

# 植物栄養学教育研究分野における教育と研究の説明

植物栄養学、土壌肥科学、無機・有機化学、分析化学、植物生化学・植物分子生物学 として、植物学、植物生理学、微生物学等の生物学の技術・知識を用いて植物の栄養生理に関する植物科学の先端研究を行っています。

## 1. 研究室教員の担当講義

### ①農学部

植物の養分吸収の原理の理解・・・有馬教授の「植物栄養学」  
バイオマスエネルギーの農業や他産業への有効利用・・・有馬教授等の「バイオマスエネルギー論」

根粒菌等に関する土壌微生物の理解・・・横山助教授の「農業微生物学」  
養分循環・施肥法の理論と技術・化学肥料と地球環境問題・化学肥料製造・微生物（バイオ）肥料の開発と実際等を総合的に学ぶ・・・有馬教授・横山助教授の「肥料科学」

本研究室での卒業研究を希望する学部の方は、生物生産学実験I,II,IIIは受講してください。

### ②農学府（大学院修士課程）

植物栄養学特論・・・有馬教授  
植物-微生物相互作用特論・・・横山助教授

### ③連合農学研究科（大学院博士課程）

不定期に担当します。

## 2. 研究室で行っている研究

### (大課題1)

**「マメと土壤微生物である根粒菌との相互作用」**

**キーワード：栄養共生・生物窒素固定・持続的な農業・エネルギー節約・地球環境保全**

## 背景

人の体を構成する元素のうち窒素は、地球上には不活性ガスとして存在している。1917年にハーバー・ボッシュが工業的なアンモニア固定技術を発明する以前は、その時代に生きていた全ての生物は、空中放電により固定されたアンモニアを除き、微生物による生物窒素固定でアンモニアに変換された窒素を利用し、核酸・アミノ酸・タンパク質等の生命分子を作り出していた。そのため、地球上を循環する生体窒素成分の総量が生物の総量を規定していた。しかし、1917年以降、人は自由にアンモニアを大気中から合成でき、作物生産を増大させ、急激な人工の増加を生じさせた。

ところで、地球に存在する化石エネルギーのうち、石油の経済性に基づく確認可採埋蔵量は10,512億バレル、年生産は272億バレル、可採年数は40年とされている。また、天然ガスの経済性に基づく確認可採埋蔵量は152兆立方メートル、年生産量は2.46兆立方メートルであり、可採年数は61年と推定されている。1トンのアンモニア態窒素の生産には約2,000立方メートルの天然ガスが必要であり、現在の農作物の生産量を維持するために毎年使用している約8,000万トンの窒素肥料の生産には1600億立方メートル（世界で1年に生産する天然ガスの約7%）の天然ガスが使われている。

**21世紀のエネルギー問題は農業と食料に直接的に影響を与えている。**

# 具体的には、どのようなことを目指しているのか

ダイズ生産には子実100kg採るためには少なくともアンモニア態窒素肥料が10kg使われている。全世界のダイズ子実収量は約1億8千万トンであり（FAO-STAT）、この収量の維持のためには1800万トンの化学窒素肥料（世界で1年に生産するアンモニア態窒素肥料の22%）が必要と予測され、毎年のダイズ子実生産量の維持のためには、施肥されるアンモニア肥料換算で最低でも360億立方メートルの天然ガス（世界で1年に生産する天然ガスの約1.5%、日本の1年間の消費量の半分（世界エネルギー統計））が消費されている。そこで、例えば、ダイズの共生機能を高めることで、子実収量の維持や増加が出来るなら、化学肥料使用の低減ができる。それは、天然ガス使用量の節約に結びつく。

