

令和元年6月11日現在

機関番号：34316

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07579

研究課題名(和文) 転換畑ラッカセイの異形的根粒形成のエチレンによる制御機序の解析

研究課題名(英文) Understanding of regulation by ethylene on root nodule formation of peanut grown under the upland field converted from paddy

研究代表者

大門 弘幸 (Daimon, Hiroyuki)

龍谷大学・農学部・教授

研究者番号：50236783

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：水田転換畑で生育したラッカセイの根系発育と根粒形成が土壌由来の外生エチレンによってどのように制御されるかについての事象を明らかにすることを試みた。品種‘おおまさり’は、過剰水分を被ることにより単位根長あたりの根粒数が著しく増加し、これにはエチレンが関与している可能性が高かった。また、実際に水田転換畑で過剰水分を被ることでラッカセイの生育、収量がどのように変化し、その際の収穫残渣の特性との関係を明らかにすることを試みた。品種‘おおまさり’と‘千葉半立’の生育は、灰色低地土の水田転換畑においても旺盛であり、その収穫残渣の茎葉部は後作コムギの窒素吸収に補完的に機能することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水田転換畑において生育したラッカセイが、高い根粒密度(単位根長あたり根粒数)を生じる機序を解析し、その現象が収量だけでなく、収穫残渣を有機物資材として利用する際に重要な茎葉部の残存窒素分に及ぼす影響を解析したことは、西南暖地の水田転換畑に新規にラッカセイを導入する際の基盤知見として重要である。水田転換畑の過剰水分条件下では、土壌が還元化し、特に有機物を施用した圃場では多様な還元物質が発生する。植物ホルモンとして機能するエチレンもその一つであり、外生エチレンとして作物の生育に影響する可能性が高く、転換畑における他のマメ科作物の生育を解析する上にも重要な知見となると考えている。

研究成果の概要(英文)：Effect of the exogenous ethylene that was derived from soil of upland field converted from paddy was evaluated on root nodule formation of two cultivars of peanut. In Ohmasari, the number of root nodules per unit length of the root increased under the excess soil water condition. The considerable amount of ethylene was detected under this condition. It was found that ethylene was produced in those waterlogged soils. The production of ethylene might regulate the relationships between lateral root development and root nodule formation. After harvesting pods of the two cultivars, Ohmasari and Chiba-Handachi grown in the field, the crop residues, leaves and stems, were incorporated to the soil, and then wheat plants were grown to examine the effects of these residues on nitrogen supply in this cropping system. It is suggested that the residues of both cultivars might have complementary role as nitrogen source for the following wheat grown in the upland field converted from paddy.

研究分野：作物生産科学，特にマメ科作物を含む多様な作付体系における養分動態に関する研究分野

キーワード：根粒形成 根系発育 ラッカセイ エチレン 地力窒素 水田転換畑 還元土壌 作物生理生態学

1. 研究開始当初の背景

モンスーンアジアに位置する日本の農業では、水田が農耕地の54%の約250万haを占めるが、現在では食用米の作付面積は150万haを下回っている。水田転換畑における畑作物の安定生産の技術基盤を構築することは、地域農業の活性化のために必須である。しかし、輸入農作物との競争や自給率向上の観点から導入が期待されているダイズやムギ類の耐湿性は脆弱であり、転作作物への耐湿性の付与や湿害回避技術の工夫など、作物生産科学領域で解決しなければならない課題は多い(有原 2004, Oyanagi *et al.* 2009, Hattori *et al.* 2014)。湿害対策の一方で、転換畑では転作の継続で畑地化が進むと有機物の分解が進み、経年的に地力が減耗することも大きな問題であり(Chen *et al.* 2012)、その対策も急務である。

