

## 論文審査の結果の要旨

氏名：立 脇 祐 哉

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：土壌微生物的観点からみた耕起栽培によるトウモロコシの収量向上要因の解明

審査委員：（主査） 教授 磯部勝孝

（副査） 教授 立石 亮

教授 倉内伸幸

教授 飛田 哲

飼料用トウモロコシは単位面積当たりの穀物収量が優れており、栄養価も非常に高い。このようなことから、国内での生産拡大に対する期待が高まっている。しかし、飼料用トウモロコシの栽培には多量の施肥が必要であることから、コスト面で負担になりやすい。一方、我が国で広く分布する黒ボク土は、施用したリン酸が土壌に固定されやすい。従って、これまでの作物栽培では多量のリン酸肥料が施肥されてきた。ただし、リン酸肥料の原料はほぼ 100%、輸入に頼っており国際情勢の影響や価格高騰の影響を受けやすい。加えて今後数百年以内にリン鉱石の枯渇が懸念されている。これらのことから、土壌中に埋没する未利用なリン資源を利用できるようにすることは社会的にも重要な意義を持っている。従来作物のリン酸吸収量を高めるために一般的に栽培技術のひとつとして行われてきたのが土壌の耕起、耕耘である。耕起や耕耘によって根の伸長促進や根量を増大させることはリン酸吸収を促進させるために重要といえる。さらに近年、耕起、耕耘は土壌微生物にも影響を与えることが多数報告されている。しかし、これまでに耕起、耕耘によって作物のリン酸吸収や生育が改善された要因を土壌微生物の観点から明らかにした研究事例は少ない。そこで本研究では黒ボク土条件下においてロータリー耕起をした時にトウモロコシの生育、収量、リン吸収が変化する要因を土壌中の AM 菌やリン溶解菌などの土壌微生物群の観点から明らかにすることを目的とした。

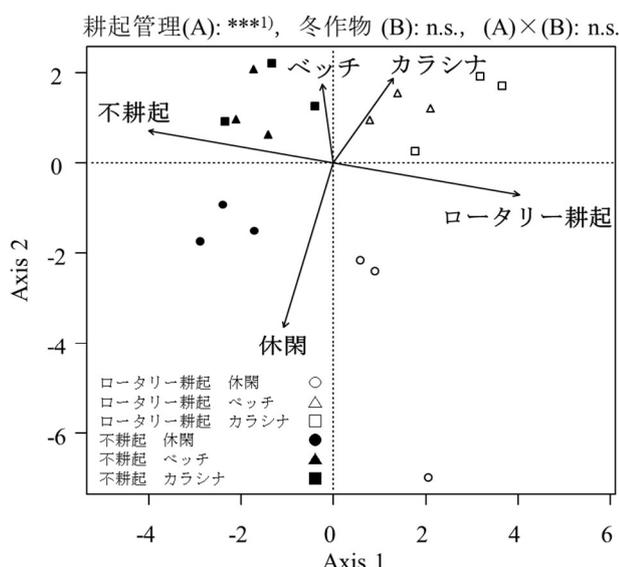
1) 本試験はロータリー耕起区と不耕起区を設け、トウモロコシ (*Zea mays* L., 品種:P1690) をリン肥料無施用条件で 2 ヶ年栽培した。地上部の刈取りを栄養成長期と絹糸抽出期に行い、地上部のリン吸収量と生育状況を調査した。その後、成熟期に子実重および地上部乾物重を測定した。ロータリー耕起の有無による飼料用トウモロコシの生育

第1表 耕起管理が飼料用トウモロコシの生育、収量に及ぼす影響。

栽培年次	耕起管理	リン酸吸収量 (mg/m <sup>2</sup> )		子実重 (g/m <sup>2</sup> )
		栄養成長期	絹糸抽出期	
2019	ロータリー耕起	232.2 ± 19.6	1013.9 ± 50.8	698.3 ± 46.2
	不耕起	115.5 ± 14.1	709.4 ± 150.8	541.3 ± 36.7
2020	ロータリー耕起	277.1 ± 21.0	1326.3 ± 40.6	592.6 ± 23.3
	不耕起	123.5 ± 5.5	832.2 ± 150.3	577.5 ± 23.5
年次	2019	173.9 ± 28.2	861.7 ± 98.5	619.8 ± 43.9
	2020	200.3 ± 35.7	1079.3 ± 130.6	585.0 ± 15.2
耕起管理	ロータリー耕起	254.7 ± 16.3	1170.1 ± 75.7	645.5 ± 33.1
	不耕起	119.5 ± 7.0	770.8 ± 99.1	559.4 ± 21.1
分散分析	年次(A)	n.s.	n.s.	n.s.
	耕起管理(B)	***	**	*
	(A)×(B)	n.s.	n.s.	n.s.

