

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K05949

研究課題名(和文) 暖地型マメ科牧草混播草地の管理方法の検討ならびに根粒菌及び菌根菌の貢献度の検討

研究課題名(英文) Examination of the management method of mixed seeding with tropical forage legume and grass, and investigation of the contribution of rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi

研究代表者

飛佐 学 (TOBISA, Manabu)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：30332844

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)：南九州地域でのマメ科・イネ科牧草混播草地の管理方法の検討並びに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、導入した暖地型マメ科牧草種の生産性と根粒菌およびAM菌の関係について検討を行った。栽培に適するマメ科牧草の選定のための栽培試験では、生産性の高い草種を見いだした。マメ科牧草とイネ科牧草の混播栽培によりイネ科牧草単播栽培と比べ収量や粗タンパク質含量の増加が認められるなど混播の効果が示された。マメ科牧草の生育初期時には根粒形成がAM菌の菌根形成より優先され、また根粒形成および菌根形成時には生長の過程に一時的な負の影響を与えることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国では暖地型のマメ科牧草はほとんど利用されておらず、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となる。マメ科牧草はイネ科牧草との混播栽培により利用され、イネ科牧草単播時よりも粗タンパク質含量や収量などを高め、飼料価値の改善にも役立つ。さらにマメ科牧草は根で根粒菌およびAM菌と共生しているが、暖地型マメ科植物と根粒菌および菌根菌の関係に関する調査研究は国内外においてほとんど行われていないため、これらの間の関係を明らかにすることは急務である。暖地型マメ科牧草とこれらの菌との間の関係を明らかにし、効率的に利用することで肥料の節約など環境負荷低減にも貢献する。

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 (AM) fungi. Field experiments were performed to evaluate productivity, root nodulation, and mycorrhizal colonization in several tropical leguminous forage crops. Furthermore, highly productive legume species were found after two years of field experiments. Mixed seeding with tropical forage legumes and grasses showed higher dry matter yield, crude protein content, and crude protein yield than single grass seeding. During the early stages of tropical forage legume growth, root nodulation took precedence over colonization by AM fungi. Additionally, root nodulation and mycorrhizal colonization were shown to have a temporary negative effect on the growth process of legumes. There is a possibility that the competition observed occurred between the plant and root nodulation and mycorrhizal colonization, in the acquisition of the carbon sources.

研究分野：草地学

キーワード：暖地型マメ科牧草 アーバスキュラー菌根菌 根粒菌 共生 混播

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

わ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。輸入飼料の増加は口蹄疫などの伝染病移入の危険性を高めるばかりでなく、輸入相手国の飼料生産現場の気象状況、円ドルレート等によっては価格変動が激しく、経営に大きな影響を与える。また最近ではバイオ燃料の大幅増産等に伴う世界的な穀物の需給ひっ迫と価格高騰が、畜産経営に大きな影響を及ぼしている。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、草地の持続的な利用等による飼料基盤の拡充、未利用資源（エコフィード等）の効率的活用等の推進が重要な課題となっている。

マメ科牧草はこれまでに輪作農業体系に組み込まれ、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。

リン酸肥料の原料はリン鉱石で、わが国においてはそのほとんどを輸入に頼っている。近年、リン資源の有限性が問題となり、近い将来、現在のような形でリン酸肥料の供給は難しくなるものと考えられている。今後の食糧生産および地球環境を考える上でもリンの有効利用・資源確保は重要な位置付けとなる。

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、AM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。しかしながら、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数残されており、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、かつ省資源で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な草地管理法等を確立するための基礎的知見を得ることを主目的とし、南九州地域での栽培に適する暖地型マメ科牧草の選定、マメ科牧草およびイネ科牧草の混播草地を造成するための播種割合を生産性との関係から明らかにすること、また、混播草地におけるマメ科牧草の根粒形成とAM菌根形成状況を明らかにすること、マメ科牧草の生育初期段階における生育と根粒形成および菌根形成の関係を明らかにすることを目的とした。