申請者は、西南暖地の転換畑で大納言アズキを栽培する際の梅雨時期をさけた早期播種と、過剰な茎葉部の土壌への還元に関する研究を進めてきた(Daimon 2014)。また、転作による地力の減耗を補完するための方策として、耐湿性が高く乾物生産力に優れるマメ科緑肥作物をすき込んだ際の窒素付与の量的評価を試みてきた(Tarui *et al.* 2013, Yamawaki *et al.* 2014)。マメ科作物は根粒菌と共生して窒素を固定するが、ダイズやアズキといった転作マメ類は、収穫時には茎葉部に蓄積した養分を子実として圃場から収奪することになる。一方、主として火山灰土壌の畑地で生産されているラッカセイは、生育特性から収穫時にも緑葉を維持した茎葉部に多くの窒素分を蓄積する特性をもつことから、日射量が多く温暖な西南暖地において収穫残渣を有機物として利用することを前提に、本作物を西南暖地の転換畑に導入できないかと考えた。これまでに大阪府、京都府、滋賀県の現地圃場で栽培を試行してきたが、これらの地域の気象条件では、千葉や茨城といった主産地に比べて栽培期間に幅をもたせることができ、より多様な輪作体系に組み込みやすい可能性にも着目している。

転換畑での生育を調査する過程で、ラッカセイの根系発育と根粒形成の様態が、火山灰土壌の場合とは大きく異なる事象を観察した。最も特徴的な点は、単位根長あたりの根粒数が著しく多くなる事象であり、分枝根の分化や伸長と根粒形成との間に競争的關係が生じたかのような現象を認めた。このような転換畑でラッカセイが高い根粒密度を生じる機序を解析し、その現象が収収量そのものだけでなく、収穫残渣を有機物資材として利用する際に重要な茎葉部の残存窒素分に及ぼす影響を明確にすることは、西南暖地の転換畑に新規にラッカセイを導入する際の基盤知見として重要である。

転換畑の過剰水分条件下では、土壌が還元化し、特に有機物を施用した圃場では多様な還元物質が発生する。植物ホルモンとして機能するエチレンもその一つであり、大気中に比べて土壌中では拡散速度が遅く濃度が高まり、外生エチレンとして作物の生育に影響する可能性が高い。一方、水分含有率が高く、時に降雨により湛水する転換畑では、植物自身も内生エチレンを生成し、しばしば根の伸長を阻害する。しかし、排水性が劣る沖積土水田地帯の転換畑におけるエチレンとラッカセイの生育や根系発育に関する知見はなく、根粒形成の様態に関する研究事例はない。畑状態と比較して多くの根粒が形成される様態(異形性)は、過剰水分条件における土壌由来の外生エチレンや、植物自身の内生エチレンによって生じる根の生育阻害と関係しているのか、あるいは、根粒制御の機序の一つとして明らかになりつつあるエチレンが直接的に誘導(Nukui *et al.* 2000)したものなのかについて、より詳細に解析することは、転作マメ科作物の生理生態学的知見を集積するために、また、生産現場に新規に畑作物を導入する上に重要であると考え、本研究計画を立案した。

2. 研究の目的

本研究では、水田転換畑で生育したラッカセイの根系発育と根粒形成が、土壌由来の外生エチレンによってどのように制御されるかについての事象を明確に示すことを目的とした。また、実際に水田転換畑で過剰水分を被ることでラッカセイの生育、収量、がどのように変化し、その際の収穫残渣の特性との関係を明らかにすることを試みた。つまり、ラッカセイを水田転換畑に導入し得る可能性を明らかにし、あわせて、根系発育、特に窒素固定活性が過剰水分を被り易い水田転換畑で変動することにより、転換畑における地力補完に機能する収穫残渣が後作物の生育に及ぼす効果を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) エチレンがラッカセイの生育と根粒形成に及ぼす影響(ポット試験)