## 実現には何をなすべきか

### 基礎研究

ダイズと根粒菌の共生成立のための相互作用

ダイズが持っている根粒の着生制御機構の解明

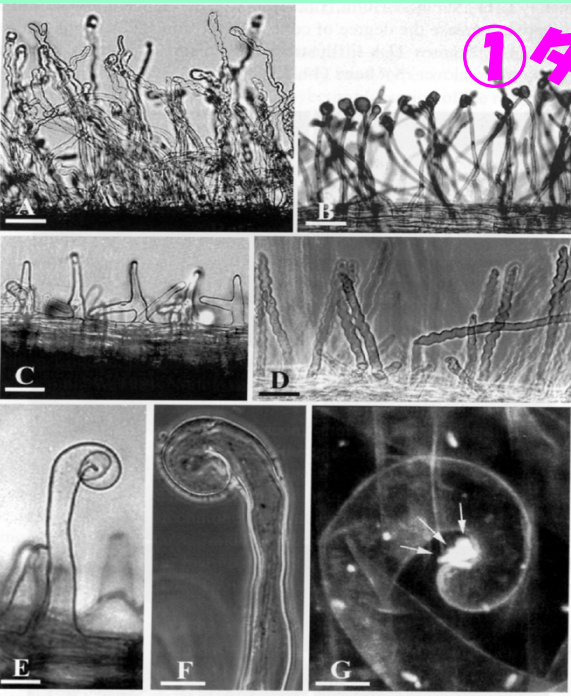
ダイズ根粒細胞の中で根粒菌がバクテロイドへ分化する機構の解明

### 応用技術開発

アジアに分布するBradyrhizobium属根粒菌の遺伝的特性解明と有効利用

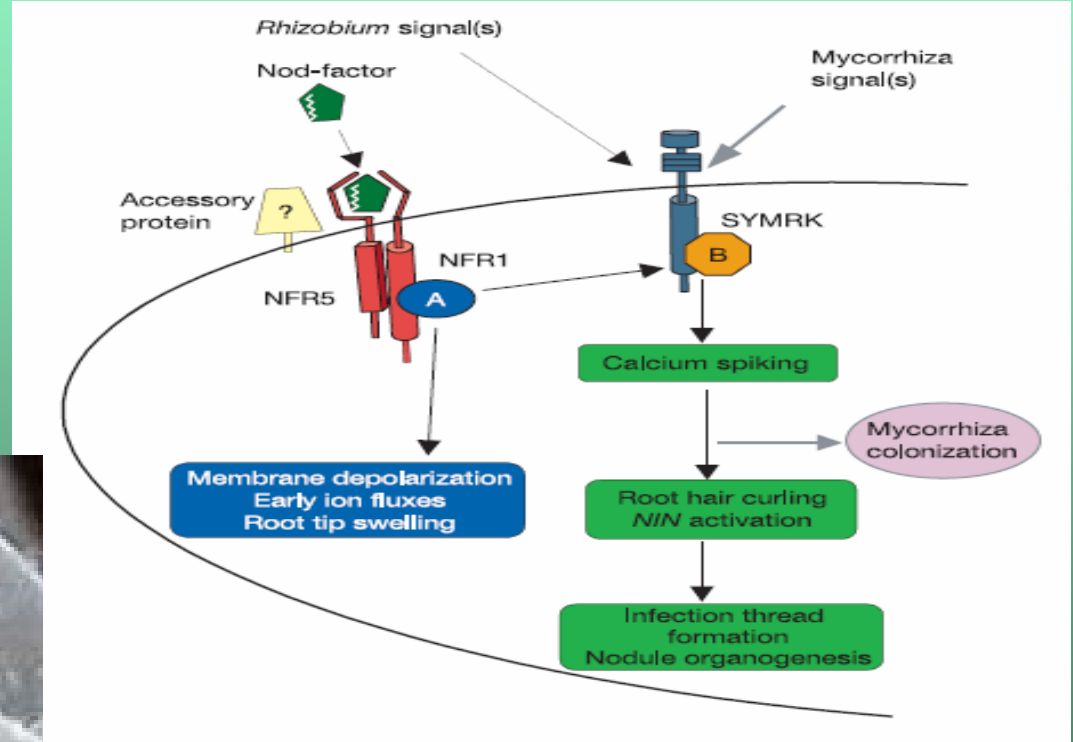
土壤中で優良根粒菌が効率的にダイズに根粒を形成する接種技術開発

# ①ダイスと根粒菌の共生成立のための相互作用



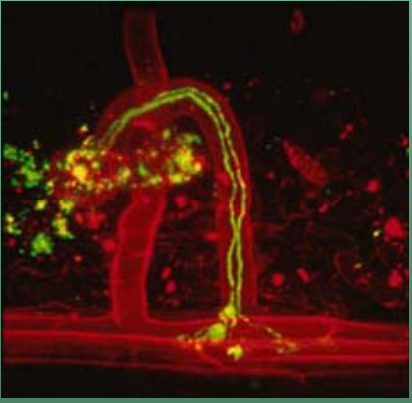
☆優良根粒菌が優先的に根粒を着生できるような育種法開発のための素材研究

研究テーマ例：栽培ダイス品種と野マメが保有するNod factorレセプター遺伝子の単離と分子構造の比較およびそれら遺伝子が共生成立に寄与する度合いの推定



根粒菌感染に対する根毛の応答  
Dazzo et al.

Nature



根粒菌の根毛への侵入  
Bisseling et al.



ダイス根毛上の根粒菌

☆ **ダイズ培養細胞系と発芽直後の根を用いた根粒形成初期過程の分子機構**  
**(根粒菌産生シグナル物質Nod factor に対する植物細胞の分子応答)**

**研究テーマ例**：ダイズ培養細胞およびダイズ根細胞にNod factorが誘導する遺伝子応答の比較解析

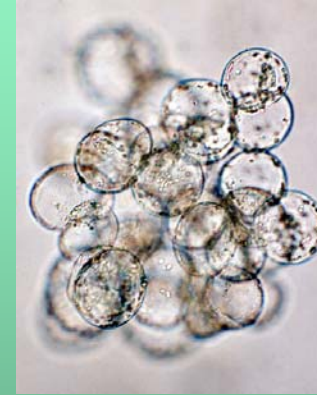
**研究テーマ例**：Nod factorによりダイズ培養細胞に誘導される転写抑制現象の原因タンパク質の特性解明