に及ぼす影響を調査した結果、栄養成長期、絹糸抽出期の草丈や茎葉乾物重、成熟期の子実重や地上部乾物重は不耕起区に比べロータリー耕起区でより高かった。さらに、飼料用トウモロコシのリン酸吸収量もロータリー耕起区でより高かった(第1表)。土壌の貫入抵抗値はロータリー耕起区で低くなり、栄養成長期の根長密度や根重はロータリー耕起区で高かったが、絹糸抽出期ではロータリー耕起の有無で差がなかった。これらのことから、ロータリー耕起によって飼料用トウモロコシの生育、収量やリン酸吸収量が向上したのは根の伸長拡大が要因の一つであると考えられた。

2) 根内に感染する AM 菌がリン酸吸収を促進させる働きを持つことから AM 菌の感染率や群集構造に関して調査を行った。飼料用トウモロコシ根における AM 菌感染率や DGGE バンド数, OTU 数を調査したところロータリー耕起の有無で差がなかった。しかし、ロータリー耕起区のみで特異的に検出される AM 菌の DGGE バンド数や OTU 数は不耕起区のみで特異的に検出される AM 菌の DGGE バンド数や OTU 数より多くなる傾向を示した。次に AM 菌種の構成の違いを調査したところ PCR-DGGE 解析, アンプリコンシーケンス解析ともにロータリー耕起の有無で AM 菌の群集構造が異なることが示された(第1図)。飼料用トウモロコシ根の



第1図 アンプリコンシーケンス解析に基づく、耕起管理が飼料用トウモロコシ根のAM菌群集構造に及ぼす影響の冗長性分析 (RDA: 2018)。

AM 菌の相対出現頻度を調査したところ、ロータリー耕起区では *Acaulosporaceae* の優占率が高くなり、不耕起区では *Glomeraceae* の優占率が高かった。以上のことから、耕起の有無での飼料用トウモロコシのリン酸吸収量の違いには根に優占的に感染する AM 菌の科の違いが影響を及ぼした可能性が示唆された。

3) ロータリー耕起の有無による根に感染する AM 菌種の構成の変化とそれに伴うトウモロコシのリン酸吸収量の関係を調べるために、AM 菌の ASV 相対出現頻度を属レベルで調査したところ、いずれの生育ステージにおいてもロータリー耕起に

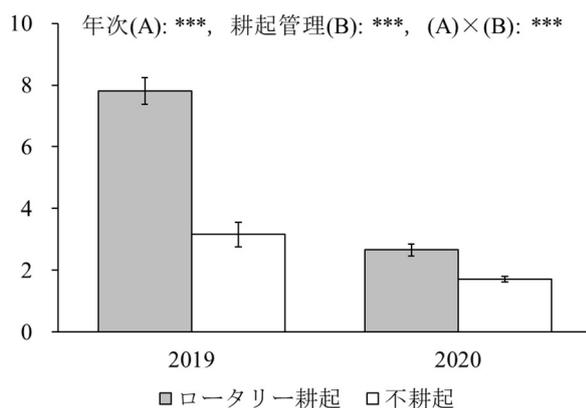
第2表 AM菌接種株の違いが飼料用トウモロコシの生育及び茎葉リン酸濃度に及ぼす影響。

処理区	AM菌感染率 (%)	茎葉乾物重 (g/plant)	茎葉リン酸濃度 (mg/g)
対照区	—	0.75 ± 0.03	0.68 ± 0.00
<i>Acaulospora</i> 属 AP-5	4.97 ± 3.27 <sup>1)</sup> a <sup>2)</sup>	0.99 ± 0.11 n.s. <sup>3)</sup>	1.23 ± 0.24 n.s.
<i>Acaulospora</i> 属 F-1	0.15 ± 0.15 a	0.87 ± 0.04 n.s.	0.88 ± 0.13 n.s.
<i>Racocetra</i> 属 TK-1	2.88 ± 1.57 a	0.75 ± 0.07 n.s.	1.54 ± 0.18 **
<i>Racocetra</i> 属 SZ-3	5.52 ± 2.34 a	0.89 ± 0.07 n.s.	1.52 ± 0.05 **

よって *Racocetra* 属の優占率が高くなり、不耕起では絹糸抽出期で *Acaulospora* 属の優占率が高かった。また、*Racocetra* 属と *Acaulospora* 属の各 2 株を接種したポット試験を行い、飼料用トウモロコシの生育やリン酸濃度を比較した。茎葉のリン酸濃度は対照区に比べ *Racocetra* 属の接種で高くなった(第2表)。これらの結果から、ロータリー耕起によって根に感染する AM 菌の種構成が変化し、*Racocetra* 属をはじめとするリン酸の吸収能の高い AM 菌が感染するようになったこと

