

菌根菌のミヤコグサ重金属耐性に対する効果 ならびにイネばか苗病に対する防除効果の検 討

池田, 絢香 / IKEDA, Ayaka

(出版者 / Publisher)

法政大学大学院理工学・工学研究科

(雑誌名 / Journal or Publication Title)

法政大学大学院紀要. 理工学・工学研究科編 / 法政大学大学院紀要. 理工学・工学研究科編

(巻 / Volume)

57

(開始ページ / Start Page)

1

(終了ページ / End Page)

3

(発行年 / Year)

2016-03-24

(URL)

<https://doi.org/10.15002/00013461>

菌根菌のミヤコグサ重金属耐性に対する効果 ならびにイネばか苗病に対する防除効果の検討

THE EFFECT OF MYCORRHIZAL FUNGI ON HEAVY METAL TOLERANCE IN *LOTUS JAPONICUS*
AND CONTROL OF *GIBBERELLA FUJIKUROI*

池田 絢香

Ayaka IKEDA

指導教員 佐野 俊夫

法政大学大学院理工学研究科生命機能学専攻修士課程

Mycorrhizal fungi that coexist with plants improve the absorption of inorganic nutrients into plants such as phosphate and are said to enhance heavy metal tolerance and disease resistance, as well. In this study, in order to investigate the effect of mycorrhizal fungi on heavy metal tolerance and disease resistance, I inoculated arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on *Lotus japonicas* cultured in a medium with an excess amount of zinc ion (Zn), and on *Oryza sativa* infected with *Gibberella fujikuroi*. As a result, the increased Zn concentration in the medium increased the infection rate of the AMF on the roots of *L. japonicas*. However, recovery of the growth rate of these plants was not observed. In *O. sativa*, inoculation of the AMF accelerated the root growth, whereas their effect on the control of *G. fujikuroi* could not be confirmed. It will be necessary to consider the culture conditions of *O. sativa* upon the inoculation of the AMF.

1. 諸言

菌根菌は植物の根に感染することで、植物のリン酸などの無機養分の吸収に関わるが、その他に重金属ストレス耐性や病害耐性の向上にも関わると言われている。そこで本研究では植物の重金属ストレスに対する菌根菌感染の効果を調べるため、マメ科のモデル植物であるミヤコグサ (*Lotus japonicas*) に菌根菌を感染させた。そして、重金属イオンであり必須微量元素の一つ、亜鉛を過剰に与えてミヤコグサ生育に及ぼす影響を調べた。また、病害耐性に対する効果を検証するために、イネばか苗病菌 (*Gibberella fujikuroi*) を接種し、イネの生育変化を調べた。

2. 方法

ミヤコグサ (MG-20 系統) の種子を滅菌後 1 晩吸水さ

せたのちに濾紙上に播種し、播種 7 日後の個体を川砂を詰めた鉢に 1 本ずつ植えかえた。菌根菌として、アーバスキュラー菌根菌 (AMF) 孢子懸濁液 (バイオユニバーズ MYCORISE ASP 菌、500 孢子/mL) 1 mL を根元に滴下した。AMF 非接種区には孢子懸濁液のかわりに滅菌水を 1 mL 滴下した。1/2 に希釈したホーランド液 (亜鉛 0.087 μ M 含む) を基本栽培溶液 (1 倍区) とし、週 3 回栽培溶液と滅菌水とを交互に 10 mL ずつ与えて 3 週間栽培した。

3 週間栽培したミヤコグサに亜鉛 ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) 濃度が異なる栽培溶液と、それと同濃度の亜鉛を含む滅菌水を交互に与え、さらに 2 週間栽培を行った。AMF の感染率はミヤコグサの根にトリパンブルー染色を行い、交差法により測定した。また、亜鉛濃度が異なる栽培溶液を

与え、1、3、5、7日後のミヤコグサ根から RNA を抽出し、リアルタイム PCR 法により、PT3 (リン酸トランスポーター) 遺伝子の発現量解析を行った。

イネ (コシヒカリ) のもみは浸種 (1 週間: 16~17°C) 後、滅菌黒ボク土壌 (粒径: 2 mm 以下/EC 値: 72.8 μ S/cm) を孔を空けたイチゴパックに 3 cm ほど詰め播種した。イネ生育に対する菌根菌の効果を調べるために、AMF 非添加、AMF 生菌添加、AMF 死菌添加の 3 つの試験区を設け、土壌 45 ml に対し AMF 孢子懸濁液を 1 ml 接種した。

また、浸種後のもみにばか苗病菌を接種し、キムワイブを敷き水稲用培養土 (ボンソル 1 号、住友化学) を 300 ml 詰めた 10 cm ポットに播種した。菌根菌資材として Dr キンコン、バイオポンプ-P (ともに出光興産) はそれぞれ 3 g、15 g を土に混和し、AMF 孢子懸濁液はイネを浸漬後、種子に滴下した。その後、発芽緑化処理を行い栽培した。