1) エチレン発生と根粒形成

品種‘おおまさり’を供試した。水田土壌を小型ビニールポットの上端から5cmまで充填し、プラスチック製大型コンテナ内に設置した。実験は白色蛍光灯で12時間日長(30°C(明)/26°C(暗))に制御した人工気象器内で行った。催芽した種子をポットに移植し、根粒菌懸濁液を接種した。移植後10日間は適宜かん水して生育させた後、ポットを3群に分けて、以下の3つの処理を行った。すなわち、引き続きかん水を行う畑区、土壌表面と水面が同じ高さになるようにコンテナに水道水を入れた湛水区、畑区と同様の処理条件で13mMのエテホンを1ポットあたり10ml投与したエテホン区の3処理区を設けた。湛水区では、湛水7日後にコンテナ内の水を排出し、その後21日間は畑区と同様に適宜かん水した。エテホン区については、畑区と同様にかん水した。

湛水処理終了直後（移植後 17 日目）および湛水処理終了 14 日目（同 31 日目）にそれぞれ生育の中庸な 4 個体を選び、地下部については、根から根粒を取り外し、根粒数および根粒重を計測した。採取した根は、水を満たした透明アクリルトレイに広げて、スキャナーで画像として取り込み、画像解析ソフトにより総根長を測定した。なお、採取した地上部および地下部は、70°C で 48 時間乾燥し、乾物重を測定した。

2) 湛水後の土壌からのエチレンの発生

上述した水田土壌を 4°C で密閉保存したものを供試して、湛水後の土壌からのエチレンの発生を調査した。土壌の培養実験は、中野・楯塚 (1978) の方法を一部改変して行った。すなわち、100 ml の三角フラスコに水田土壌 30 g を秤量し、水分含有量が 75 ml になるように水を添加した湛水区と圃場容水量となるように水を添加した畑区を設け、ダブルキャップで密栓した。気相部を真空ポンプで脱気してからアルゴンガスで置換して振とう器で 10 分間振盪後、気相部を再度脱気した。脱気後のフラスコを 30°C、暗黒条件下で静置培養し、24 時間後に生成するエチレンを定量した。

エチレンの定量は以下のとおり行った。気相部にアルゴンガスを充填して、振とう器で 10 分間振盪後に気相部から 0.5 ml のガスをシリンジで採取して、水素炎化方式のガスクロマトグラフで定量した。同じ操作を繰り返して行い、2 回の測定値の合計をフラスコ当たりのエチレン生成量とした。さらに、再度気相部を脱気してアルゴンガスに置換して同様に 10 分間振盪後、気相部を脱気して、30°C、暗黒条件下で静置培養し、24 時間後（湛水処理から 48 時間後）に生成するエチレンを再度定量した。

(2) 水田転換畑におけるラッカセイの根粒形成（圃場試験）

品種‘おおまさり’と‘千葉半立’を供試した。龍谷大学農学部附属農場内の水田転換畑圃場で、2017 年および 2018 年の 2 年にわたって両品種を播種して、生育時期別の根粒形成の様態を観察した。ここでは 2018 年の試験概要について報告する。

2018 年 9 月 18 日ならびに収穫期にあたる 10 月 4 日に‘おおまさり’、10 月 25 日に‘千葉半立’をそれぞれ採取した。採取した地上部と地下部は生体重を測定し、地下部の総根長と根粒数を調査した。なお、9 月 18 日のサンプリングでは、5 cm 以上の側根を個体あたり 5 本採取し、定規を用いて根長を測定した後に根粒数を測定した。さらにスキャナーで総根長を測定し、それらの根粒数を測定した。また、10 月 4 日に採取した‘おおまさり’、10 月 25 日に採取した‘千葉半立’については、上述の調査に加え、主根の根長と根粒数を測定した。採取した地上部および地下部は、70°C で 72 時間乾燥した後に乾物重を測定した。

(3) ラッカセイ収穫残渣の窒素源としての利用（圃場試験）

品種‘おおまさり’および‘千葉半立’を供試して遂行した上記圃場試験で得た莢実収穫後の茎葉部をすき込み、後作にコムギを供試して、収穫残渣としての茎葉部のすき込みによる窒素の供給効果について検証した。試験は 2017 年～2019 年の 2 作期にわたり遂行したが、2 作期目のコムギの収穫が 2019 年 6 月中旬となるので、ここでは、2017 年～2018 年の試験の概要について報告する。