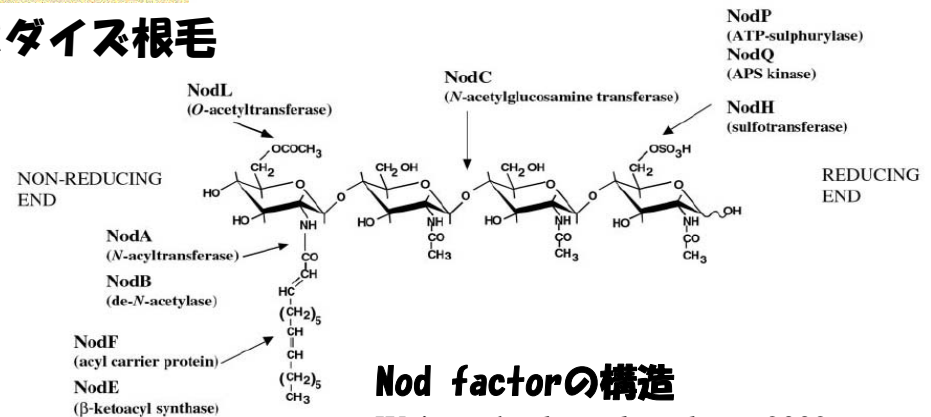
ダイズエンレイ



Nod factor投与により変形したダイズ根毛



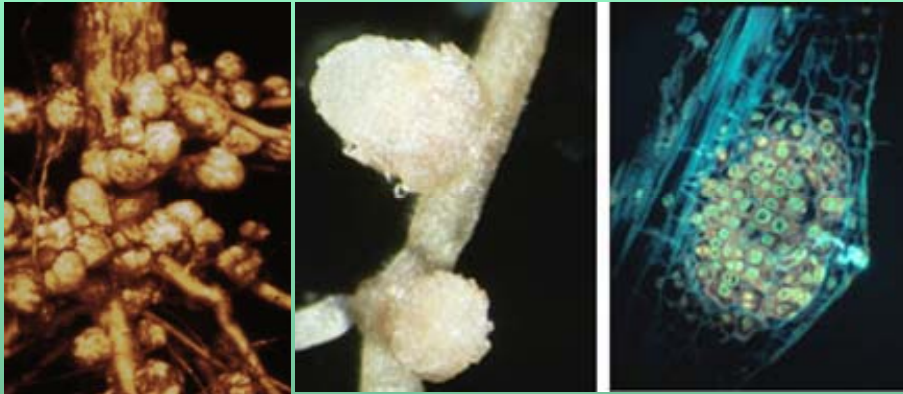
ダイズ培養細胞



Wais et al. *Plant Physiology*, 2002

## ②ダイズが持っている根粒の着生制御機構の解明

### ☆ダイズ根粒形成数の全体的制御機構の解明 (supernodulationに関するkey物質の探索)



ダイズ根粒

アルファルファ根粒

根粒内部

Kondrossi et al.

マメ科植物は根粒菌と共生して根粒を形成する。しかし、根粒菌を自由に感染させているわけではない。機構は不明であるが、根粒着生を全身的な機構で制御している。



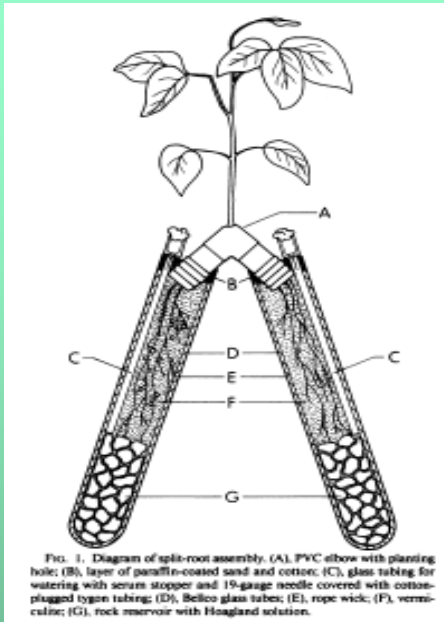
通常のダイズ



根粒超着生種  
(根粒菌の感染を制御できない)

その制御機構に関する遺伝子に突然変異が生じると左のように非常に多数の根粒が形成される。

# 根粒着生のシステミック制御に関する研究史



ダイズの根粒着生に関するシステミックなオートレギュレーションの研究はKosslak とBohloulの報告から開始された。彼らは、ダイズの根を分けて片側に根粒着生させると、もう片側には、根粒菌を接種しても根粒が形成されないことを初めて報告し、マメが根粒菌の感染を認識し、根粒着生数を制御していることを明らかにした (Plant Physiol., Vol.75, p125-130, 1984)。



通常のダイズ



根粒超着生種  
(根粒菌の感染を制御できない)

次に、GresshoffらがEMS存在下で突然変異を誘発させたダイズ種子から硝酸存在下で多数の根粒を形成する根粒超多着生突然変異体nts382を選抜し、この突然変異を材料に、宿主による根粒菌感染の制御機構の解明を開始した(Plant physiol., Vol.78 p34-40, 1985)。



Gresshoffらは、接ぎ木実験により、根粒超着生体を接ぎ穂にすると、根が野生株や突然変異体に関わりなく根粒超多着生形質を示した。一方、野生型を接ぎ穂にすると、根の根粒着生は野生型を示した。この結果から、マメの根粒着生数はマメの地上部の何らかの物質で制御されていることが分かった (Aust. J. Plant Physiol., Vol.14, p689-694, 1987)。