#### (1) 九州・沖縄地域における暖地型マメ科牧草の利用状況の把握

九州・沖縄地域において栽培されている暖地型マメ科牧草種を把握することを目的とした。

#### (2) 圃場試験における暖地型マメ科牧草の生育と根粒形成および菌根形成状況の把握

南九州地域において栽培利用可能な暖地型マメ科牧草種を選定するため、生育状況、根粒形成およびAM菌根形成状況などの基礎的知見を得ることを目的とした。

#### (3) 暖地型イネ科牧草とマメ科牧草の混播栽培時の生産性の検討

暖地型イネ科牧草とマメ科牧草の混播栽培時の播種割合が生産性およびAM菌の菌根形成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生育初期段階における生育と根粒菌およびAM菌の関係

ポットおよび種子成長袋を用いた栽培試験において、共生菌である根粒菌とAM菌の接種組み合わせ（接種有無）が、暖地型マメ科牧草の初期生育、根粒形成、菌根形成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) 九州・沖縄地域における暖地型マメ科牧草の利用状況の把握

九州・沖縄地域における暖地型マメ科牧草の利用状況を把握するため、関係者への聞き取り調査を行った。

## (2) 圃場試験における暖地型マメ科牧草の生育と根粒形成および菌根形成状況の把握

2018年

導入した暖地型マメ科牧草ファジービーン(Pb), バーガンディビーン(Bb), サイトロク(Si), センチュリオン(Ce), グライシン(GI), グリーンリーフデスマディオム(Gd), カウピー(Cow), アメリカンジョイントベッチ(Aj)およびパタフライピー(Bp)の計9草種を供試し, 宮崎大学内圃場(S-1, Pb, Bb, Si, Ce, GI および Gdのみ供試)および鹿児島県大隅半島の中山間地に位置する地域の農家圃場(S-2, 9草種を供試)の2カ所の試験地で, それぞれ乱塊法により3反復で5月下旬に播種した。8月上旬以降10月下旬までの間, 定期的に草丈, 草高, 乾物収量(DMY), 根粒着生状況などを調査し, 生産性の比較を行った。また, 乾物消化率(DMD)および粗タンパク質(CP)含有率を求め, 可消化乾物収量(DDMY)およびCP収量(CPY)を算出した。

2019年

暖地型マメ科牧草 Pb, Bb, Si, Ce, GI, Gd, Cow, Aj およびクロタラリア(Cn)の計9草種を2カ所の試験地(S-1: Pb, Bb, Si, Ce, GI, Gd および Cnのみ供試, S-2: 9草種を供試)で, それぞれ乱塊法により3反復で5月中旬に播種し, 8月上旬~10月下旬まで定期的に草丈, 草高, DMY, 根粒着生, AM菌の菌根形成状況などを調査し, 生産性の比較を再度行った。また, DMD および CP 含有率を求め, DDMY および CPY も算出した。

## (3) 暖地型イネ科牧草とマメ科牧草の混播栽培時の生産性の検討

圃場試験

暖地型マメ科牧草 Pb および Si, 暖地型イネ科牧草ギニアグラス(品種ナツカゼ Gg)を用い, 播種量を単播ではそれぞれ $1\text{g}/\text{m}^2$ とし, 混播区は Pb:Gg および Si:Gg でそれぞれ $0.5:0.5$ ,  $0.6:0.4$ ,  $0.7:0.3(\text{g}/\text{m}^2)$ となるように圃場に7月下旬に散播した。試験区は3反復の乱塊法により配置した。8月下旬から10月中旬まで定期的に草丈, 草高, DMY, CP含有率, CPYなどを調査し, 生産性の比較を行った。

ポット試験

$0.05\text{m}^2$ ポットを使用し, 4反復の乱塊法により配置した。Pb および Gg を用い, 播種量を単播ではそれぞれ $1.0\text{g}/\text{m}^2$ とし, 混播区は, Pb:Gg が $0.25:0.75$ ,  $0.5:0.5$ ,  $0.75:0.25(\text{g}/\text{m}^2)$ となるように散播した。AM菌(*Glomus*属)を全てのポットに接種した。7月中旬に播種し, 8月上旬, 中旬, 9月上旬および9月下旬に乾物重およびAM菌の菌根形成の調査を行い, 9月下旬に採取したサンプルについて地上部のCP含有率を測定し, CP重を算出した。