2017 年は 10 月に降雨が続き、茎葉部のすき込み時期が遅延した。その間畦外に置いておいた収穫残渣の茎葉部を 11 月 27 日に押し切りで 5～10 cm に細断し、圃場表面に散布しロータリー耕ですき込んだ。処理区として、すき込みを行わない両品種の対照区、おおまさりすき込み区、千葉半立のすき込み区の 4 処理区を設けた。すなわち、両品種ともに約 50 m 畝の半分を対照区とし、残りの半分をすき込み区とした。後作物として、コムギ品種‘ミナミノカオリ’を供試し、12 月 7 日に条間 20 cm (4 条) で各処理区に条播した。2018 年 6 月 22 日に収穫し、収量調査と地上部全窒素含有率を測定し、処理区間の全窒素吸収量の差異について検討した。

4. 研究成果

(1) エチレンがラッカセイの生育と根粒形成に及ぼす影響（ポット試験）

1) エチレン発生と根粒形成

処理終了直後では、地上部乾物重については、エテホン区で他の区に比べてやや小さく、地下部乾物重については、湛水区で他の区に比べてやや小さかった。処理終了後 14 日目では、地上部乾物重はエテホン区では湛水区に比べて小さかったが、畑区に比べて大きく、地下部乾物重は処理区間で明確な差異はなかった。総根長については、処理終了直後では、湛水区で他の区に比べて小さかった。湛水終了後から 14 日目にかけて、総根長が湛水区では 1.93 倍、エテホン区では 1.72 倍と高くなり、畑区では 0.96 倍とほぼ変わらなかった。根粒数については、処理終了直後において、湛水区では根粒がほとんど形成されなかったが、処理終了後 14 日目において、畑区に比べてエテホン区では根粒数が 2.9 倍、根粒重が 4.5 倍、湛水区ではそれぞれ 4.6 倍、16.6 倍と高い値を示した。

2) 湛水後の土壌からのエチレンの発生

培養開始 48 時間以内に、湛水区では畑区に比べて、エチレン発生量が有意に高くなり、湛水土壌においてエチレンが発生したことが確認された。また、投与した 13 mM のエテホンを施用した区において、エチレンが発生したことが確認された。

(2) 水田転換畑におけるラッカセイの根粒形成 (圃場試験)

9月18日には、‘おおまさり’が‘千葉半立’に比べて総根長が長かったが、10月4日の収穫期におけるサンプリングでは短かった。根粒数については、9月18日には、‘おおまさり’が‘千葉半立’に比べて1.5倍多く、この時期には‘おおまさり’の方が根粒を多く着生することが観察された。10月4日、10月25日の両品種のそれぞれの収穫日において、‘おおまさり’では根粒数の減少が見られたが、‘千葉半立’では根粒数の増加がみられ、‘おおまさり’に比べて根粒数が多いことが示された。単位根長当たりの根粒数で示した根粒密度については、9月18日には、‘おおまさり’が‘千葉半立’に比べて1.38倍高く、個体あたりでも‘おおまさり’が1.28倍高く、根粒が密生することが量的に示された。その後10月4日、10月25日の両品種のそれぞれの収穫日において、‘おおまさり’では根粒密度が減少し、‘千葉半立’では増加したことから、収穫期における根粒密度は、‘千葉半立’が‘おおまさり’に比べて高くなることが示された。

処理区	エチレン濃度 ($\mu\text{mol}/100\text{g土壌}$)	
	培養時間	
	24時間	48時間
湛水区	1.1	1.0
畑区	0.5	0
t検定	**	**

(3) ラッカセイ収穫残渣の窒素源としての利用 (圃場試験)