その後、米国で、HarperらがダイズWilliamsからNod1-3とよぶ根粒超多着生突然変異体を作成した(Plant Physiol., Vol.89, p169-173, 1989)。また、日本においては赤尾らがダイズ品種エンレイからEN6500という根粒超多着生突然変異体を作成した(J. Exp. Bot. Vol.44, p547-553, 1993)。この後、2002年に、川口らがミヤコグサから根粒超多着生変異体の原因遺伝子であるhar1をポジショナルクローニング法により単離した(Nature Vol.420, p426-429)。

一方、Gresshoffらも、ダイズよりnts382根粒超多着生変異体の原因遺伝子であるGmNARKを単離した(Science, Vol. 299, p109-12, 2003)。これら2種の遺伝子はセフターキナーゼであった。また、幾つかの化学物質を根粒超多着生変異体植物に葉面処理した結果、根粒の着生が野生型と同じレベルになったという報告が公表された (J. Plant Physiol., Vol.163, p497-505, 2006, Plant Cell Physiol. Vol. 47, p176-80, 2006)。しかし、これら外部投与物質がマメのオートレギュレーション機構の物質である証明はなされていない。そのため、マメが根粒菌感染制御に関して示すシステミックなオートレギュレーションに関する物質レベルでの応答機構は依然として不明である。



## 植物栄養研での関連研究

私どもの研究室では有馬教授が指導して、米国のHarper教授からダイズWilliamsから作成した根粒超多着生突然変異体Nod1-3を分譲していただき、ダイズの根粒着生に関するシステミックなオートレギュレーションの研究を開始した。研究の目的としては、オートレギュレーションの原因物質を捉えることである。まず、ダイズの葉身アポプラスト経由で篩管を通して一定量の溶液を根に到達させるバイオアッセイ系を考案検証し、葉身から根に任意の溶液を連続的に到達させることが可能になった（山谷ら 日本土壤肥科学雑誌 Vol.75, p685-691,2004）。

**研究テーマ例:**ダイズ根粒形成のSystemicな制御機構の解明

**研究テーマ例:**ダイズ葉産生物質による根粒着生抑制制御に関する研究

**研究テーマ例:**wildダイズ葉部における根粒着生制御物質の生産に対する根粒菌感染の関与について

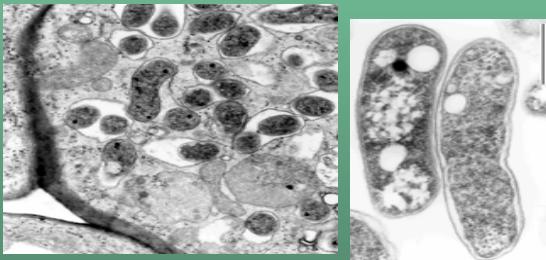
この実験系を用いて、野生株(Williams82 : Williamsに病害抵抗性を持たせた品種)の葉部抽出液を根粒超多着生突然変異体Nod1-3の葉身アポプラストに注入すると、Nod1-3の根の根粒超着生現象は消失することが確認された（Arima et al. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, Vol. 41, P187-188, Springer, Netherlands, ISBN-101-4020-3569-1, 2005）。

Key物質同定の一步手前まできている！！

### ③ ダイス根粒細胞の中で根粒菌がバクテロイドへ分化する機構の解明

#### バクテロイドとは？

感染系から根粒細胞の細胞質中に放出され、活発に窒素を固定している状態の根粒菌をバクテロイドとよぶ。バクテロイドは、ペリバクテロイド膜につつまれ、増殖を停止しており、培養状態の菌体とは、形態・生理状態とも大きく異なっている。無限伸育型根粒のバクテロイド（アルファルファ根粒菌など）の場合、形態はY字型や棍棒状に大きく変化し、多核化、再分裂能の著しい低下、細胞膜の選択透過性の喪失が観察される。有限伸育型（ミヤコグサ根粒菌など）では、培養菌体と比較して、再分裂能が低下しているものの、大きな形態変化は観察されないのが一般的である



