

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24580393

研究課題名(和文) 暖地型イネ科・マメ科牧草地における根粒菌と菌根菌の関係解明と効率的利用法の検討

研究課題名(英文) The elucidation of the symbiosis between tropical forage legumes and root nodule bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi and investigation of the efficient utilization in tropical grasslands.

研究代表者

飛佐 学 (Tobisa, Manabu)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号：30332844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：暖地型草地におけるマメ科牧草と共生関係にある根粒菌およびアーバスキュラー菌根菌(AM菌)の関係を明らかにするため暖地型マメ科牧草数草種の生産性とAM菌の菌根形成状況の調査・検討を行った。草種間で生育に差が認められ、菌根形成率については根部の生育と関係があることを明らかにした。また、ポット試験において、菌根形成率と根粒数との間に有意な負の相関関係が認められ、菌根形成と根粒形成の間で炭素源の獲得に競合が発生していた可能性が示された。刈取処理は残存植物体重を一時的に減少させ、AM菌生存菌系の一時的な減少を引き起こすが、その後の回復は植物の再成長よりもAM菌菌系で速いことが示された。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted to elucidate the symbiosis between tropical forage legumes and root nodule bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi. A field experiment was performed to investigate productivity and mycorrhizal colonization in several introduced tropical forage legumes. A difference in the growth of the species was observed, and the mycorrhizal colonization was correlated with the growth of the root. In addition, a negative correlation was detected between the mycorrhizal colonization and the number of root nodules in the pot experiment, and the possibility that competition had occurred was observed in the acquisition of the carbon source between the mycorrhizal colonization and root nodule formation. The defoliation treatment decreased the residual plant weight temporarily and caused a temporary decrease in mycelia, but a fast recovery was observed with respect to the mycelia rather than the regrowth of the plant.

研究分野：草地学

キーワード：アーバスキュラー菌根菌 暖地型マメ科牧草 根粒菌 共生

1. 研究開始当初の背景

我が国の飼料自給率は低く、海外からの輸入に大きく依存している状況にある。酪農及び肉用牛生産の発展及び経営の安定を図るためには持続的で可能な限り生産性の高い生産構造を実現しなければならず、そのための施策として耕作放棄地や水田の有効利用等による飼料基盤の拡充、未利用資源の効率的活用等の推進が重要な課題としてあげられている。

マメ科牧草はこれまでに輪作農業体系に組み込まれ、牧草、飼料作物、緑肥および被覆作物として利用されてきた。マメ科牧草を草地に導入することは濃厚飼料、肥料の節約などにより経済的にも有利である。また、家畜の生理障害の防止や連作障害回避などイネ科牧草単独利用に比べ有利な点が多い。しかし現在、草地における暖地型マメ科牧草の造成と利用管理法に関する調査研究は日本においてほとんど行われていない。

植物の根に共生して植物から有機物を受け取り、窒素やリンを植物に供給している菌根菌には、外生菌根菌、内生菌根菌およびアーバスキュラー菌根菌(以下、AM菌)が存在する。これらは数センチもの菌糸を伸ばし、植物根の吸収できない離れた場所のリンやその他の無機養分を根に供給し、やせ地で植物生育を旺盛にする。リン酸吸収係数の高い火山灰土壌や赤黄色土壌においては植物が吸収可能なリン含量が少なく、菌根菌の存在が植物生育に与える影響は大きいものと思われる。特に草地においてはAM菌の存在割合が高く、AM菌が草地の生産性に大きく影響していることが明らかにされつつある。AM菌の存在は古くから知られているが、AM菌の有する機能や生態について明らかにされ始めたのは最近のことであり、マメ科植物と共生関係にある根粒菌と比較すると、未だに不明瞭な部分が多く残されており、また、マメ科植物と根粒菌およびAM菌の関係(植物体内での光合成産物の利用状況、バランス、土壌環境の影響など)に関する調査研究はほとんど行われていない。