## (4) 暖地型マメ科牧草の生育初期段階における生育と根粒菌およびAM菌の関係

ポット試験

-1

表面積約 $113\text{cm}^2$ のポットを用い, Pb と Si を供試し, AM菌(*Glomus*属)接種の有無2水準(+AM, -AM), 根粒菌接種の有無2水準(+R, -R)の処理を設け, 4反復で乱塊法により配置した。栽培はビニールハウス内で実施した。播種後27日目から約1週間ごとに計4回(播種後53日目まで)サンプリングを行った。草丈, 最長根長, 葉数, 部位別(茎部, 葉部, 根部, 根粒)の乾物重, 根粒数, 菌根形成率を測定した。共生菌である根粒菌とAM菌の接種組み合わせが, 牧草の初期生育, 根粒形成, 菌根形成に及ぼす影響について検討した。

-2

上記試験と同様, 表面積約 $113\text{cm}^2$ のポットを用い, Pb と Si を供試し, AM菌(*Glomus*属)接種の有無2水準(+AM, -AM), 根粒菌接種の有無2水準(+R, -R)の処理を設け, 4反復で乱塊法により配置した。播種後12, 17, 22, および34日目にサンプリングを行った。草丈, 最長根長, 葉数, 部位別(茎部, 葉部, 根部, 根粒)の乾物重, 根粒数, 菌根形成率を測定した。共生菌である根粒菌とAM菌の接種組み合わせが, 牧草の初期生育, 根粒形成, 菌根形成に及ぼす影響について再度検討した。

種子成長袋による試験

-1

種子成長袋(シードパック, 縦 $177\text{mm}$ , 横 $164\text{mm}$ )では, 栽培期間中, 地下部の生長を常に観察することが出来るため, 種子成長袋を用い, Pb を供試し, AM菌(*Glomus*属)接種の有無2水準(+AM, -AM), 根粒菌接種の有無2水準(+R, -R)の処理を設け, 3反復の乱塊法により試験を実施した。栽培はインキュベーター(明期:12時間人工照明30, 暗期:12時間25)内で実施し, 定期的に培養液(窒素含有培養液および無窒素培養液)を添加した。処理後2週間, 4週間および5週間目に, 草丈, 葉数, 最長根長, 各部位(葉部, 茎部, 根部)の乾物重, 根粒形成数, 根粒重, 菌根形成率を調査し, 共生菌である根粒菌とAM菌の接種組み合わせが, Pbの初期生育, 根粒形成, 菌根形成に及ぼす影響について検討した。

-2

種子成長袋(シードパック, 縦 $177\text{mm}$ , 横 $164\text{mm}$ )を用い, Pb を供試し, AM菌(*Glomus*属)接種の有無2水準(+AM, -AM), 根粒菌接種の有無2水準(+R, -R)の処理を設け, 3反復の乱

塊法により配置した。栽培はグロースチャンバー（明期：12時間人工照明30，暗期：12時間25）内で実施し、定期的に培養液（窒素含有培養液および無窒素培養液）を添加した。14日目、21日目、28日目に、草丈、葉数、最長根長、各部位（葉部、茎部、根部）の乾物重、根粒形成数、根粒重、菌根形成率を調査し、共生菌である根粒菌とAM菌の接種組み合わせが、Pbの初期生育、根粒形成、菌根形成に及ぼす影響について検討した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 九州・沖縄地域における暖地型マメ科牧草の利用状況の把握

関係者への聞き取り調査を行った結果、沖縄本島および石垣島の一部の草地の外縁部および草地近傍の道端等にもみ20-30年前に導入されたマメ科草種（サイラトロなど）が存在し、草地での利用はほとんど見られないことが明らかとなった。

##### (2) 圃場試験における暖地型マメ科牧草の生育と根粒形成および菌根形成状況の把握

2018

S-1において、Pb, Bb, Siの順に、DMY, DDMYおよびCPYで高い傾向を示した。個体当たりの根粒数は、8月ではPbが、9月ではCeが最も高かった。S-2において、Cow, Aj, Si, Ceの順にDMY, CPYおよびDDMYで高い傾向を示した。個体当たりの根粒数および根粒重は、9月および10月においてAjが他の草種より有意に高かった。CP含有率およびDMDについては、生育の進行に伴い低下する傾向にある草種と8月から10月を通してほぼ同様の値を示す草種が認められた。両試験地共通草種のDMYについて試験地間の比較を行ったところ、ほとんどの草種においてS-1よりもS-2で高い値を示したが、気象条件や土壌条件が影響したものと考えられた。