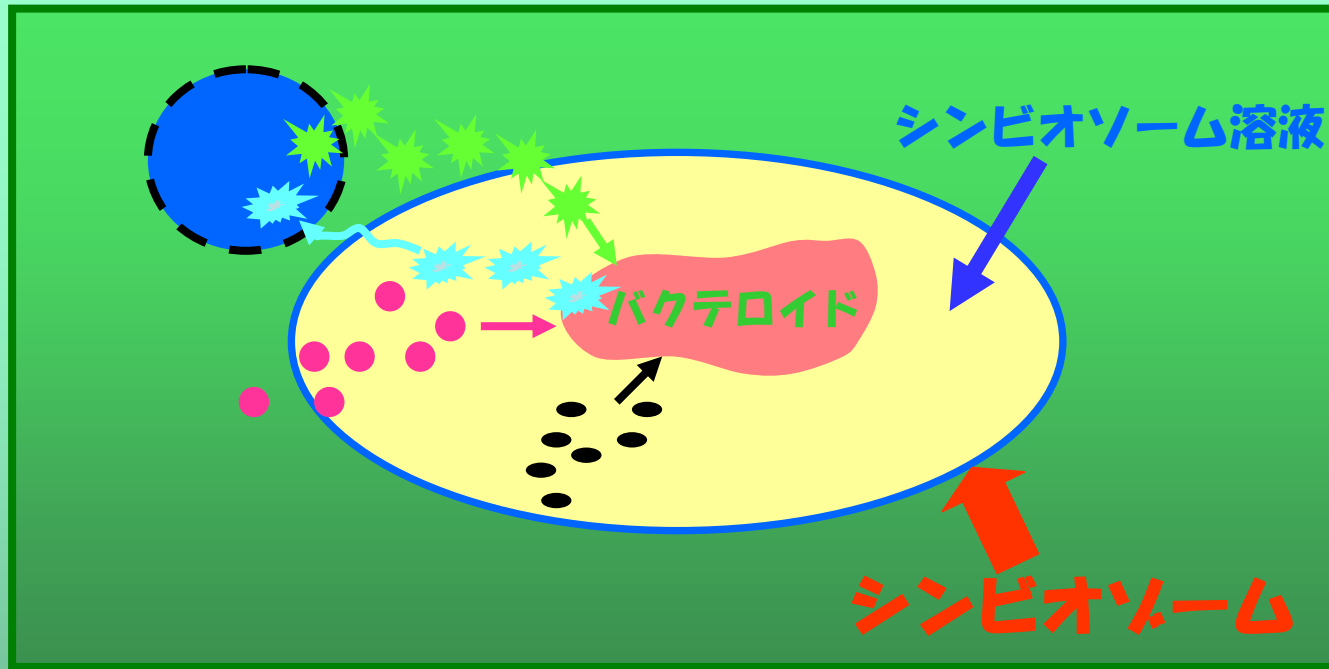
ダイス細胞中での根粒バクテロイド

上左、ミヤコグサ根粒菌のバクテロイド

上右、アルファルファ根粒菌のバクテロイド

右図では、細胞膜の選択透過性の喪失により、細胞全体が赤く染色され、青く染まる核が多数観察される。

Uchiumi et al



ダイズ感染細胞

私どもはバクテロイドを包んでいるシンビオソーム中の溶液を単離し根粒菌に投与すると、特異的な遺伝子発現が生じることを見出した。この事実から、「マメ科植物がシンビオソームに何らかのシグナル物質を放出し、それらシグナル物質を媒介にして根粒菌のバクテロイド化が制御されている」という仮説を考えている。

そこで、シンビオソーム溶液が根粒菌のバクテロイドへの分化やその状態の維持に果たしている役割を解明するため、ダイズ根粒シンビオソーム溶液が単生根粒菌の遺伝子発現や生理に及ぼす影響を調べている。

# ☆ペリバクテロイドスペース (PBS) 物質が根粒菌の遺伝子発現と窒素固定に及ぼす影響

研究テーマ例：ダイズ根粒PBS物質投与時に根粒中で生じるタンパク質のフロテオーム解析

研究テーマ例：ダイズ根粒菌のバクテロイド化を誘導する化学物質の単離・同定

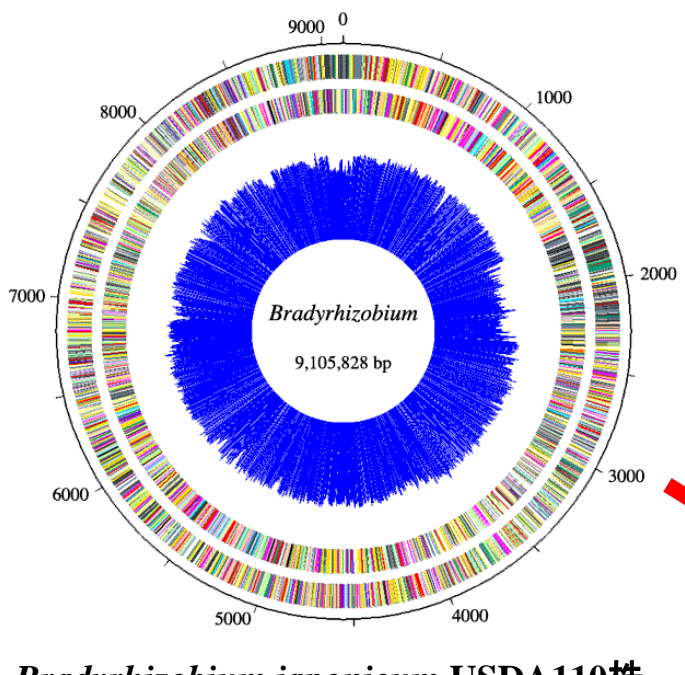
研究テーマ例：ダイズ根粒PBS物質に含まれる根粒菌増殖抑制物質の単離・同定

研究テーマ例：ダイズ根粒PBS物質により単生根粒菌に誘導される新規の遺伝子応答の解析



(共生窒素固定の分子機構をモデルとした新窒素固定システム「人工根粒」の開発)