2. 研究の目的

本研究では、暖地型草地において環境負荷が少なく、かつ効率的な牧草生産を行うための技術を開発することを目標に、暖地型草地におけるマメ科牧草と根粒菌およびアーバスキュラー菌根菌(以下AM菌)の関係を明らかにし、根粒菌およびAM菌を最大限利用できるように草地管理法等を確立するため、暖地型マメ科牧草と根粒菌およびAM菌の関係を明らかにすること、暖地型マメ科牧草およびイネ科牧草の混播時の生産性と植物体内の窒素およびリン含量との関係を明らかにすることを目的とした。

(1) 圃場試験における暖地型マメ科牧草種の生育とAM菌の菌根形成

西南暖地において栽培利用可能な暖地型マメ科牧草種とAM菌との共生関係を明らかにするための基礎的知見を得るために、導入した数種暖地型マメ科牧草の生育とAM菌の菌根形成状況を調査し、生育と菌根形成との関係について明らかにすることを目的とした。

(2) AM菌の接種およびリン施用量が暖地型マメ科牧草の初期生育に及ぼす影響ならびにマメ科牧草とAM菌および根粒菌の関係

AM菌接種およびリン施用量がマメ科牧草の初期生育と菌根形成に及ぼす影響を明らかにすること、また、宿主植物とAM菌および根粒菌との共生関係を明らかにすることを目的とした。

(3) AM菌接種およびリン施用量が暖地型イネ科牧草およびマメ科牧草の混播栽培における牧草の生育に及ぼす影響

暖地型イネ科牧草およびマメ科牧草の混播栽培におけるAM菌接種の有無およびリン施用量が牧草の生育に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

(4) 暖地型マメ科牧草の刈取後の再生とAM菌の菌根活性との関係の検討

AM菌接種条件下において刈取処理が暖地型マメ科牧草の再生とAM菌の生存菌系に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 圃場試験における暖地型マメ科牧草種の生育とAM菌の菌根形成

2012年

導入した暖地型マメ科牧草グリーンリーフデスマディウム(Gd)、クリーピングビグナ(Cv)、バーガンディビーン(Bb)、バタフライピー(Bp)、センチュリオン(Ce)およびアメリカンジョイントベッチ(Aj)の計6草種を乱塊法により3反復で実験圃場に播種し、草丈、個体乾物重などの生育およびAM菌の菌根形成状況の調査を行った。

2013年

Aj, Ce, Bp, Bbおよびサイラトロク(Si)の計5草種を乱塊法により3反復で実験圃場に播種し、草丈、個体乾物重、菌根形成、根粒形成および植物体リン含有量について調査を行った。

(2) AM菌の接種およびリン施用量が暖地型マメ科牧草の初期生育に及ぼす影響ならびにマメ科牧草とAM菌および根粒菌の関係

AM菌接種およびリン施用量がマメ科牧草の初期生育と菌根形成に及ぼす影響

-1

暖地型マメ科牧草GdおよびCeを供試し、処理としてAM菌接種の有無(2種のAM菌; *Gigaspora*属および*Glomus*属, AM菌接種の有無; +Gi, +Glまたは-Gi, -Gl)およびリン

施用量 (0, 1, 2, 4 gP/m²) の組合せを設け、4 反復の乱塊法によりポット試験を行った。供試植物の各部位乾物重、根粒数、根粒重、AM 菌の菌根形成率の調査を行った。

-2

暖地型マメ科牧草 Gd を供試し、処理として AM 菌 (*Glomus* 属) 接種 (+AM または -AM) およびリン施用量 (0, 2.5 および 5 gP/m²; 0P, 2.5P および 5P) の組合せを設け、4 反復の乱塊法によりポット試験を行った。供試植物の各部位乾物重、根粒数、根粒重、AM 菌の菌根形成率を経時的に計 3 回調査した。

マメ科牧草の生育初期における AM 菌および根粒菌との関係

暖地型マメ科牧草 Si を供試し、処理として AM 菌 (*Glomus* 属) 接種の有無 (+AM または -AM)、リン施用量 (0, 5, 10, 20 gP/m²; 0P, 5P, 10P, 20P) と根粒菌接種の有無 (+R または -R) の組合せを設け、4 反復の乱塊法によりポット試験を行った。供試植物の各部位乾物重、根粒数、根粒重、AM 菌の菌根形成率、植物体リン含有率および植物体窒素含有率の調査を発芽後 2, 4 および 8 週目 (2W, 4W および 8W) に行った。