‘おおまさり’は茎葉部の生育が過剰な特性を示すとされているが、本試験でも同様であった。‘おおまさり’では茎葉部がやや枯死したものが生じ、一方、‘千葉半立’は緑葉を保持していた時期にすき込むこととなった。すき込み後の土壌溶液の無機態窒素濃度の推移は、すき込み1か月後に増加し、コムギの出穂期にかけて減少した。茎立期から穂孕期頃にかけて、収穫残渣すき込み区では対照区に比べて生育がやや優り、子実収量、全窒素吸収量も同様にすき込み区で高い値であったが、品種による差異は認められなかった。原麦のタンパク含有率は4区平均で12.9%と無施肥栽培にしては高かった。茎葉部のすき込み窒素量は、おおまさりで $8.3\text{g}/\text{m}^2$ 、千葉半立で $9.3\text{g}/\text{m}^2$ であり、コムギの全窒素吸収量は、両品種ともにすき込み区で $3.7\text{g}/\text{m}^2$ と品種による差異は認められなかった。

表2 灰色低地土の水田転換畑におけるラッカセイの収量

供試品種	上莢数 (個/ m^2)	上莢重 (g/ m^2)	上実数 (個/ m^2)	上実重 (g/ m^2)	上実百粒重# (g)
おおまさり	102	466	174	337	124
千葉半立	55	147	93	104	77
t-検定	**	**	**	**	—

#: 上実百粒重は含水率15%換算値 ** : p値<0.01

<まとめ>

植物ホルモンであるエチレンは湛水土壌で生成されるが、湛水条件下では、気体の拡散速度が大気中の1/10000程度の速度と遅くなり、これにより根圏ではエチレンの過剰な蓄積が生じる。エチレンは根系発育や根粒形成を制御するホルモンである。多くのマメ科植物では、過湿水分条件下で誘導されたエチレンが根粒形成を抑制すると考えられてきたが、エチレン受容体遺伝子の機能やその発現調節機構は植物種によって多様であり、根粒形成を阻害する濃度範囲も異なることから一概には結論づけられない。例えば、ラッカセイと共通のタイプの根粒菌の感染経路であるセスパニアでは、嫌気ストレスによって生成された内生エチレンによって根粒形成が促進され、その機序について、エチレンによる細胞間隙の拡大や緩みといった感染経路の確保が関与する。すなわち、嫌気条件によって生成されたエチレンや過酸化水素が根の表皮細胞の細胞死を引き起こし、生じた皮層の亀裂から根粒菌が侵入する。またエチレンの作用により細胞壁の緩みが生じ、それにより皮層の細胞間隙が拡大し、根粒菌が蓄積しやすくなり、皮層細胞への根粒菌の細胞膜貫入が容易になると考えられる。

本研究では、ラッカセイにおいても、湛水土壌におけるエチレンの発生が根粒形成に影響を及ぼした可能性があると考え、加水分解をするとエチレンを発生するエテホンを用いて、エチレンが根粒形成に及ぼす影響を調査した。上述したように、エテホンを投与した区では、畑区に比べて根粒数および根粒重が高い値を示す傾向が見られ、エチレンの作用により根粒形成を誘導する可能性が示された。一方、湛水処理した土壌からのエチレンの発生を確認するために、培養試験を行った結果、湛水区ではエチレンが発生し、畑区ではほとんどエチレンの発生が認められなかった。さらにエテホンを施用した際のエチレンの発生を同様の方法で確認すると、エテホン区でも土壌から十分なエチレンが発生した。湛水区に比べてエテホン区では根粒数および根粒重が低い値を示す傾向が見られ、湛水区ほどには増えなかった。エテホン区では土壌中から発生する外生エチレンのみが発生し、湛水区では外生エチレンと植物が嫌気ストレスによって発生する内生エチレンの両方が発生していると考えられ、湛水区とエテホン区の差異が生じたと推察された。

本研究の結果から、ラッカセイは過剰水分を被ることにより根粒数および根粒重が増加し、この現象にはエチレンが関与している可能性が高いと考えられた。今後、エテホンの濃度をより詳細に設定し、土壌中のエチレン濃度と根粒形成の関係を解析し、さらに上述したエチレンの受容体遺伝子を過剰に発現させた植物体を用いて、外生エチレンと根粒形成をより詳細に解析することに興味もたれるが、本研究ではそこまで研究を進捗させることができなかった。

