

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：15201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24658018

研究課題名(和文)部分接木サツマイモの増収未知機作の解明

研究課題名(英文) Analysis of unknown mechanism for increased biomass production in partially grafted sweet potato (*Ipomoea batatas*).

研究代表者

足立 文彦 (ADACHI, Fumihiko)

島根大学・生物資源科学部・助教

研究者番号：10335549

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：低収なサツマイモ台木の茎葉を残したまま、その茎の先端に異なる株を穂木として接木(部分接木)すると、台木品種同士を接木した場合と比較して生育が大きく促進される場合がある。この部分接木による増収は、穂木植物体に内生するエンテロバクター属の細菌による窒素固定量の増大が原因の一つであったが、50mg/L以上の培地窒素濃度条件下では微生物が産生するオーキシンなどの窒素以外の要因が生育促進に作用している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Low-yielding sweet potato rootstock plant grafted to the main stem with a scion from different sweet potato plant sometime significantly increase the growth compared to a graft between the rootstock plant. One of the reason why the partially grafted plant increased biomass production would have been that biologically fixed nitrogen was increased by endophytic bacteria (*Enterobacter*) living in the scion. It however seemed that the other factor such as auxin produced by microorganism could affect promoting the growth over than 50mg/L medium nitrogen concentration conditions.

研究分野：作物生産生態学

キーワード：サツマイモ 接木 生物的窒素固定 エンドファイト 内生菌 接種 穂木 窒素収支

1. 研究開始当初の背景

(1) サツマイモ数品種を穂木と台木として相互に部分接木すると、同じ品種同士を接木した場合よりも、収穫期のバイオマス重が最大で4割増加することを見いだした(足立ら2013)。このバイオマス生産の促進は、穂木により台木の葉面積増加に違いが生じたことが主な原因であった。一方、促進効果の高い品種を穂木とした場合、その台木の葉身光合成が増加した。葉面積展開と光合成の両者の促進には高い植物体内窒素状態が不可欠である。しかしながら、穂木の違いは根量に影響を与えていなかった。一方、この実験は少施肥量かつ根域を制限した条件で実施された。これら理由から、穂木が土壌からの窒素吸収量を増加させたのではなく、別の窒素供給源、すなわち内生細菌(エンドファイト)による窒素固定量の増大がその原因として強く疑われた。

(2) エンドファイトは植物体内に共生する細菌である。サツマイモには窒素固定エンドファイトが内生し、窒素栄養に対する窒素固定の貢献は4割に及ぶとされる(Yoneyamaら1998)。Terakadoら(2008)は、サツマイモ体内には根粒菌の他、難培養性菌を含む複数の窒素固定細菌が生息し、菌種には品種間差が存在することを明らかにしている。

2. 研究の目的

(1) 低収なサツマイモ品種台木の茎葉を残したまま、その主茎の先端に異なる品種を穂木として接木(部分接木)すると、台木品種同士を接木した場合と比較してバイオマス生産を促進する穂木がある。本研究では、部分接木による未知の増収機作が、穂木のエンドファイトの台木への侵入感染による窒素固定量の増大が原因ではないかと仮説し、無菌穂木による促進阻害、窒素固定寄与率の定量、微生物群集構造解析と菌種同定によりこれを立証する。

3. 研究の方法

(1) 茎頂培養によるメリクロン苗(無菌苗)を台木として、穂木に無菌苗を接ぐ場合と、普通苗(無菌処理をせず内生菌を含むと予想される)を接ぐ場合で、接木体の物質生産の促進程度を窒素収支とともに比較することで、内生菌の有無が接木サツマイモの成長促進要因となるかどうかを明らかにした。「高系14号」、「紅赤」、「べにはるか」を穂木として用いた。穂木は一般の種苗業者から購入した普通苗と、メリクロン栽培による無菌苗をそれぞれの品種について準備し、「高系14号」の無菌苗の台木に割接ぎした。2012年7月13日にパーミキュライトを詰めたザルに移植した。ザルはガラス温室内に置いたプラスチックボックスの中に設置し、1/4濃度園試処方第二例水耕液により栽培した。水耕液の窒素収支を求めるために、約7日間隔の水耕