(3) AM 菌接種およびリン施用量が暖地型イネ科牧草およびマメ科牧草の混播栽培における牧草の生育に及ぼす影響

生育初期における AM 菌接種およびリン施用量がイネ科牧草およびマメ科牧草の混播栽培における牧草の生育に及ぼす影響

暖地型マメ科牧草セタリア (St) および Gd を供試し、処理として St および Gd の単播ならびに混播、AM 菌 (*Glomus* 属) 接種の有無 (+AM または -AM) およびリン施用量 (0 または 1 gP/m²; 0P または 1P) の組合せを設け、4 反復の乱塊法によりポット試験を行った。供試植物の各部位乾物重、AM 菌の菌根形成率、植物体の窒素およびリン含有率の調査を行った。

②生育初期～後期における AM 菌接種およびリン施用量がイネ科牧草およびマメ科牧草の混播栽培における牧草の生育に及ぼす影響

暖地型マメ科牧草 St および Gd を供試し、処理として St および Gd の単播ならびに混播、AM 菌 (*Glomus* 属) 接種の有無 (+AM または -AM) およびリン施用量 (0, 2.5, 5 および 10 gP/m²; 0P, 2.5P, 5P および 10P) の組合せを設け (-AM は -AM/OP のみ)、4 反復の乱塊法によりポット試験を行った。供試植物の各部位乾物重、AM 菌の菌根形成率、植物体のリン含有率の調査を播種 44 日後および播種 72 日後の計 2 回行った。

(4) 暖地型マメ科牧草の刈取後の再生と AM 菌の菌根活性との関係の検討

暖地型マメ科牧草 Gd を供試し、処理とし

て AM 菌 (*Glomus* 属) 接種の有無 (+AM または -AM) および植物体を地際から 3cm の高さで刈取る刈取り処理の有無 (刈取り; C, 非刈取り; NC) の組合せを設け、4 反復の乱塊法によりポット試験を行った。供試植物の乾物重、根粒形成および SDH (コハク酸脱水素酵素) 染色した AM 菌の生存菌糸形成率の調査を刈取後 1, 3, 7 および 15 日目に行った。

4. 研究成果

(1) 圃場試験における暖地型マメ科牧草種の生育と AM 菌の菌根形成

2012 年

地上部乾物重は、11 月に Aj, Ce, Bb, Bp, Cv, Gd の順に高い値となった。個体乾物重は地上部乾物重と同様の順に高い値を示した。根粒数および根粒乾物重は Aj が他の草種より有意 ($p < 0.01$) に高い値を示した。菌根形成率は 10 月および 11 月ともに Bp, Bb, Ce, Aj, Cv, Gd の順に高い値を示した。回帰分析の結果、菌根形成率と根部乾物重との間に有意な正の相関関係 ($p < 0.05$) が認められた。以上より、草種間で生育に差が認められ、菌根形成率については根部の生育と関係があることが示された。

2013 年

7 月から 8 月の小雨により、ほとんどの草種に生育停滞が認められた。個体乾物重には有意差は認められなかったが 11 月には Bb > Si > Ce, Aj > Bp の順で高かった。菌根形成率は、いずれの月にも有意差は認められなかった。根粒重は、11 月には Aj > Si, Ce > Bp > Bb の順で高い傾向を示した。菌根形成率と植物体リン含有量の間には相関関係は認められなかった。本年度の結果では干ばつの影響が大きく、草種間に生育の差が認められたが、菌根形成率については植物の生育やリン含有量との関係が認められなかった。

以上のことから、導入した全ての草種で菌根形成が認められ、また草種間で生育に差が認められ、菌根形成率については根部の生育と関係があることが示されたが、気象条件等により牧草の生育は影響され、菌根形成にも影響することが示された。