本病菌に対する菌根菌資材添加の効果を調べるために、以下 6 つの実験区を設定した。①: 健全種子・菌根菌非接種・農薬無処理、②: ばか苗病菌接種種子・菌根菌非接種・農薬無処理、③~⑥ばか苗病菌接種種子に③: 有効農薬 (テクリード C) 処理、④: Dr キンコン混和、⑤: バイオポンプ-P 混和、⑥: AMF 孢子懸濁液接種。

3. 結果

栽培溶液に亜鉛を過剰に加えてミヤコグサを栽培し、その生重量変化を測定した。結果、亜鉛濃度が高まるにつれてミヤコグサの生重量は減少し、亜鉛を基本培地溶液の 10^4 倍与えると下葉の枯れや全体の委縮がみられた。この生育抑制に対し、菌根菌の効果を調べたが、AMF 接種の有無による生重量の回復は見られなかった (図 1)。

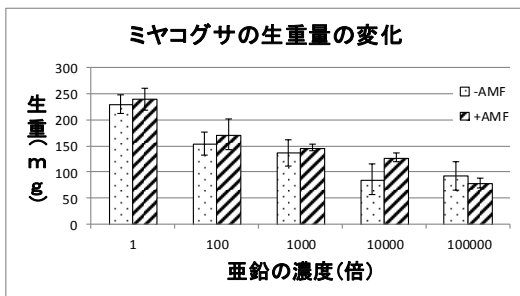


図 1. 培地亜鉛濃度の違いによるミヤコグサ生重量の変化と AMF 感染の効果。AMF を接種後 3 週間栽培し、Zn 濃度を変え更に 2 週間栽培した。-AMF: AMF 非接種、+AMF: AMF 接種。値は 12 サンプルの平均値、バーは標準誤差を表す。

しかし、亜鉛過剰条件下での AMF 感染率は、亜鉛 10^3 倍区では基本栽培溶液区の 2 倍以上の感染率を示し、 10^4 倍区以上では低下した (図 2)。

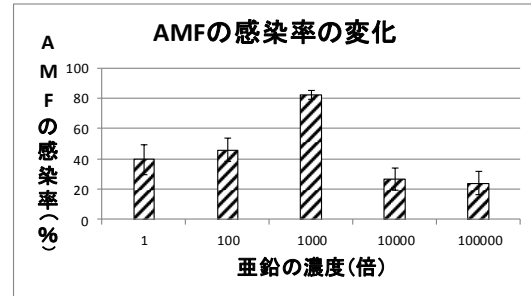


図 2. 培地亜鉛濃度の違いによる AMF 感染率の変化。AMF 接種後 3 週間栽培し、Zn 濃度を変え更に 2 週間栽培し AMF 感染率を測定した。値は 12 サンプルの平均値、バーは標準誤差を表す。

AMF 感染の指標として、リン酸トランスポーター遺伝子 PT3 の発現量変化を調べたところ、基本培地区では変化が少なかったのに対し、亜鉛 1000 倍区では添加 1 日後から増加した (図 3)。

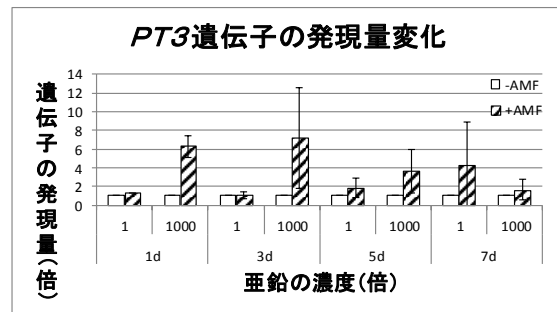


図 3. 亜鉛添加 1 日~7 日後の PT3 遺伝子発現量変化。-AMF: AMF 非接種、+AMF: AMF 接種。値は AMF 非接種区を 1 とした 3~6 回サンプルの平均値を、バーは標準誤差を表す。

菌根菌はイネへの感染率や効果が低いと報告されている。そこでまずイネ生育に対する AMF 添加の効果を調べたところ、AMF 非添加区に比べ AMF 生菌、AMF 死菌添加区のほうが根の発育がよかった (図 4)。しかし、葉の伸長への影響は見られず、また、AMF の感染は確認できなかった。