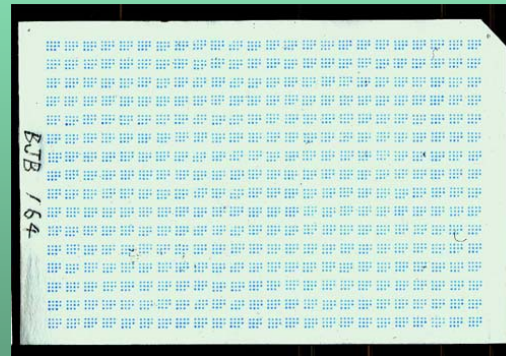
# 共同研究：*Bradyrhizobium japonicum* USDA110株のゲノムアレイ膜を用いた、根粒菌のバクテロイド化の制御機構の解明



*Bradyrhizobium japonicum* USDA110株の全ゲノムの塩基配列の円形マップ (カズサDNA研究所作成)

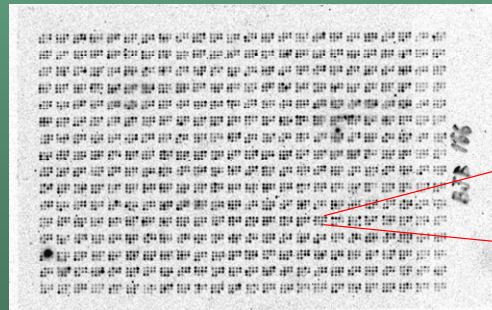
## *B.japonicum* U110株のアレイ膜とは：

カズサDNA研究所が*B.japonicum* USDA110株の全ゲノム配列決定に用いたDNAクローンを用い、ミヤコグサ根粒菌コンソーシアムに所属するメンバーが共同で、U110株の全ゲノムをカバーするように3961個のDNAクローンを選抜し、78mmX118mmのナイロン膜（バイオダイナ）にスポットしたものの。

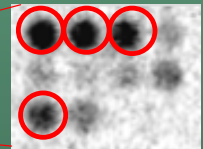


(本メンブラン上には*B.Japonicum* USDA110株の全ゲノムが載っている)

PBS物質を添加した単生根粒菌から抽出したmRNAをcDNAに変換し、それらを<sup>33</sup>Pで標識し、右記アレイ膜とハイブリさせ、どのような遺伝子の転写が変動しているか調べる。



各スポットの濃さを数値化し、サンプル間で比較した。



# ④アジアに分布する *Bradyrhizobium* 属根粒菌の遺伝的特性解明と有効利用

日本・朝鮮・中国東北部・シベリア東部はダイズの野生種 *Glycine soja* の原産地である。また、東南アジアは、Asian *Vigna* 属マメ科作物であるリョクトウ類の原産地である。ダイズやリョクトウはアジアの主要なマメ科作物で、*Bradyrhizobium* 属根粒菌が共生する。しかし、それら根粒菌の遺伝的な特性解明は非常に遅れている。

リョクトウ



アズキ



ダイズ



***Bradyrhizobium* 属根粒菌は、農業上有用な微生物で、その特性を上手に利用できれば、マメ科作物の収量増加に貢献できます。また、私どもの研究室は世界一の *Bradyrhizobium* 属根粒菌株保有研究室です。**

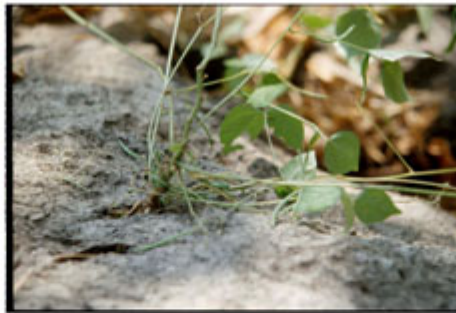
☆アジアに分布する *Glycine* 属や *Vigna* 属マメ科植物と共生する *Bradyrhizobium* 属根粒菌の遺伝的多様性の解明と有用遺伝子の単離  
(農業生物資源研究所 集団動態研究チームとの共同研究)

研究テーマ例: *Vigna* 属作物近縁野生種コアコレクションを利用した共生微生物遺伝資源  
トラップ法の開発

*Vigna* 属作物近縁野生種は多様な環境に生育している *Bradyrhizobium* 根粒菌も、そのような環境下で各種 *Vigna* 植物と共生している



*V. radiata*: Cliff Okinawa  
: Salt, drought, heat



*V. exilis*: Limestone habitat  
: Alkaline soil



*V. trilobata*: sandy beach  
: Salt, drought

*Vigna* 属作物近縁野生種に共生している根粒菌の特性解明は有用な接種菌の発見に結びつく可能性がある



## ⑤ 土壤中では優良根粒菌が効率的にダイズに根粒を形成する接種技術開発

### ☆ 根粒菌接種の新技术の開発

土壤生態系で根粒菌は根粒形成遺伝子をどのように発現制御しているか解明する

**研究テーマ例：** *Lotus* 属植物根が分泌する根粒形成遺伝子発現誘導物質の探索とその分泌および作用機作に対する根域化学環境の影響の解析

**研究テーマ例：** 土壤生態系での根粒菌の遺伝子発現のin-situ探知法の開発

土壤生態系で土壤微生物がどの様に遺伝子発現を行い生活しているかに関しては殆ど分かっていない。

そこで、根粒菌をモデル土壤微生物として、environmental-RNA抽出技術および全ゲノムを網羅したアレイ膜を用いて、様々な土壤環境中、あるいは植物根圏中に接種したそれら根粒菌でどのような遺伝子発現応答が生じているか捉え、土壤中に培養微生物を投入するための新規の微生物接種技術の開発を目指す。