(2) AM 菌の接種およびリン施用量が暖地型マメ科牧草の初期生育に及ぼす影響ならびにマメ科牧草と AM 菌および根粒菌の関係

AM 菌接種およびリン施用量がマメ科牧草の初期生育と菌根形成に及ぼす影響

-1

Gd において、個体乾物重と土壤可給態リン含量との間に有意な正の相関関係 ($p < 0.05$) が認められ、リン施用が植物の初期生育を促進したことが示された。また、菌根形成率と根粒数との間に有意な負の相関関係 ($p < 0.05$) が認められ、根粒数が多いものほど菌根形成率は低下した。Ce においては、全乾物重と土壤可給態リン含量との間および菌根形成率と根粒数との間に有意な相関関係は

認められなかった。

-2

AM 菌接種による効果が認められ、菌根形成率は+AM > -AM ($p < 0.01$) を示し、植物体乾物重は1回目、2回目の調査では+AM < -AM ($p < 0.05$)、3回目の調査ではAM 菌接種処理間での差はなくなった。リン施用量についての有意差は認められなかったが、菌根形成率はリン施用量の増加と共に上昇する傾向を示したことから、初期成長にはAM 菌接種とリン施用量が関係し、菌根形成が初期成長に負の影響を与えることが考えられ、地上部では試験全体でのAM 菌接種処理の差が無かったが、地下部では試験全体で+AM と比較して-AM で高い値を示したことから、菌根形成による負の影響は地下部においてより大きいと考えられた。

以上より、草種によりAM 菌接種およびリン施用処理の反応は異なったが、Gd においてはAM 菌接種による効果が認められ、初期成長にはAM 菌接種とリン施用量が関係し、リン施用が植物の初期生育を促進したことが示された。また、菌根形成率と根粒数との間に有意な負の相関関係が認められ、根粒数が多いものほど菌根形成率は低下した。菌根形成は初期成長に負の影響を与えることが考えられ、菌根形成による負の影響は地下部においてより大きいと考えられた。

マメ科牧草の生育初期におけるAM 菌および根粒菌との関係

根部乾物重および植物体乾物重において、-AM > +AM, -R > +R, -AM/-R > -AM/+R, +AM/-R および+AM/+R ($p < 0.05$) となった。根粒数および根粒重では、+R > -R ($p < 0.05$) となった。菌根形成率は+AM > -AM, +R > -R, +AM/+R > +AM/-R, -AM/+R および-AM/-R ($p < 0.05$) となり、また、2W > 8W ($p < 0.05$) となった。植物体リン含有量は20P > 10P, 5P および0P ($p < 0.05$) と高い値を示した。植物体リン現存量は-AM > +AM, -R > +R, 20P > 5P, 0P, -AM/-R > -AM/+R, +AM/+R および+AM/-R ($p < 0.05$) と高い値を示した。植物体窒素現存量は-AM > +AM, -AM/-R > -AM/+R, +AM/+R および+AM/-R ($p < 0.05$) と高い値を示した。菌根形成率と根部乾物重、植物体乾物重、植物体窒素含有量、植物体窒素現存量および根粒数との間にそれぞれ有意な負の相関関係 ($p < 0.05$) が認められた。また、菌根形成率と葉部乾物重との間に有意な正の相関関係 ($p < 0.05$) が認められた。

菌根形成率と根粒数の関係から菌根形成と根粒形成の間で競合が発生していた可能性が示唆された。Si は初期成長においてリン欠乏を防ぐために土壤中の可給態リン酸含有量に関わらず、菌根形成および根粒形成を行い、炭素源を菌根および根粒に供給するか、あるいは地上部の成長に利用することで、根部乾物重の増加量を抑制するが、菌根形成および根粒形成によって根の養分吸収を補う

