

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14640

研究課題名(和文)ダイズの耐湿性に関する根形質の網羅的評価とゲノムワイド・アソシエーション解析

研究課題名(英文)Evaluation and genom-wide association analysis for root characters relating to waterlogging tolerance in soybean plant

研究代表者

望月 俊宏 (Mochizuki, Toshihiro)

九州大学・農学研究院・教授

研究者番号：60239572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ダイズミニコアコレクションを対象に、好気および嫌気条件が根系質に及ぼす影響ならびに嫌気耐性を評価した。

その結果、好気区に対して嫌気区では、根長増加量、根表面積増加量、根体積増加量、地下部乾物重は有意に減少し、平均根直径、地上部乾物重は有意に増加した。主成分分析の結果から、植物体の大きさ(大/小)および嫌気耐性(高/低)に基づいてミニコアコレクションを4つのグループに分類したところ、それぞれのグループと原産地の間に関連が認められた。また、土耕栽培湛水条件下における根形質は、上記の結果を反映することが明らかであった。

研究成果の概要(英文)： We aimed to clarify phenotypic variation in root development under hypoxia condition at the seedling stage using diverse soybean accessions. Root development in 162 accessions was evaluated in hydroponic culture.

We found significant phenotypic variation in hypoxia tolerance in root among the 162 accessions. Principal-components analysis indicated an association between hypoxia tolerance and the country of origin. Root development in selected accessions was also evaluated in soil culture. Root development levels in hydroponic and soil culture were significantly correlated. These results will provide important information on waterlogging damage in regions where waterlogging occurs.

研究分野：作物学

キーワード：ダイズ 湿害 耐湿性 ゲノムワイド・アソシエーション解析 根系 嫌気

### 1. 研究開始当初の背景

我が国のダイズ栽培は主として水田転換畑で行われ、多くの地域では播種期が梅雨と重なるため、出芽期から幼苗期にかけての湿害が生産不安定要因の一つになっている(国分・島村 2010)。国外においても、モンスーンアジアや河川流域の畑地における湿害は大きな問題であり、耐湿性ダイズ品種の育成に向け、生理・生態学的、遺伝・育種学的研究が数多く行われているが、いまだ作出には至っていない。申請者は、低酸素ストレス下における根の生育阻害や、一次および二次通気組織の形成量を指標として品種スクリーニングを行い(島村ら 1997, 2001; 坂園ら 2014)、それらの形質に関与する量的形質遺伝子座(QTLs)を検出(梶原ら 2006; 佐藤ら 2012)し、その単離を目指している。しかしながら、これらの遺伝子が単離されたとしても、実用的な耐湿性ダイズ品種の作出までにはまだ時間がかかると考えている。その原因として、1) 湿害を引き起こす要因が、低酸素ストレスや高二酸化炭素ストレス(Boruら 2003; 松元・望月 2012, 2013)、有害還元物質の影響(高井 1980)など複合的であること、2) 耐湿性の指標となる形質(通気組織や根系形成能、呼吸関連酵素活性など)が特定されていないことなどがあげられる。

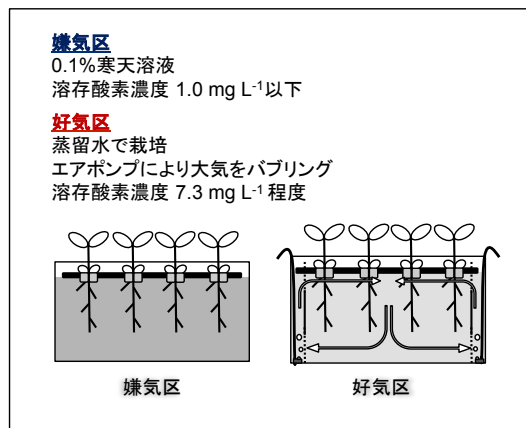
一方、近年、次世代シーケンサーの登場とハイスループットな塩基多型(SNP)ジェノタイピングシステムの開発により、ゲノムワイド・アソシエーション解析(GWAS)が現実的なものとなってきた。GWASでは、従来のQTL解析のように交配実験を必要としないことから、その労力を削減できるばかりでなく、組み合わせに依存しないQTLを検出することが可能である。また、耐湿性のような複数の遺伝子で制御されている形質については、関与する遺伝子間の効果や、要因と遺伝子の交互作用の評価も可能である。

### 2. 研究の目的

本研究では、ダイズ・ミニ・コアコレクション(Kagaら 2012)を供試し、嫌気ならびに高二酸化炭素条件下で水耕栽培を行い、幼苗期の耐湿性に関与する根の形態形質を網羅的に評価する。その結果をもとにSNPs情報とあわせてGWASを行い、各形質に関与する遺伝子を検出すると共に、遺伝子間の関係や要因と遺伝子の交互作用について明らかにし、耐湿性に関与する要因、形質、遺伝子の関係を総合的に解析する。複合的な要因と複数の遺伝子で制御されていると考えられる形質についてGWASを行うことにより、ダイズ耐湿性への理解が大きく進展し、今後の研究の方向性を示すことが可能となる。さらに本研究の成果は、作物生産科学分野における研究手法に新たな局面を切り開くものである。