なお、本研究では、外生エチレンと根粒形成の関係を解析したが、実際の転換畑で確認された根粒形成の様態には、内生エチレンと外生エチレンの両方が関与している可能性が高く、内生エチレンと根粒形成の関係をさらに明らかにする必要がある。

水田転換畑で畑作物を栽培する際には、好気条件になって経年的に有機物の分解が進むことで低下する地力を補完する必要がある。その対策として堆肥や緑肥の施用があげられるが、コストと手間がかかり必ずしも十分な対策になり得ていない。そこで本研究では、実際の灰色低地土の水田転換畑においてラッカセイ 2 品種を栽培し、収穫時にも緑葉を維持するラッカセイの特性に着目して、転換畑のラッカセイの後作物における窒素肥料軽減に収穫残渣のすき込みを活用する上で明らかにすべき肥料軽減効果の評価を試みた。この点に関しては、上述したように、2 作期目にあたる 2019 年 6 月中旬のコムギの収穫調査を行う予定である。

<引用文献>

- 有原 2004. 日作紀 76(別 1):382-383.
Chen *et al.* 2012. Sci. World J. ID279641 1-11.
Daimon 2014. Intl. Sympo. Kor. Crop Sci. Soc., Daegu, Korea.
Hattori *et al.* 2014. Intl. J. Agr. Policy Res. 2:41-48.
Nukui *et al.* 2000. Plant Cell Physiol. 41:893-897.
Oyanagi *et al.* 2009. Intl. Sympo. Root Res. 1-2.
Tarui *et al.* 2013. Plant Root 7:83-91.
Yamawaki *et al.* 2014. Plant Prod. Sci. 17:173-184.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Funakoshi, Y., Daimon, H. and Matsumura, A. 2018. Morphological and physiological studies on densely branched lateral roots triggered by localized phosphate in *Sesbania cannabina*. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 181:336-344. (査読有)
- ② 大門弘幸 2017. 緑肥作物の栽培と利用. 牧草と園芸 65:1-6. (査読無)

[学会・研究会発表] (計 6 件)

- ① 大門弘幸 転換畑における畑作物栽培の課題と地域特産農作物への展開の可能性. 滋賀県バイオ産業推進機構第 2 回バイオ技術セミナー (2019. 3. 19 大津市)
- ② 道山祐子・吉村大輔・妹尾拓司・吉良徹・大門弘幸 ラッカセイの収穫残渣が後作コムギの生育と窒素吸収に及ぼす影響. 近畿作物育種研究会第 186 回例会 (2018. 11. 18 京都市)
- ③ 大門弘幸 滋賀県における水田の高度利用と環境保全に着目した地域特産農作物の創出. 龍谷大学 RECBizNet 研究会 (2018. 7. 12 大津市)
- ④ 大門弘幸・瀧本歩・松村篤・大橋善之・吉村大輔・妹尾拓司・吉良徹・米森敬三・古本強・玉井鉄宗 灰色低地土の水田転換畑におけるラッカセイ大粒品種おまさり導入の可能性. 日本作物学会第 245 回講演会 (2018. 3. 30 宇都宮市)
- ⑤ 大門弘幸 マメ科作物を利用して環境保全型農業にアプローチする. 第 1 回緑肥研究会 (2018.2.15 千葉市)
- ⑥ 大門弘幸・米森敬三・古本強・玉井鉄宗・福嶋雅明 水田転換畑における地域特産作物の生産基盤としての耐湿性の理解と湿害対策. 龍谷大学食と農の総合研究所プロジェクト研究発表会 (2017. 7. 19 大津市)

[図書] (計 1 件)

- ① 大門弘幸 2018. 作物学概論 大門弘幸編著, 1-208, 朝倉書店, 東京.

[その他]

ホームページ等

<http://hiroyukidaimon.net/web/HOME.html>

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。