2019

S-1において、PbおよびCnはDMY, DDMYおよびCPYで他の草種より高い傾向を示した。個体当たりの根粒数は、10月ではPbが最も高かった。S-2において、10月ではCow, Aj, Cn, Si, Bb, Gd, GI, PbおよびCeの順にDMY, CPYおよびDDMYが高かった。個体当たりの根粒重は9月においてはAjが最も高く、次いでPbであったが、10月においては9月の値から増加した草種(Aj, Gd, Cn, Cow)と同程度または低下した草種が認められた。両試験地共にAM菌の菌根形成が確認でき、8月では草種間の差は認められなかった。両試験地共通草種のDMYについて試験地間の比較を行ったところ、Pb, CeおよびGI以外の草種においてS-1よりもS-2で高い値を示したが、これには気象条件や土壌条件が影響したものと考えられた。

##### (3) 暖地型イネ科牧草とマメ科牧草の混播栽培時の生産性の検討

圃場試験

単播区のDMYおよびCPYは、Pb, Gg, Siの順に高い傾向が認められた。各混播区における各マメ科のDMYは、各単播区のDMYと同等かまたは低い値を示した。10月の各混播区のマメ科とGgを合わせた合計DMYはGg単播区より高い傾向を示した。10月各混播区のマメ科とGgを合わせたCP含有率はGg単播区より有意に高いまたは高い傾向を示した。10月のCPYは一部の区を除き混播区のGgがGg単播区よりも高い傾向を示した。

以上のことから、本研究の条件下でGgにPbまたはSiを混播することでGg単播区よりもDMY, CP含有率およびCPYを高める傾向を示すことが明らかとなった(特にPb:Ggでは0.7:0.3 g/m<sup>2</sup>, Si:Ggでは0.6:0.4 g/m<sup>2</sup>)。

ポット試験

栽培期間を通して単播区Pbの乾物重は単播区Ggより低く推移し、PbとGgを合わせた乾物重はPbの混播割合の高いものほど低い値となった。AM菌の菌根形成は8月中旬以降PbおよびGg共に認められ、生育の進行に伴い菌根形成率は増加した。混播区の菌根形成率はPbおよびGg共に同様の値を示し、草種による差は認められなかった。最終調査時の地上部CP含有率はPbがGgより有意( $p < 0.05$ )に高く、混播区ではPbの混播割合の高いものほど高い値を示す傾向にあった。CP重は単播区Pbが単播区Ggより有意( $p < 0.05$ )に高く、混播区ではPbの混播割合の高いものほど単播区Ggより高い値を示す傾向にあった。

以上のことから、本研究の条件下ではGgにPbを混播することでGg単播区よりもCP含有率およびCP重を高める傾向を示すこと、菌根形成率には差が認められないことが明らかとなった。混播区では光競争によるPbの生育抑制が認められたため、組み合わせる草種、播種割合等今後さらに詳細な検討を行う必要性が示された。

##### (4) 暖地型マメ科牧草の生育初期段階における生育と根粒菌およびAM菌の関係

ポット試験

-1

両草種とも播種後44日目以降において、+AM区および-AM区の間には菌根形成率の有意差( $p < 0.05$ )が認められたが、菌根形成率に草種間の差は認められなかった。全乾物重はPbと比較してSiで高く推移し、両草種とも+AM区では、-AM区よりも播種後35-44日目に生育が抑制さ

れる傾向が認められたことを確認した。

以上のことから、AM 菌接種により初期生育が一時的に抑制されることが明らかとなった。Pb および Si の生育初期のこの期間においては通常の生育に利用される炭素源が菌根形成のために使われていると推察した。

-2

Pb では播種後 22 日目に根粒および菌根形成が認められ、播種後 34 日目では根粒数の増加とともに菌根形成率の減少傾向を示したことから、初期生育では根粒形成が優先されると考えられた。Si では播種後 22 日目に根粒形成が認められるとともに-AM 区において-R 区より+R 区の茎部乾物重が有意に低くなり、播種後 34 日目にはその有意差が認められなかったことから、根粒形成の初期段階においては宿主植物の初期生育に負の影響を及ぼし、根粒形成の進行とともに影響は小さくなると考えられた。