### 3. 研究の方法

生物資源研究所より配布されたダイズミニコアコレクション157系統およびその他ダイズ5系統の計162系統を供試した。播種後6日目のダイズ幼苗に対して、嫌気区では溶存酸素濃度  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$ 以下に調整した0.1%寒天溶液を用いて嫌気処理を施し、好気区では蒸留水に大気をバブリングし、7日間の水耕栽培を行った(第一図)。



第1図. 処理方法.

処理開始時および終了時に根形質(根長、根表面積、根体積、平均根直径)を、WinRHIZO (Regent Instruments Inc.)を用いて測定し、処理期間中における各形質の変化量を算出した。また、根形質の調査後、地上部および地下部乾物重を測定した。実験はグロースチャンバー ( $140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , 14 hr light/10 hr dark,  $23^\circ\text{C}$ ) 内で、3-6 反復行った。

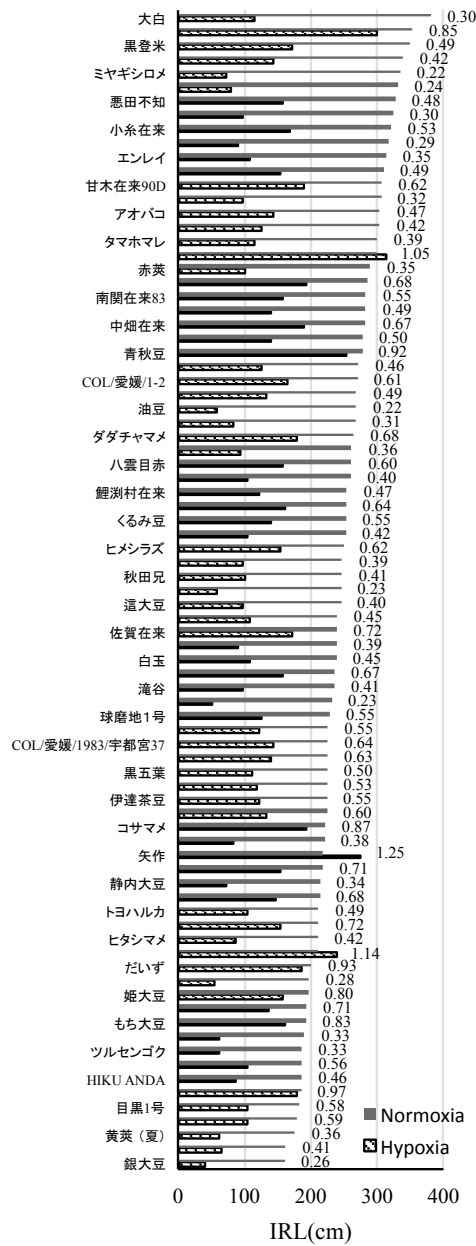
上記実験の結果から二元配置分散分析および主成分分析によって嫌気耐性を評価し、嫌気処理に対して特徴的な反応を示した12系統について、ポット試験(土耕栽培)を行った。水耕栽培と同様、播種後6日目のダイズ幼苗に対して、湛水区では地表面2cmの湛水処理を行い、対照区では底面灌水を行った。両処理区とも処理後7日目にサンプリングし、根系質と地上部及び地下部乾物重を測定した。なお栽培はビニルハウス内で行い、各系統・処理当たり4個体を供試した。

### 4. 研究成果

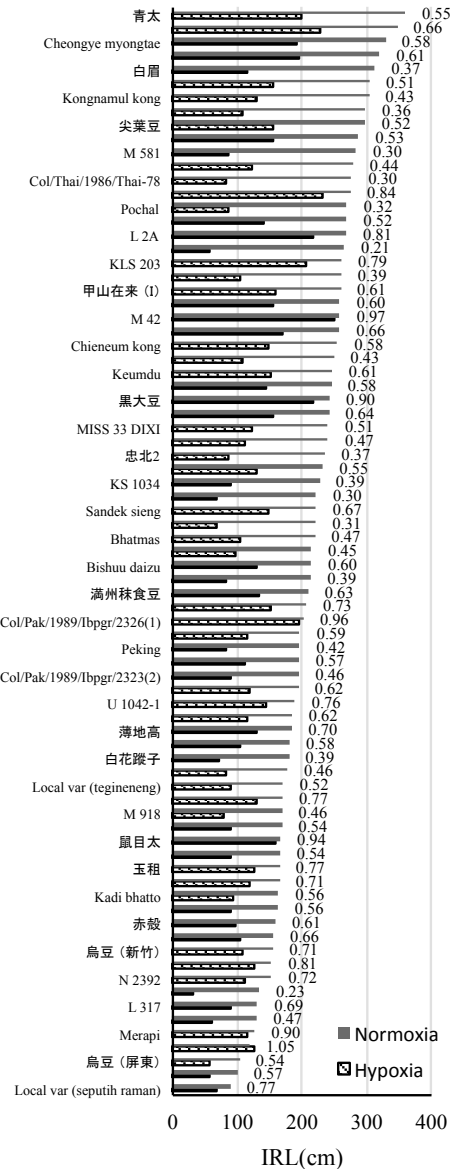
水耕実験において、好気区に対して嫌気区では、根長増加量、根表面積増加量、根体積増加量、地下部乾物重は有意に減少し、平均根直径、地上部乾物重は有意に増加した。また、地上部乾物重を除く全ての形質で交互作用(系統×処理)が認められ、根の嫌気耐性には系統間に大きな変異のあることが明らかになった(第2図)。

