

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05368

研究課題名(和文)アーバスキュラー菌根菌による不可給態リン酸の獲得機構の解明

研究課題名(英文)Acquisition of unavailable soil phosphate by arbuscular mycorrhizal fungi

研究代表者

俵谷 圭太郎 (Tawaraya, Keitaro)

山形大学・農学部・教授

研究者番号：70179919

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：2区画ポットを用いて、*Rhizophagus clarus*を接種または接種していない区を設け、ネギ(*Allium fistulosum*)を栽培した。土壌溶液の酸性ホスファターゼ活性を測定した。外生菌糸に付着した土壌を採取し、Resin-P、NaHCO₃-Pi、NaHCO₃-Po、NaOH-Pi、NaOH-Po、及びHCl-Pに分画し、各リン濃度を測定した。菌糸区画の土壌中のACP活性は、接種区で非接種区より高かった。各画分のリン濃度は、NaHCO₃-Po及びNaOH-Poでは接種区で非接種区より低い傾向を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

菌糸圏の土壌溶液を採取することにより、アーバスキュラー菌根菌の外生菌糸は酸性ホスファターゼを土壌に分泌し、分泌された酸性ホスファターゼにより有機態リン酸が分解されることが示された。酸性ホスファターゼの分泌は低リンストレス下で促進された。リン資源の枯渇へ対応するため、酸性ホスファターゼ分泌能が高いアーバスキュラー菌根菌の作物への接種を行い不可給態リン酸を利用促進が有効な技術となる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Welsh onions (*Allium fistulosum*) were grown in two compartment pots, inoculated or uninoculated with arbuscular mycorrhizal fungi *Rhizophagus clarus*. The acid phosphatase activity of the soil solution was measured. The soil attached to the extraradical hyphae was collected and fractionated into Resin-P, NaHCO₃-Pi, NaHCO₃-Po, NaOH-Pi, NaOH-Po and HCl-P and the concentration of each phosphorus fraction was measured. The acid phosphatase activity in the soil of the hyphal fraction was higher in the inoculated than in the non-inoculated zone. Phosphorus concentrations in the fractions NaHCO₃-Po and NaOH-Po tended to be lower in the inoculated than in the uninoculated plots.

研究分野：植物栄養学・土壌学

キーワード：アーバスキュラー菌根菌 外生菌糸 酸性ホスファターゼ 有機態リン酸

様式 C-19、F-19-1、Z-19(共通)

1. 研究開始当初の背景

リン酸質肥料の原料であるリン鉱石の産出は2030年頃にピークを迎え、2090年頃に高品質のリン鉱石が枯渇すると試算されている。農耕地に蓄積した不可給態リン酸は作物には利用されにくいことから、作物による土壌からの不可給態リン酸の獲得能の向上が必要とされている。特に、我が国ではリン鉱石の自給率が0%であることから、作物による不可給態リン酸の獲得能の向上は緊要な課題である。

リン欠乏下での植物根からの酸性ホスファターゼの浸出による有機態リン酸の可給化が明らかにされている。しかし、この機能はシロバナルーピンやナタネなどの一部の植物においてのみ認められている。アーバスキュラー菌根(AM)菌は陸上植物の8割と共生し、宿主植物のリン酸吸収を促進する。リン酸吸収の促進は、第一に土壌中に伸張した外生菌糸による吸収表面積の増大によるものと説明されている。外生菌糸が吸収するリンの形態は $H_2PO_4^-$ である。研究代表者はこれまでの研究によりナイロンバックと微小セラミックチューブを用いたコンパートメントポット栽培によりAM菌の外生菌糸の浸出物を含む土壌溶液を回収する方法を確立した。また、得られた菌糸の浸出物に酸性ホスファターゼ活性があることを明らかにした。AM菌が有するこの機能を利用できれば多くの作物における不可給態リン酸の獲得能を向上させることができる。

土壌中の有機態リン酸の測定にはHedley分画法及び ^{31}P NMR法が用いられてきた。Hedley分画法は ^{31}P NMR法に比べて定量性が高いため広く用いられてきたが、画分数が多いため定量に長時間を要する。近年短時間で有機態リンを測定する酵素法が提案された。AM菌の外生菌糸が浸出する酸性ホスファターゼによる不可給態リン酸の獲得を明らかにするためには、簡便な土壌中の有機態リン酸の測定方法を確立する必要がある。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は(1)Hedley分画法により有機態リン酸濃度を測定し、酸性ホスファターゼにより加水分解される有機態リン酸の定量方法を確立すること、(2)コンパートメント毛状根培養及びコンパートメントポット培養を用いて、外生菌糸の浸出物による有機態リン酸の加水分解量を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 土壌中の有機態リン酸の定量方法の検討

土壌中の有機態リン酸濃度をHedley分画法(Hedley et al.1982)で測定した。

(2) AM菌の外生菌糸が浸出する酸性ホスファターゼによる有機態リン酸の利用

コンパートメントポット培養を用いてネギに酸性ホスファターゼ浸出能が高い菌 *Rhizophagus clarus* を接種し、菌糸コンパートメントの土壌に外生菌糸を伸張させる。菌糸コンパートメントの土壌にフィチン酸ナトリウム、