液の交換時に採水を行った。移植72日後に抜き取り調査を行い、部位別バイオマス重と部位別窒素含量を測定し、15N(重窒素)自然存在比法により窒素固定寄与率を求めた。なお、それぞれの台木から伸びた蔓の先端1mを切り取り水耕液で管理した。その中から、「紅赤」と「べにはるか」について、茎先端から生重10gを採取してアセチレン還元活性(ARA)を測定した。さらに、それぞれの台木分枝を無菌高系台木に接木し人工気象室内で栽培し継代検定した。

(2) 4品種の挿穂を埼玉県、鹿児島県、宮崎県、長崎県の4苗生産者からそれぞれ求め準備した。2013年と14年の2年間について、栽植密度2.5株 m^{-2} で同じ節数となるように挿穂を調整後に挿苗した。抜き取り調査を行い、部位別バイオマス重と窒素含量を測定し、重窒素存在比を求めた。また、栽植状態の植物体から部位毎に試料を採取しARAを求めた。

(3) 「ベニアズマ」と「べにはるか」について落葉堆肥で育苗する埼玉県の生産者の普通苗と無菌苗を準備し、無菌苗の「高系14号」台木に割接ぎした。2014年7月3日にガラス温室に置いた樹脂容器の中の網鉢に移植した。1/4(64.4N mgL^{-1})、1/8(33.2)、1/16(16.3)濃度の3段階の窒素濃度に設定した水耕液で栽培した(P_2O_5 , K_2O は1/4にあわせた)。移植53日後の部位別バイオマス重と植物体窒素含量、窒素収支、窒素固定寄与率を求めた。

4. 研究成果

(1) 全乾物重、水耕液からの窒素吸収量、植物体窒素含量は普通穂木を接いだ個体が無菌よりも有意に多かった、品種間では紅赤が多かった。窒素吸収量と植物体全窒素含量との関係性を求め、近似線の傾きで比較すると、普通紅赤が無菌3品種よりも8.26%傾きが大きかった。窒素固定寄与率は有意に普通穂木が高かった。

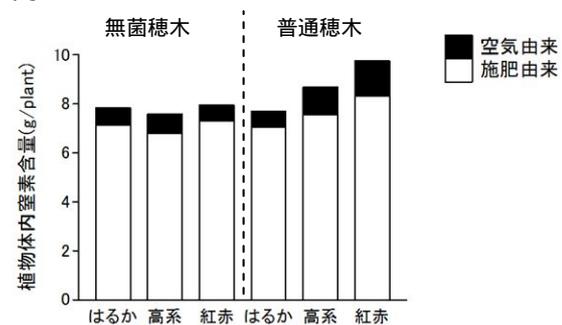


図1. 施肥由来窒素と窒素固定由来窒素。

施肥由来窒素量と空気由来窒素(窒素固定)量を求めると、窒素固定量が多い区は施肥由来窒素量も多く、成長の増進によって窒素吸収が促進されたとみなされた(図1)。窒素吸収量と窒素固定量との関係から、普通紅赤に

