の相関を示したが、その後の光合成同化産物が十分に獲得できる開花盛期には、相関関係は認められず、AM菌を介した土壌からのリン吸

収には土壌中の AM 菌バイオマスが必ずしも制御要因となっていないことが示唆された。

本研究では、水田転換畑における過剰な土壌水分によって、ダイズにおける AM 菌の感染は抑制され、不定根の形成が AM 菌を介した土壌からのリン吸収を促進するうえで重要であることが示唆された。また、膜脂肪酸組成をバイオマーカーにした定量法によって、転換畑ダイズにおける AM 菌バイオマスを評価することができ、播種後 1 ヶ月程度の過剰水分を被る時期の AM 菌バイオマスの抑制とその後の回復についての知見が得られた。本研究で得られた転換畑における AM 菌の挙動に関する知見は、新たな畑作物生産の基盤となる転換畑における低投入持続的なダイズの安定生産技術の開発に貢献する可能性が高く、作物学、栽培学、土壌植物栄養学の分野における基礎的知見としても高く評価できるものである。したがって、最終試験の成績とあわせて博士（応用生命科学）の学位を授与することを適当と認める。