## (大課題2)

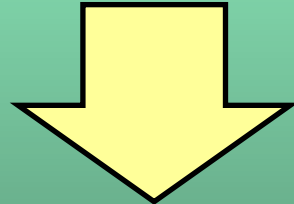
# 新方式カリウム供給技術による ムギ作畑の硝酸溶脱低減と収穫改善



キーワード：ムギ類収穫改善・菜種  
梅雨・カリウム肥料・硝酸溶脱低  
減・環境保全・国際競争力

# 研究背景

日本のコムギの収量は4.03t/ha(2004年)で、フランスの7.58t/ha(2004年)、ドイツの8.17t/ha(2004年)をはじめとするヨーロッパ諸国と比較するとかなり低い。



一般的には、生育後期の急激な気温上昇による高温ストレスにより、植物体の枯れ上がりが早く登熟期間が短いため、とされている。

しかし、低収量の要因はそれだけであろうか？

## 研究目的

- ① 陸水環境に対する農業的窒素負荷の一要因である畑作のうち、  
本州以南のなたね梅雨地帯におけるムギ作に着目し、
- ② 生育後期の養分バランスをカリウム施肥法の革新により改善し、
- ③ それによって窒素利用率を顕著に向上させ、
- ④ 硝酸態窒素溶脱量の低減と収穫物の質・量の向上を図り、
- ⑤ 以て農業の生産性向上と持続的発展、並びにムギ類の自給率向上に寄与することを目的とする。

1) コムギの窒素利用率の向上と増収をもたらす、ムギ茎立ち期以降のカリウム供給改善技術の広域適用化

2) 茎立ち期以降のカリウム供給改善によるコムギの窒素利用率向上と溶脱硝酸態窒素低減の実証とその効果の数値化

4) 全量基肥でムギ茎立ち期以降のカリウム供給を改善できるカリウム溶出制御型新肥料の開発

群馬県農業技術センター

宇都宮大学

東京農工大学

朝日工業

九州・沖縄農業研究センター

本研究は、宇都宮大学、群馬県農業技術センター、朝日工業、九州沖縄農業研究センターとの共同研究である。

1) コムギの窒素利用率の向上と増収をもたらす、ムギ茎立ち期以降のカリウム供給改善技術の広域適用化

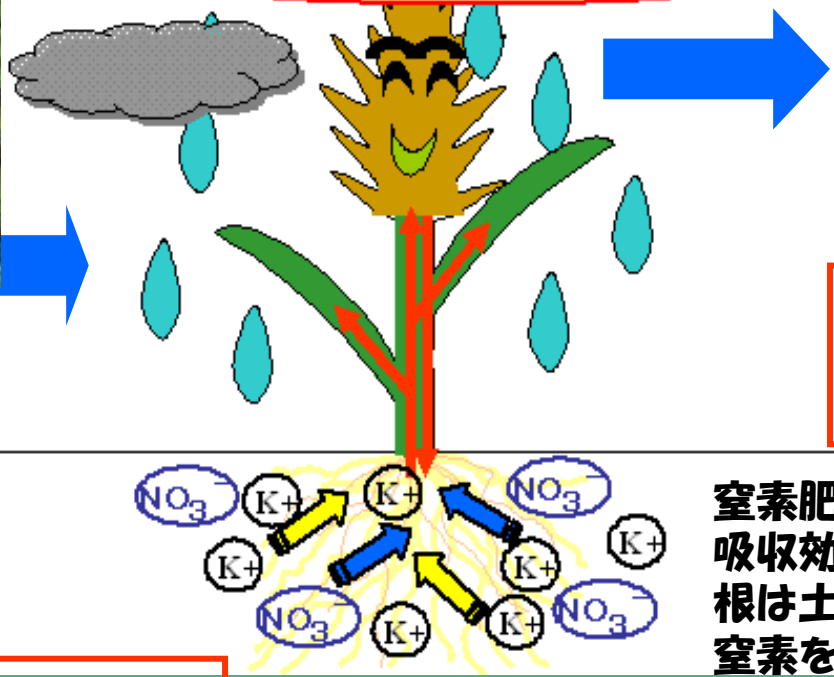
3) オオムギ作に対する茎立ち期以降カリウム供給改善技術の有用性と適用条件の検討