おける水耕液以外の窒素供給源は窒素固定とみなされた。同様に、普通紅赤の ARA は約 3000 程度の活性を示すのに対し、それ以外では活性を示さなかった。このことから、普通紅赤の生体中の内生菌が窒素固定に関与したものと示唆された。継代検定において、普通紅赤の乾物増加量は有意に高く、先代の台木に由来する窒素固定菌が接木によって無菌台木に接種できることが確認できた。普通紅赤の接木体と普通紅赤の挿苗体の蔓の先端の茎葉 5g の破碎液から、それぞれ 1g あたり 4×10^5 と 5×10^4 の菌密度が測定された。この破碎液からは、それぞれ *Curtobacterium* sp. と *Pantoea* sp. が分離された。*Pantoea* sp. は窒素固定能があるが、一般細菌との共存培養を行った場合に強い活性を示すことが明らかにされている (安達と Asis 2002)。すなわち、一般細菌と共存させた条件下に限って活性を示す難培養性の菌であることから、接木は一般的な接種法では効果の低い内生菌を一般細菌とともに効率的に接種できる方法に発展する可能性がある。

(2) 2012 年の実験では、普通穂木を接木した場合でも促進効果が見られない穂木があり、茎端で測定した ARA には大きなばらつきがあった。すなわち、窒素固定能力は穂木の生産者、品種やサツマイモの部位によって大きく異なる可能性がある。そこで、同一品種で苗の生産者を変えた場合の物質生産量と部位別に求めた ARA を比較した。その結果、収穫期の全重と ARA は、概ね埼玉が大きい傾向にあり、同一品種であっても苗の生産者の違いによって収穫期の物質生産量に違いが生じることが分かった。埼玉の苗生産者では、冬期に近隣の里山から広葉樹の落葉を集め、落葉堆肥と混和してさらに堆肥化し、種イモの伏込みに利用していた。共生微生物の供給源とされる落葉を連年使用している堆肥に毎年加えることで共生細菌の密度が高まっていた可能性があり、落葉を適切に利用することで窒素固定細菌を豊富に含む苗の生産方法を構築できるものと考えられた。一方、ARA を部位別に見ると、根が最も高く、次いで塊根や茎 (地下部) であった。地上部の茎葉にはほとんど ARA が認められなかった。根量によって重み付けした窒素固定速度と全重との関係を求めると、両者の間には飽和的な曲線関係が認められた。すなわち、窒素施肥を行っていない貧土壤栄養条件では窒素固定量によって全重が律速されていた。従って、同品種でも苗の生産者によって育苗段階で苗に含まれる微生物が異なり、物質生産に差が生じたものと示唆される。生育促進に優れる穂木を得るには、苗の育苗用土と穂木の採取位置に留意する必要がある。

(3) 部分接木の生育促進効果が窒素施肥条件によって影響されるのかを明らかにする

ため 3 段階の窒素条件で水耕栽培を行うと、全乾物重と総葉面積において、1/4 濃度では普通穂木を接いだ接木体が無菌より高かった。1/8, 1/16 濃度では、いずれの品種も無菌が普通より高かった。1/8 と 1/16 濃度では施肥窒素量 + 窒素固定量が窒素吸収量を上回り、窒素固定により植物体窒素含量が増加していた。そこで、窒素固定寄与率を比較すると 1/8 濃度で最も高く、培地窒素濃度によって窒素固定寄与率が変化した。すなわち、過度の高・低窒素条件では窒素固定が向上しないため、適切な施肥量が重要であることがわかった。各窒素濃度における普通穂木接木体の、無菌穂木接木体に対する接木効果を評価するために、全体の促進率 (普通接木体の全重 ÷ 無菌接木体の全重) ならび窒素による促進率 (普通接木体の窒素含量 ÷ 無菌接木体の窒素含量) と培地全窒素濃度との関係を求めると、両者の間には正の直線関係があった。一方、植物体窒素含量比では、特に「べにはるか」で培地窒素濃度が上昇しても窒素による促進率が増加しなかった。すなわち、普通穂木の生育促進には窒素以外の未知要因が関与していることが明らかになった。そこで、窒素以外の要因による促進率を窒素利用効率比 (普通接木体の窒素利用効率 ÷ 無菌接木体の窒素利用効率) とすると、窒素利用効率比は培地全窒素濃度と密接な正の直線関係にあり、普通穂木は、約 50mgL^{-1} 以上の高窒素条件で窒素以外の要因が主として生育を促進した (図 2)。窒素固定以外の生育促進要因として、オーキシシン (IAA) が考えられる。従来、多くの植物生育促進根圏微生物が IAA を産生し、植物形態の変化を含めて生育促進を行うことが明らかにされつつある。本研究期間内には、IAA を産生するエンドファイトを分離することはできなかったが、普通穂木を接木した場合に、茎直径、分枝数、葉数と葉面積が増加することを観察しており、培地の窒素条件によっては、接木による窒素固定能力の付与に加えて IAA による根系や生産構造の変化が部分接木の生育促進要因の大きな部分を占める可能性がある。今後は、穂木由来の IAA 産生微生物が接木体に及ぼす影響を培地窒素条件との関係と同時に明らかにする必要がある。

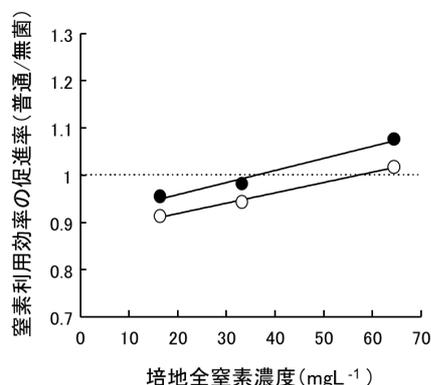


図 2. 培地窒素濃度条件による窒素以外の要因による生育促進。(●: ペニアズマ, ○: べにはるか)

<引用文献>

足立文彦・宇田明日香・門脇正行・井藤和人．
2013. 部分接木によるサツマイモ物質生産
の促進．日本作物学会紀事 82(2):172-173.

安達克己・Constancio A. Asis, Jr . 2002 . サ
ツマイモ茎中からの窒素固定細菌 *Pantoea*
agglomerans の分離と共存培養による窒素
固定活性の向上効果．九州沖縄研究センター
<http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/laboratory/karc/2002/konarc02-59.html>

Terakado J , Y.Ohwaki , H.Yamakawa ,
F.Tanaka , T.Yoneyama , S.Fujihara
2008 . Expressed nifH Genes of Endophytic
Bacteria Detected in Field - Grown Sweet
Potatos (*Ipomoea Batatas* L.) . *Microbes*
Environ. Vol.23,No.1 : 89-93

Yoneyama T ,J.Terakado ,T.Masuda 1998 .
Natural abundance of 15N in sweet potato,
pumpkin, sorghum and castor bean:
possible input of N₂-derived nitrogen in
sweet potato . *Biol Fertil Soils* 26 : 152-154

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

足立文彦・塩飽 司・大橋慶輔・安田 登・
門脇正行・井藤和人，挿し穂の生産者の違い
がサツマイモの物質生産に及ぼす影響，日本
作物学会第239回講演会，2015年3月27
日，日本大学生物資源科学部湘南キャンパス
(神奈川県藤沢市)。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称： サツマイモの栽培方法
発明者：足立文彦・井藤和人・門脇正行
権利者：国立大学法人 島根大学
種類：特許
番号：特願2013-169312
出願年月日：2013年8月18日
国内外の別： 国内

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.shimane-u.ac.jp/announce/files/
PDF_seisi/seisi61.pdf](http://www.shimane-u.ac.jp/announce/files/PDF_seisi/seisi61.pdf)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

足立 文彦 (ADACHI, Fumihiko)
島根大学・生物資源科学部・助教
研究者番号：10335549

(2)研究分担者

井藤 和人 (ITO, Kazuhito)
島根大学・生物資源科学部・教授
研究者番号：20273922

(3)連携研究者

江角 智也 (ESUMI, Tomoya)
島根大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号：30548764

松本 真悟 (MATSUMOTO, Shingo)
島根大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号：00346371

巢山 弘介 (SUYAMA, Kousuke)
島根大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号：70284023