以上のことから、Pb および Si では初期の根粒・菌根形成段階において宿主植物に負の影響を与え、根粒・菌根形成が進むとともに負の影響は小さくなり、共生関係に移っていくと考えられた。また、宿主植物の初期成長において菌根形成よりも根粒形成が優先されることが示唆された。

#### 種子成長袋による試験

-1

根粒は処理 2 週間目にはわずかに確認され、4 および 5 週間では、粒径の大きな根粒が確認できたが、菌根形成はすべての+AM 区で確認することができなかった。根長は 4 週間目に-R-AM 区が他区より有意に長かったが、各部位の乾物重および個体合計乾物重では、すべての処理間に差が確認できなかった。

本研究の条件下では根粒菌・AM 菌の接種は Pb の根長などの生長の過程に一時的に影響を与えたが、乾物重に影響を与えなかった。また、根粒・菌根の形成時期を比較すると、根粒の形成の方が菌根形成よりも早いと考えられた。

-2

根粒は処理 8 日目に確認され、菌根形成は処理 28 日目に確認された。処理 21 日目および 28 日目に+AM 区で地上部生長の抑制傾向が認められた。

本研究の条件下では根粒菌・AM 菌の接種は Pb の生長の過程に一時的に影響を与えたが、乾物重に影響を与えなかった。また、根粒・菌根の形成時期を比較すると、根粒の形成の方が菌根形成よりも早いことが明らかとなった。

以上のことから、以下の様なことが示された。

関係者への聞き取り調査を行った結果、沖縄本島および石垣島の一部の草地の外縁部および草地近傍の道端等におよ 20-30 年前に導入されたマメ科草種（サイラトロなど）が存在し、現在、草地での利用はほとんど見られないことが明らかとなった。

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た。2 年間 2 カ所の圃場試験の結果、Pb, Cow, Aj 等の生産性が高く、南九州地域で 1 年生草種として栽培利用可能な草種と示唆された。

圃場における混播栽培において、Gg に Pb または Si を混播することで Gg 単播区よりも DMY, CP 含有率および CPY を高める傾向を示すことが明らかとなった。特に Pb と Gg の組合せでは  $0.7 : 0.3 \text{ g/m}^2$ , Si と Gg の組合せでは  $0.6 : 0.4 \text{ g/m}^2$  が最もマメ科牧草との混播効果を高められることが示された。またポット試験において、混播時の Pb と Gg の菌根形成率には差が認められないことが明らかとなった。混播区では光競争による Pb の生育抑制が認められたため、組み合わせる草種、播種割合等今後さらに詳細な検討を行う必要性が示された。

Pb および Si の生育初期段階における根粒形成および AM 菌の菌根形成時には、生長の過程に一時的な負の影響を与えることが示され、植物の生長、根粒形成および菌根形成への炭素源の分配によるものと示唆された。本研究の条件下では、根粒と菌根の形成時期を比較すると、根粒の形成の方が菌根形成より優先されることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 飛佐 学・角木千裕・井戸田幸子
2. 発表標題 アーバスキュラー菌根菌の接種が暖地型マメ科牧草ファジービーンおよびサイラトロの初期生育に及ぼす影響
3. 学会等名 日本草地学会2023年北海道大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 飛佐 学・井上 杏・井戸田幸子
2. 発表標題 暖地型マメ科牧草・イネ科牧草混播栽培時の生育とアーバスキュラー菌根菌の菌根形成
3. 学会等名 日本草地学会2022年度岩手大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡 晃也・飛佐 学・井戸田幸子
2. 発表標題 南九州地域における暖地型マメ科牧草を利用した混播栽培の検討
3. 学会等名 日本草地学会2021年新潟大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飛佐 学・鶴木実花子・武井恒介・井戸田幸子
2. 発表標題 南九州地域における数種暖地型マメ科牧草の生産性ならびにネコブセンチュウ被害
3. 学会等名 日本草地学会2020年静岡大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飛佐 学・木村百音・井戸田幸子
2. 発表標題 南九州地域における数種暖地型マメ科牧草の生産性の検討
3. 学会等名 日本草地学会2019年広島大会
4. 発表年 2019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