イネばか苗病菌接種に対する菌根菌資材の効果を調べる実験を行ったが、菌根菌資材の有無による生育の違いは確認できず、菌根菌の感染も確認できなかった (図 5)。

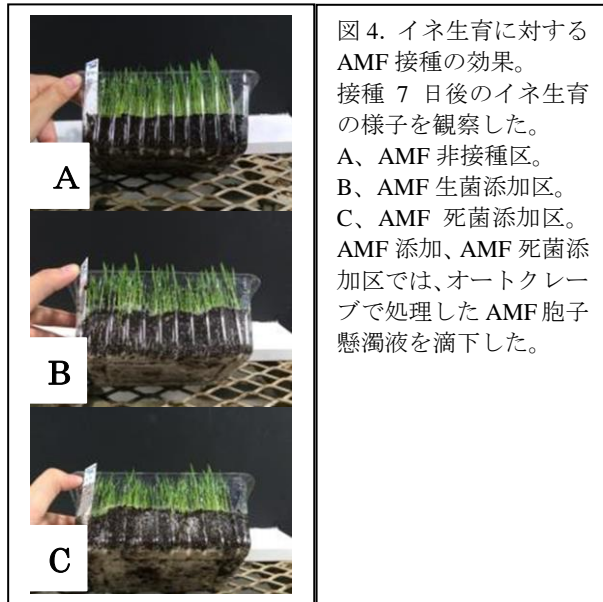


図4. イネ生育に対するAMF接種の効果。接種7日後のイネ生育の様子を観察した。A、AMF非接種区。B、AMF生菌添加区。C、AMF死菌添加区。AMF添加、AMF死菌添加区では、オートクレープで処理したAMF胞子懸濁液を滴下した。

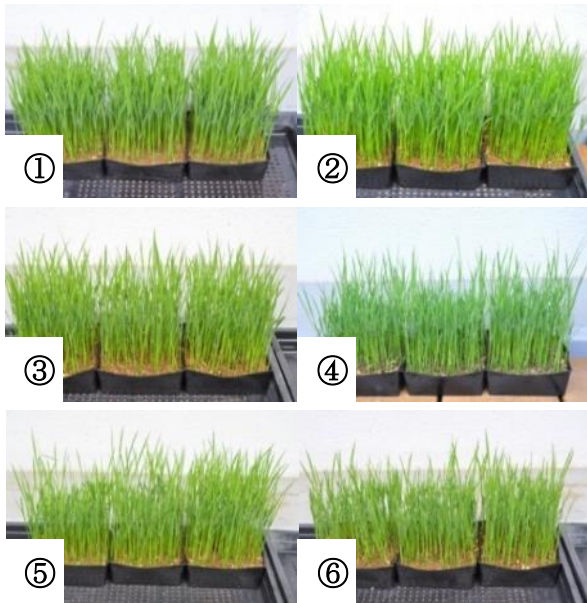


図5. イネばか苗病菌接種に対する菌根菌資材の効果。接種11日後のイネの生長の様子。①健全種子・菌根菌非接種・農薬無処理、②ばかイネ苗病接種種子・菌根菌非接種・農薬無処理、③～⑥ばか苗病菌接種種子に③有効農薬（テクリードC）処理、④：Dr キンコン混和、⑤：バイオポンプ-P混和、⑥：AMF胞子懸濁液接種。

4. 考察

培地亜鉛濃度を高めるとAMF感染率が増加することを発見した（図2）。しかし、亜鉛濃度の増加によるミヤコグサ生重量低下の回復は見られなかった（図1）。

リン酸トランスポーター遺伝子 *PT3* の発現量は培地亜

鉛濃度を1000倍に高めると、その翌日に増加したことから、*PT3* 遺伝子の発現制御にはAMF感染以外の要因も関わっていると考えられる。今後は高亜鉛濃度条件にAMF感染率が上昇するしくみとその意味を、他の重金属（銅、鉄、マンガン、カドミウム等）を用いた実験を行うことで調べていく予定である。

イネ生育に対する菌根菌資材の効果を検討したが、生育に差異がみられなかったのは、栽培に使用した培養土壌の栄養成分が多く、菌根菌の感染が起きなかった可能性が考えられる。そのため、栄養分の少ない土壌成分を検討し、生育に対する効果や菌根菌感染率を調べる予定である。また今回は、イネばか苗病が上手く発病しなかった。実験時期が春～夏であり、イネばか苗病は高温多湿で発生しやすいので、異なる時期で実験を行う予定である。

参考文献

- 【1】福原舞（2013）アーバスキュラー菌根菌感染によるミヤコグサの病害抵抗性変化の検証，法政大学生命科学部植物医科学専修2013年度卒業論文
- 【2】大場広輔，小島知子（2006）アーバスキュラー菌根実験法（1），アーバスキュラー菌根共生研究へのいざない（実験法），土と微生物60（1），53-56
- 【3】稲葉尚子，竹中千里（2000）根圏における重金属汚染土壌の浄化（II），バイオメディエーションと菌根菌，根の研究（root research）9（3），135-143
- 【4】依藤敏昭，鈴木源士（1995）菌根菌の活かし方，農村漁村文化協会
- 【5】Mohammadi K., Khalesro S., Sohrabi Y. and Heidari G. (2011) Beneficial Effects of the Mycorrhizal Fungi for Plant Growth, *J. Appl. Environ. Biol. Sci.*, 1 (9), 310-319
- 【6】島本功 監修（2005）改訂3版 モデル植物の実験プロトコール，秀潤社
- 【7】出光興産株式会社
<http://www.idemitsu.co.jp/index.html?sscl=head01>
 (2016/2/4)