主成分分析の結果、第一主成分は植物体の大きさを示し、第二主成分は嫌気耐性を示した。植物体の大きさ(大/小)および嫌気耐性(高/低)に基づいてミニコアコレクションを

### A 日本



### B 世界



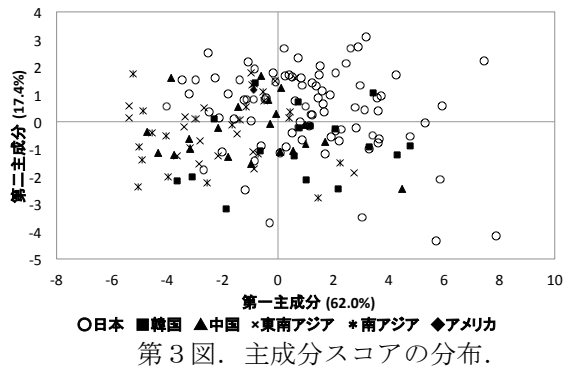
第2図. 好気区および嫌気区における総根長増加量 (IRL). A) 日本のコアコレクション78系統および伊豫大豆, 植系32号, タチナガハ, トヨムスメ, トヨハルカ. B) 世界のコアコレクション79系統. それぞれのバーに示す値は相対値 (嫌気区/好気区).

4つのグループに分類した。その結果、それぞれのグループと原産地の間に関連が認められた (第3図)。

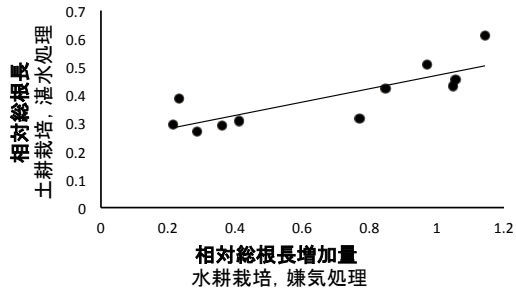
ポット試験では、測定した全形質において0.1%水準で処理間及び系統間に有意差が認められた。また、交互作用にも有意差が認められた。水耕実験における根長増加量および根表面積増加量の相対値 (嫌気区/好気区) と土耕実験における根長及び根表面積の相対

値 (湛水区/対照区) は、それぞれ高い正の相関を示したことから、嫌気耐性は湛水耐性に関与することが示唆された (第4図)。

ミニコアコレクションにおけるSNPs情報の公開が遅れていることから、現時点ではGWASが行えていないが、公開後は本研究成果を基に直ちに実施する予定である。本研究に類する研究はこれまでに無く、国際的にも極めて価値が高い。



第3図. 主成分スコアの分布.



第4図. 水耕栽培実験と土耕栽培実験における根の生育量(相対値)の関係.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Keisuke Suematsu, Tomomi Abiko, Van

Loc Nguyen and Toshihiro Mochizuki 2017. Phenotypic variation in root development of 162 soybean accessions under hypoxia condition at the seedling stage. *Plant Production Science*. Online First doi:10.1080/1343943X.2017.1334511

[学会発表] (計2件)

末松恵祐・グエン ヴァン ロック・古賀雄大・安彦友美・望月俊宏 2017. ダイズ幼苗の嫌気条件下での根系発達に関する要因の解析. 第243回日本作物学会講演会, 2017年3月, 東京都.

末松恵祐・望月俊宏 2016. ダイズミニコアコレクションにおける嫌気条件および湛水条件下での根系形成能の比較. 第241回日本作物学会講演会, 2016年3月, 水戸市.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

望月 俊宏 (MOCHIZUKI TOSHIHIRO)  
九州大学・大学院農学研究院・教授  
研究者番号: 60239572

##### (3) 連携研究者

岩田洋佳 (IWATA HIROYOSHI)  
東京大学・農学生命科学研究科・准教授  
研究者番号: 00355489