ことが示唆された。

(3) AM 菌接種およびリン施用量が暖地型イネ科牧草およびマメ科牧草の混播栽培における牧草の生育に及ぼす影響

生育初期におけるAM 菌接種およびリン施用量がイネ科牧草およびマメ科牧草の混播栽培における牧草の生育に及ぼす影響

個体乾物重において、AM 菌接種の効果は認められなかったが、リン施用×播種様式×草種の交互作用が認められ ($p < 0.01$)、1P の混播 St は高い値を示した。Gd は単播および混播区ともに St よりも低い個体乾物重を示した。ポット当たり乾物重において、リン施用×草種の交互作用が認められ ($p < 0.001$)、1P 区の St 単播および混播 St は高い値を示した。混播時の相対乾物重(単播時の乾物重に対する比)は-AM/0P, -AM/1P, +AM/0P および+AM/1P の St ならびに-AM/1P の Gd では0.5以上、合計相対乾物重(St と Gd の和)は-AM/0P では1.2, -AM/1P および+AM/1P では1.6となり、特に+AM/1P では乾物重に対する混播の効果 ($p < 0.05$) が認められた。植物体窒素含有量には、AM 菌接種(+AM > -AM)、リン施用(0P > 1P) および草種(Gd > St) の効果が認められ ($p < 0.05$)、植物体リン含有量には、AM 菌接種(+AM > -AM) ($p < 0.05$) および草種(Gd > St) ($p < 0.001$) の効果が認められた。菌根形成率において、AM 菌接種×リン施用×播種様式の交互作用が認められ ($p < 0.01$)、+AM 区において0P ではGd 単播区が、1P では混播区のGdが高い値を示した。

以上より、乾物重におけるAM 菌接種の効果は認められなかったが、植物体窒素およびリン含有量にAM 菌接種の効果が認められ、リン施用は St の成長を促し、特に混播時の成長を高める傾向にあった。

②生育初期～後期におけるAM 菌接種およびリン施用量がイネ科牧草およびマメ科牧草の混播栽培における牧草の生育に及ぼす影響

個体乾物重において、播種44日後の St ではリン施用の効果が認められ ($p < 0.05$)、施用量の多い区ほど高い値を示し、また、混播区が単播区より高い値 ($p < 0.001$) を示した。播種72日後の St ではリン施用量の効果は限定的(10P > 2.5P, $p < 0.05$) で、混播区が単播区より高い値 ($p < 0.001$) を示した。播種44日後および播種72日後ともに、Gd は単播および混播区ともに St よりも低い個体乾物重を示した。両草種ともにAM 菌接種の効果は認められなかった。ポット当たり乾物重においては、個体乾物重同様、播種44日後の St 単播および混播ではリン施用量の効果が認められ(10P > 0P, 2.5P, $p < 0.001$)、施用量の多い区ほど高い値を示し、St 単播が混播より高い値 ($p < 0.05$) を示したが、播種72日後では St 単播、Gd 単播および混播のいずれにおいてもリン施用量の効果が認め

られなかった。混播時の相対乾物重（単播時の乾物重に対する比）は播種 44 日後および播種 72 日後ともに全ての混播区の St では 0.5 以上、ほとんど全ての Gd では 0.5 以下となり、合計相対乾物重（St と Gd の和）は全ての混播区で 1.0 以上となった。播種 72 日後の植物体リン含有量には播種様式（単播 > 混播, $p < 0.05$ ）および草種（Gd > St, $p < 0.001$ ）の効果が認められたが、リン施用量の効果は認められなかった。播種 72 日後の菌根形成率において、播種様式（単播 > 混播, $p < 0.05$ ）および草種（Gd > St, $p < 0.01$ ）の効果が認められたが、リン施用量の効果は認められなかった。

以上より、AM 菌接種条件下において、St へのリン施用量の増加に伴う乾物重の増加効果は播種 44 日後には認められたが、播種 72 日後には小さくなり、また植物体リン含有量および菌根形成率には効果が認められなかったことから、生育の進行に伴いリン施用量の効果は小さくなること示され、リン施用量の低減が可能と推察された。Gd ではリン施用量の増加に伴う乾物重の増加効果は認められず、リン施用量の低減が可能と推察されたが、Gd は初期生育が遅く混播において生育が抑制されたため、マメ科牧草の混播の効果を生かした利用を行うためには同伴に最適な草種の選定等の検討も今後行う必要がある。