# 本研究が完成したら



なたね梅雨期初期にカリウムの効果を発揮する新カリウム溶出制御型肥料の播種時全層施肥

なたね梅雨初期にカリウムを効かせる



慣行栽培

本技術を適用した場合



換算収量で50%の増収効果・品質も向上する可能性あり

収穫物の質と量及び窒素利用率の向上

窒素肥料を追肥しなくても窒素吸収効率が上がるため、ムギの根は土壌中からどんどん硝酸態窒素を吸収する、そのため、耕作地からの硝酸態窒素溶脱を減少させる

農業従事者の高齢化が進行する中で求められる省力化・収穫改善技術

適正な施肥及び土壌管理技術の開発

2006年（平成18年）6月24日（土曜日）

4版 **社 会** 12

日 本 経 済 新 聞（夕刊）

## カリウム肥料追加で 小麦収量1.5倍

東京農工大、実験で確認

東京農工大学の有馬泰  
紘教授らは二十四日まで  
に、小麦の収量を約一・  
五倍に増やせる手法を見  
つけたと発表した。本州  
以南で三―四月に雨が続  
く「菜種梅雨」の時期に、  
カリウムという元素を肥  
料として余分に与える  
と、土の中のカリウムが  
雨によって失われて栄養  
不足になるのを防ぐこと  
ができたという。

農工大の農場（東京都

府中市）で実験した。カ  
リウムを肥料として余分  
に加えた場合と、通常の  
肥料だけで育てた場合を  
比べたところ、カリウム  
を追加すると単位面積当  
たりの小麦の収量が一・  
五倍弱になった。

本州以南では、小麦は  
秋に種をまいて翌年の六  
月に収穫するのが一般  
的。三―四月は茎が大き  
く伸びて穂が形成される  
など、成育の重要な時期  
に当たる。菜種梅雨で雨  
が続くと、土壌のカリウ  
ムが雨で薄まったり、地  
下深部に流されたりして  
栄養不足になりやすい。

カリウムは小麦が光合  
成で作った炭水化物を、  
根や穂に運ぶのに重要な  
役割を果たしている。実  
験で収量が増えたのは余  
分に与えたカリウムによ  
って栄養不足が解消され  
たためとみている。

2006年6月24日

研究室の研究の新聞報道  
(その2)

# コムギ収量5割増大

## 菜種梅雨時にカリウム追肥

東京農工大

東京農工科大学院の  
有馬泰紘教授らの研究ケ  
ループは、コムギの生育  
過程で肥料としてカリウ  
ムを加えると、収量が5  
割程度増大することを確

認した。3月中旬から4  
月にかけて本州南岸に停  
滞する前線でもたらされ  
る「菜種梅雨」の時期に  
追肥した。収量が増えた  
ことでコムギ生育時の窒

素の利用効率が高まり、  
土壌から窒素が流出する  
のを低減する効果も見込  
める。  
実験は同大学院の敷地  
内に、02年と04年の秋に

コムギの種まきを行っ  
た。種まきの際は通常通  
りカリウムを与え、さら  
に菜種梅雨の初期にカリ  
ウムを追肥した。すると  
追肥しなかった場合に比  
べて、02年のコムギ収量  
は1畝当たり48・9%増  
の6・7ト、04年は同47  
・0%増の9・7トと大  
幅に増えた。

同教授らは、菜種梅雨  
時期にコムギの生育に必  
要なカリウムが土壌から  
流出し、また窒素成分が  
吸収しにくくなってい  
るとの仮説を立ててい  
た。  
今回、菜種梅雨時にカ  
リウムを追肥することで  
コムギの窒素吸収を促進  
させることを確認した。



# 秋まき小麦増収へ

## 「菜種梅雨」に

## カリウム追肥

東京農工大大学院

東京農工大学院は秋まき小麦で、3月中旬から4月の「菜種梅雨」初期にカリウムを追肥すれば増収効果があることを突き止めた。2004年の秋まき小麦の収量は、追肥をしなければ小麦の1.5倍だった。

04年11月5日に「アヤヒカリ」を播(は)種。05年3月25日に10㍎当たり硫酸カリ2㍎を追肥し、6月上旬に収穫した。収量は10㍎当たり換算で9.7ト。追肥しなかった畑は6.6ト

だった。穂に付く粒数、千粒重ともに増えていた。同大学院の有馬泰弘教授は「カリウムは、ほかの養分の吸収を助ける働きがある。小麦の生育が旺盛な時期に雨が多く、カリウムが流されて収量に影響を与え

ている」と説明。養分の要求量が増える時期にカリウムを追肥するため、養分が効果的に吸収されるとみる。カリウムを追肥した小麦は収穫前の葉の枯れ上がりも少なかった。

小麦の収量が増える分、土壌の窒素成分も吸収される。有馬教授は「残った窒素成分の流出による環境負荷の軽減が見込める」と話す。カリウム追肥による増収効果は、02年播種の小麦でも同等の効果があった。降雨量や場所が違ってもカリウムの作用は同じとみられる。

日本農業新聞  
2006年6月28日

## 国際協力

FNCAバイオ肥料プロジェクト <http://www.fnca.jp/> を見てください。また、植物栄養のホームページのFNCAバイオ肥料プロジェクトをクリックしてください。

## 全国の大学学部生・大学院生の皆様

私どもの研究室は、栄養共生（ダイズ-根粒菌相互作用）やムギに対するカリウム肥料の追肥技術の開発等で、先端的な仕事を行っています。

研究室の活動に興味を持たれましたら、是非、研究室においで下さい。そして、卒論生、大学院生として研究と勉強に参加してください。一緒に、研究を行いましょう。お待ちしております。