が、飼料用トウモロコシのリン酸吸収や生育、収量を向上させた要因であることが示唆された。

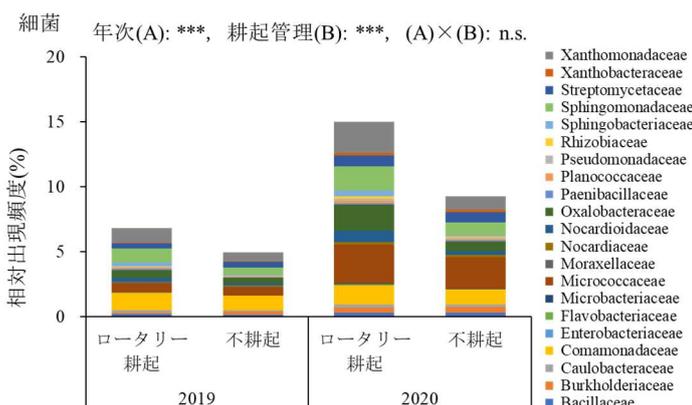
4) ロータリー耕起が土壌の理化学性に及ぼす影響を調査した。硝酸態窒素含有量は不耕起区で高くなり、交換性カリウム含有量はロータリー耕起の有無で差がなかった。一方、トルオーグリン酸含有量はロータリー耕起区で高くなった(第2図)。このことから、AM菌感染によるリン酸吸収促進以外に、ロータリー耕起によってトウモロコシのリン酸吸収量が高くなった原因のひとつに、トルオーグリン酸含有量の向上が考えられた。土壌のトルオーグリン酸が高くなった要因としては土壌ホスファターゼの関与が考えられたが、ロータリー耕起によって土壌のホスファターゼ活性に変化はなかった。



第2図 耕起管理が土壌中のトルオーグリン酸含有量に及ぼす影響。

さらに、試験を行った圃場の形態別無機態リン酸の割合を調査した結果、供試圃場ではアルミニウム型リン酸および鉄型リン酸が優占していることが明らかとなった。このことからアルミニウム型リン酸や鉄型リン酸を溶解する菌がロータリー耕起によって増加した可能性が示唆された。

5) ロータリー耕起による難溶性リン酸溶解菌の消長について検討した。カルシウム型リン酸を溶解する菌数はロータリー耕起によって高くなったが、アルミニウム型リン酸及び鉄型リン酸を溶解する菌数はロータリー耕起の有無で差がなかった。さらに、カルシウム型リン酸、アルミニウム型リン酸、鉄型リン酸の溶解量もロータリー耕起の有無で差がなかった。アンプリコンシーケンス解析を用いて土壌中のリン酸溶解菌の相対出現頻度を調査したところ、細菌の科レベルにおいてロータリー耕起でリン酸溶解菌の相対出現頻度が高くなった(第3図)。そのうち、*Bacillaceae*, *Paenibacillaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Streptomycetaceae* はアルミニウム型リン酸および鉄型リン酸を溶解し、*Sphingomonadaceae* はアルミニウム型リン酸のみ溶解することが明らかにされていることからロータリー耕起をした区では細菌の中でもアルミニウム型リン酸および鉄型リン酸に対する溶解菌が増え土壌中の可給態リン酸を向上させた可能性が示唆された。



第3図 耕起管理が土壌中のリン酸溶解菌相対出現頻度(科)に及ぼす影響。

以上、ロータリー耕起をした際に飼料用トウモロコシのリン酸吸収量や生育、収量が向上した要因として根の伸長促進以外に土壌中の微生物相の変化が寄与している可能性が示唆された。一つはロータリー耕起によって根内に *Racocetra* 属の AM 菌が優占し、飼料用トウモロコシのリン酸吸収を促進した可能性である。もう一つは、ロータリー耕起によって土壌中のリン酸溶解菌出現頻度が高まり、土壌の可給態リン酸含有量を増加させた可能性である。これらの菌種を増殖させ

ることができれば、リン酸の施肥量を削減しても安定した飼料用トウモロコシの収量が期待できる。さらに、本研究で得られた知見は AM 菌やリン溶解菌を資材とした生物農薬などの開発の一助となり得る。ただし、AM 菌やリン溶解菌などの資材を外部から投入しても効果が発現されない例も多く、更なる知見の集積を要する。今後は明らかになった菌種を現場圃場に直接接種し、効果が得られることを確認する必要がある。また、2015 年に開催された国連サミットで、持続可能な開発目標：SDGs における 17 のゴールが掲げられた。そのうち目標 2 は飢餓を終わらせ、食料安全保障及び栄養の改善を実現し、持続可能な農業を促進することをゴールに位置付けている。目標 15 は陸域生態系の保護、回復、持続可能な利用の推進、持続可能な森林の経営、砂漠化への対処ならびに土地の劣化の阻止・回復及び生物多様性の損失を阻止することをゴールに位置付けている。本研究における知見は上述した SDGs で掲げられた 2 つの課題解決に向けて貢献できると考える。よって本論文は、博士（生物資源科学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 5 年 10 月 12 日