（4）暖地型マメ科牧草の刈取後の再生と AM 菌の菌根活性との関係の検討

乾物重において、刈取処理時には、地上部および根部ともに +AM > -AM ($p < 0.01$) であり、AM 菌の接種効果が認められた。刈取後には、+AM では 7 日目まで C の地上部および根部ともに乾物重の減少が認められ、特に根部でその傾向が高く、その後は増加に転じ 15 日目においては C と NC の間に差が認められなかった。-AM においては、地上部および根部ともに C と NC の間に差が認められず、同様の値で推移した。根粒乾物重において、刈取処理時には +AM > -AM ($p < 0.01$) であり、-AM ではほとんど根粒形成が認められなかった。刈取後 +AM/C では、3 日目に根粒乾物重が最小値となり、その後は増加傾向にあった。生存菌系形成率については、刈取処理時には +AM > -AM ($p < 0.01$) であり、刈取後 +AM では、1 日目に急激な低下が認められ、C < NC ($p < 0.05$) となったが、3 および 7 日目には C と NC の間に差が認められなかった。

以上より、Gd において刈取処理は残存植物体乾物重を一時的に減少させ、根粒重や AM 菌の生存菌系の一時的な減少を引き起こすことが示され、またその後の回復は AM 菌菌系で速いことが示唆された。

以上のことから、以下の様なことが示された。

導入した全ての草種で菌根形成が認めら

れ、また草種間で生育に差が認められ、菌根形成率については根部の生育と関係があることが示された。

Gd においては AM 菌接種による効果が認められ、初期成長には AM 菌接種とリン施用量が関係し、リン施用が植物の初期生育を促進したことが示された。また、菌根形成率と根粒数との間に有意な負の相関関係が認められ、菌根形成は初期成長に負の影響を与えることが考えられ、菌根形成による負の影響は地下部においてより大きいと推察された。

Si は初期成長においてリン欠乏を防ぐために土壤中の可給態リン酸含有量に関わらず、菌根形成および根粒形成を行い、炭素源を菌根および根粒に供給するか、あるいは地上部の成長に利用することで、根部乾物重の増加量を抑制するが、菌根形成および根粒形成によって根の養分吸収を補うことが示唆された。

混播栽培において AM 菌接種条件下においては、St へのリン施用量の増加に伴う乾物重の増加効果は生育初期には認められたが、生育後期には小さくなり、また植物体リン含有量および菌根形成率には効果が認められなかったことから、生育の進行に伴いリン施用量の効果は小さくなること示され、リン施用量の低減が可能と推察された。

Gd において刈取処理は残存植物体乾物重を一時的に減少させ、根粒重や AM 菌の生存菌系の一時的な減少を引き起こすことが示され、またその後の回復は AM 菌菌系で速いことが示唆された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 6 件)

飛佐 学・井上 裕康 グリーンリーフデスマディオムの再生とアーバスキュラー菌根菌の生存菌系に及ぼす刈取の影響。日本草地学会 2016年3月29日-31日 石川県立大学

飛佐 学・三牧 成生 リン施用と根粒菌の接種がサイラトロの生育とアーバスキュラー菌根菌の菌根形成に及ぼす影響。日本草地学会 2016年3月29日-31日 石川県立大学

飛佐 学・中野志穂・平田昌彦 アーバスキュラー菌根菌の接種条件下においてリンの施用が単播あるいは混播されたセタリアおよびグリーンリーフデスマディオムの成長に及ぼす影響。日本草地学会 2015年3月25日-3月27日 信州大学農学部

飛佐 学・川上卓也・平田昌彦 アーバスキュラー菌根菌の接種およびリンの施用が単播あるいは混播されたセタリアおよ

びグリーンリーフデスマディオムの成長に及ぼす影響. 日本草地学会 2014年3月30日-4月2日 宮崎観光ホテル
三牧成生・飛佐 学・平田昌彦 数種暖地型マメ科牧草の生育ならびにアーバスキュラー菌根菌による菌根形成および根粒菌による根粒形成. 日本草地学会 2014年3月30日-4月2日 宮崎観光ホテル
飛佐 学・三牧成生・平田昌彦 数種暖地型マメ科牧草の生育とアーバスキュラー菌根菌の菌根形成 日本草地学会 2013年3月24日-26日 山形大学

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

飛佐 学 (Manabu Tobisa)

宮崎大学・農学部・准教授

研究者番号: 30332844

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし