

島根のアズキブランド構築のための生態学・育種学・栽培学からの研究開発 —島根の在来・野生アズキの特性調査（生態調査）—

農林生産学科 助教

城 惣吉

目的

近年、出雲市や松江市においてアズキが主役となる食文化が注目されている。しかしながら、本地域のアズキ生産規模は小さく、また一次農産品としてブランド化を推し進めるだけの品質や収量、品種も保証されていないのが現状である。マメ科植物であるアズキは根粒菌との共生機構を確立しており、栽培時に窒素固定能力の高い根粒菌（有用根粒菌）を接種することにより、生産性が向上することが知られている。栽培技術の一つとして、実用的かつその地域の環境に応じた有用根粒菌の接種技術を確立することができれば、更なる生産性の向上に貢献できると考えられる。また、本地域の気象や土壌環境とアズキ生産や在来・野生アズキとの生態的関係性を特徴付けることで、アズキブランドの構築に貢献できるものと考えられる。そこで、島根県におけるアズキ根粒菌の多様性について調査し、アズキ栽培に有用な機能を有する根粒菌株を探索し、本地域に適した有用アズキ根粒菌の利活用法について検討した。

研究成果

島根県内における土着アズキ根粒菌の多様性の調査および有用アズキ根粒菌の探索を行うために、島根大学生物資源科学部実験圃場内の畑（pH [H₂O] 6.22）および水田（pH [H₂O] 6.63）、島根大学生物資源科学部附属生物資源教育研究センター森林科学部門三瓶演習林（pH [H₂O] 5.70）、益田市内の畑（pH [H₂O] 5.77）から土壌をサンプリングした。

これらの土壌でアズキ“丹波大納言小豆”をポット栽培し、6週間後、根に着生した根粒から土着アズキ根粒菌を分離した。分離した根粒菌の生育速度とコロニー形態を Yeast-Mannitol 寒天（YMA）培地上で観察したところ、約7～10日間でコロニーを形成し、粘性と液状の異なるコロニー形態を示すことが観察された。さらに、BTBを含むYMA培地にコロニーを植菌し、培地の色の変化を観察したところ、一部変化の見られないものを除き、そのほとんどが緑色から青色に変化した。このことから、分離した根粒菌は *Bradyrhizobium* 属の根粒菌ではないかと推定し、11の *Bradyrhizobium* USDA 株 (*B. japonicum* USDA 4, 6^T, 38, 110, 115, 123, 124, 135, *B. elkanii* USDA 46, 76^T, 94) を参照菌株として、16S-23S rDNA ITS 領域の PCR-RFLP 解析を行い、分離菌株を同定し、各土壌における多様度指数 (Shannon-Wiener の多様度指数; H') を求めた。その結果、島根大学生物資源科学部実験圃場内の畑土壌では、*B. japonicum* USDA 110, *B. elkanii* USDA 46, 76^T と類似の RFLP パターンを示す菌株が、水田土壌では、*B. japonicum* USDA 38, 110, 115, *B. elkanii* USDA 76^T と類似の RFLP パターンを示す菌株と参照菌株とは異なる RFLP パターンを示す菌株が、三瓶演習林内の土壌では、*B. japonicum* USDA 123 と類似の RFLP パターンを示す菌株と参照菌株とは異なる RFLP パターンを示す菌株が、益田市内畑土壌では、*B. japonicum* USDA 6^T, 110, 123 と類似の RFLP パターンを示す菌株と参照菌株とは異なる RFLP パターンを示す菌株がそれぞれ存在していた。この結果を基に、土着アズキ根粒菌の多様度指数 (H') を求めたところ、順に、0.83, 0.87, 0.90, 1.72 となり、益田市内の畑土壌が最も高い多様性を示した。さらに、島根大学生物資源科学部実験圃場内の畑や水田土壌では *B. japonicum* や *B. elkanii* と近縁な根粒菌の占有率が高かったのに対して、三瓶演習林内の土壌や益田市内の畑土壌では *B. japonicum* や *B. elkanii* とは異なる根粒菌の占有率が増加し、特に、この菌株は

三瓶演習林内の土壌で高い占有率（88.9%）を示した。また、島根大学生物資源科学部実験圃場内の畑土壌では *B. japonicum* と *B. elkanii* の占有率がそれぞれ 54.2% と 45.8% であったのに対して、水田土壌では *B. japonicum* が 91.7% の占有率を示した。以上の結果から、土壌のサンプリング地点の気候などの環境条件や土壌の管理条件が根粒菌叢に影響を及ぼすと考えられた。

社会への貢献

アズキは根粒菌との共生窒素固定により窒素を獲得するため、少ない窒素肥料で収量を得ることのできる作物である。最近のダイズ栽培研究において、窒素固定能の低い根粒菌感染による温室効果ガス（ N_2O ）が発生することが報告されており、温暖化への影響が懸念されている。一方、窒素固定能が高く完全脱窒能を有する根粒菌（有用根粒菌）は、宿主により多くの窒素を供給できるだけでなく、 N_2O を N_2 に還元できることから、アズキ栽培においても有用根粒菌の活用は、アズキの安定生産や増収を図るだけでなく、窒素肥料の節減による汽水湖や河川などの環境水の水質保全や温室効果ガスの削減といった環境負荷の少ない農業生産を目指す上で重要である。

本年度の研究で得られた結果から、特に、島根大学生物資源科学部実験圃場内の畑および水田土壌、益田市内の畑土壌から *B. japonicum* USDA 110 と近縁な土着アズキ根粒菌株が多く分離された。*B. japonicum* USDA 110 株は窒素固定能が高く、完全脱窒能を有する有用根粒菌として知られている根粒菌である。分離株の窒素固定活性や脱窒関連遺伝子の有無、アズキへ接種した際の生長促進効果などについて調査し、もし有用な効果を示すことを確認できれば、島根県内のアズキ栽培に適した有用根粒菌として利用可能である。さらに、本研究から得られた知見は、島根県に限らず、日本のアズキ栽培地域の環境に適した有用根粒菌接種技術の発展にも貢献できるものと考えられる。

次年度に向けた検討状況

本研究で分離した *B. japonicum* USDA 110 と近縁な土着アズキ根粒菌株について、窒素固定活性や脱窒関連遺伝子の有無、アズキへ接種した際の生長促進・生産性向上効果などについて調査し、有用根粒菌としての利用可能性について検討する。本課題の「島根発アズキの新品種育成の検討」において、アズキの突然変異処理種子（M2）が得られていることから、これらに土着アズキ根粒菌株を接種し、生産性の向上する変異種子系統について、本地域の土壌環境に適したアズキ系統として選抜を行うことを進める。さらに、島根県内の土着アズキ根粒菌の多様性についてより詳細にするために、島根県内の市と郡の土壌についても調査を行う予定である。また、参照菌株とは異なる RFLP パターンを示した土着根粒菌株について、16S rDNA や 16S-23S rDNA ITS 領域のシーケンス解析などを行って菌株を同定し、これらについても有用アズキ根粒菌としての利用可能性について検討する。

公表論文 なし

学会発表等

1. 江角智也・小林和広・門脇正行・城 惣吉 「島根のアズキブランド構築のための生態学・育種学・栽培学からの研究開発」 島根県食品工業研究会との交流会（2015年2月21日）
2. 城 惣吉 「マメ科植物と根粒菌 ～植物と共に生きる微生物のおはなし～」 神門縁日ブース展示（2014年8月23日）

受賞等 なし

外部資金 なし