【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

グリセロリン酸、RNA、ATP、及びリン酸二水素カリウム(対照)を5段階の濃度で添加する。同様に非接種区を設ける。これらの植物を人工気象器内で無菌的に生育させる。乾物重、リン含有率、生育前後の土壤中の全リン酸、有機態リン酸及び可給態リン酸濃度を測定し、接種区と非接種区との差よりAM菌による各種有機リン化合物の可給化量を算出する。

4. 研究成果

30 μm 孔径のナイロンバッグによって、根とアーバスキュラー菌根菌の外生菌糸が伸長した区画(菌根区画)とアーバスキュラー菌根菌の外生菌糸のみが伸長した区画(菌糸区画)に区切られた2区画ポットを用いて、滅菌した黒ボク土に過リン酸石灰を用いて0(P0)または0.5(P5) $\text{g P}_2\text{O}_5 \text{ kg}^{-1}$ を施肥し、アーバスキュラー菌根菌 *Rhizophagus clarus* を接種または接種していない区を設け、ネギ(*Allium fistulosum* 品種元蔵)を栽培した。播種後40日目から55日目に土壤溶液採取管を用いて菌糸区画の土壤溶液を採取し、*p*-ニトロフェニルリン酸を用いて酸性ホスファターゼ活性を測定した。菌糸区画から外生菌糸に付着した土壤を採取し、土壤中のリンをResin-P、 $\text{NaHCO}_3\text{-Pi}$ 、 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 、 NaOH-Pi 、 NaOH-Po 、及び HCl-P に分画し、各リン濃度を測定した。ネギの地上部乾物重は接種区で非接種区より高かった。ネギの地上部リン吸収量は接種区で非接種区より高かった。菌糸区画の土壤中のACP活性は、接種区で非接種区より高かった。各画分のリン濃度は、 $\text{NaHCO}_3\text{-Po}$ 及び NaOH-Po では接種区で非接種区より低い傾向を示した。これらの結果からアーバスキュラー菌根菌の外生菌糸は酸性ホスファターゼを土壤に分泌し、分泌された酸性ホスファターゼにより有機態リン酸が分解されることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sato, T., Hachiya, S., Inamura, N., Ezawa, T., Cheng, W., and Tawaraya, K.	4. 巻 29
2. 論文標題 Secretion of acid phosphatase from extraradical hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus <i>Rhizophagus clarus</i> is regulated in response to phosphate availability	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mycorrhiza	6. 最初と最後の頁 599-605
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00572-019-00923-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Luthfiana, N., Inamura, N., Tantriani, Sato, T., Saito, K., Oikawa, A., Cheng, W., Tawaraya, K.	4. 巻 31
2. 論文標題 Metabolite profiling of the hyphal exudates of <i>Rhizophagus clarus</i> and <i>Rhizophagus irregularis</i> under phosphorus deficiency	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mycorrhiza	6. 最初と最後の頁 403-412
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00572-020-01016-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鈴木耶々・佐藤 匠・江沢辰広・杉原 創・程 為国・俵谷圭太郎
2. 発表標題 アーバスキュラー菌根菌の外生菌糸から浸出される酸性ホスファターゼ活性と土壤中のリンの形態
3. 学会等名 日本土壌肥料学会 2019年度静岡大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takumi Sato, Shihomi Hachiya, Nozomi Inamura, Yaya Suzuki, Tatsuhiro Ezawa, Weiguo Cheng, Keitaro Tawaraya
2. 発表標題 Arbuscular mycorrhizal fungi secrete acid phosphatase to hyphosphere in response to phosphorus deficiency
3. 学会等名 Rhizosphere 5 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤匠、江沢辰広、程為国、俵谷圭太郎
2. 発表標題 アーバスキュラー菌根菌が浸出する酸性ホスファターゼ活性の菌種間差
3. 学会等名 日本土壌肥料学会 2018年度神奈川大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 俵谷圭太郎、佐藤匠
2. 発表標題 アーバスキュラー菌根菌による土壌中の有機態リン酸の利用
3. 学会等名 日本土壌肥料学会 2018年度神奈川大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nuri Luthfiana, Nozomi Inamura, Tantriani, Takumi Sato, Kazuki Saito Akira Oikawa Weiguo Chen and Keitaro Tawaraya
2. 発表標題 Metabolite profiling of hyphal exudates of arbuscular mycorrhizal fungi <i>Rhizophagus clarus</i> and <i>Rhizophagus irregularis</i> under phosphorus deficiency
3. 学会等名 日本土壌肥料学会 2020 岡山大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木耶々・佐藤 匠・江沢辰広・杉原 創・程 為国・俵谷圭太郎
2. 発表標題 アーバスキュラー菌根菌の外生菌糸から浸出される酸性ホスファターゼ活性と土壌中のリン画分の関係
3. 学会等名 日本土壌肥料学会 2020 岡山大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------