

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：12201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15822

研究課題名(和文)ダイズの菌根菌接種による生育応答を決定する地下部形質の解明と関連QTLの同定

研究課題名(英文) Determination of soybean underground traits that determine mycorrhizal growth response and identification of associated QTL

研究代表者

神山 拓也 (Koyama, Takuya)

宇都宮大学・農学部・助教

研究者番号：80750801

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：リン施肥量削減に向け、ダイズコアコレクションのアーバスキュラー菌根(AM)菌接種による生育応答(MGR)を決定する地下部形質の解明を目指した。しかし、根箱とダイズ12系統を用いてMGRと様々な根系形質との関係を精査したが明瞭な関係はなかった。一方、接種区のリン吸収量は、系統によらずAM菌感染率で説明できた。この感染率は、日本と世界のダイズコアコレクション176系統で38.8から93.2%まで分布していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リン資源は枯渇が危惧されており、リン施肥量の削減が求められている。アーバスキュラー菌根(AM)菌は菌糸による植物の養分吸収域の拡大により植物のリン吸収を助ける。本研究では、AM菌接種区のリン吸収量を系統によらずAM菌感染率で説明できること、系統間で感染率に大きな変異があること、を明らかにした。これらの研究成果は、今後、AM菌を利用した栽培に適するダイズ品種の育成に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study was to identify the root traits that determine mycorrhizal growth response (MGR) of soybean core collection. However, no clear relationship was found between MGR and various root traits using the root boxes and 12 soybean lines. On the other hand, P uptake of AM inoculated plants could be explained by AM fungal colonization regardless of the lines. Thus, we examined the AM fungal colonization of 176 lines of the Japan and world soybean core collections. The AM fungal colonization of them ranged from 38.8 to 93.2%.

研究分野：作物学

キーワード：ダイズ リン アーバスキュラー菌根 根系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

リン資源は枯渇が危惧されており、リン施肥量の削減が求められている。アーバスキュラー菌根(AM)菌は菌糸による植物の養分吸収域の拡大により植物のリン吸収を助ける。リン施肥量の削減に向け、ダイズの AM 菌接種による生育応答 (Mycorrhizal Growth Response, MGR) を決定する地下部形質を解明し、その QTL を同定することで、MGR の高い品種の育成に貢献する。

2. 研究の目的

本研究では、根箱法の改良により根系に加え菌糸の定量化も可能にし、ダイズコアコレクションの MGR を決定する地下部形質を解明する。さらに、圃場でも、この地下部形質によって MGR が決定するのか検証する。

3. 研究の方法

実験 1. 根および AM 菌菌糸を定量化できる根箱手法の確立

根箱は透明な PVC 板を組み合わせたものからなり、側板が取り外し可能になっている。そこで、根箱の蓋の裏全面にアーバスキュラー菌根(AM)菌の菌糸をトラップできるフィルターを設置した。この根箱に、AM 菌資材、もしくは、80 で殺菌した資材 20g を、土壤に、以下の異なる 4 種類の方法で接種した区を設けた。地表面から 3.5cm に局所的に接種する区(局所接種区)、根箱中の上もしくは下半分の土壤に混合して接種する区(上部もしくは下部混合接種区)、根箱中の土壤全層に混合して接種する区(全層接種区)、を設けた。また、これらの区とは別に、過燐酸石灰を多量に施用した区(多 P 区)を設けた。これらの根箱を完全無作為法(n = 4)で配置し、ダイズ品種(納豆小粒)を栽培した。サンプリング時に、蓋を外し、フィルター上の菌糸を酸性フクシンで染色し、その画像をスキャナーで取り込んだ。また、申請者らが開発した根系採取装置で根系標本を取得し、その画像をスキャナーで取り込んだ(神山ら, 2017; Koyama et al., 2021)。地上部については、風乾後、乾物重を計測した。

実験 2. 根箱を用いた MGR を決定する地下部形質の解明

日本のダイズミニコアコレクション 90 系統の内、開花期が大きく異ならず、通気された水耕条件で根長の長い 6 系統(大白、借金なし、小糸、タチナガハ、甘木在来 90D、ナットウマメ)と短い 6 系統(あぜまめ、姫大豆、もち大豆、目黒 1 号、納豆小粒、銀大豆)(Suematsu et al., 2017)を供試した。根箱に AM 菌資材もしくは担体を、土壤に 5g 全層接種した区を設けた。これらの根箱を乱塊法(n = 4)で配置し、8 月 25 日から栽培し、10 月 16 日、17 日、18 日にサンプリングした。上記の方法で根系標本を取得し、その画像をスキャナーで取り込んだ。その後、シートを、13cm 毎に上、中、下に等分した後、8cm 毎に左、中、右に等分することで 9 分割し、それぞれの位置の根長、平均根径、表面積を計測した。また、それぞれの根系を透明化しトリパンブルーで染色し、感染率を算出した。地上部については、風乾後、乾物重を計測した後、粉碎し、Ca、P、Mg、K、Na、Fe、Zn、Cu 濃度を計測した。MGR は $(M - NM) / NM \times 100$ により算出した(M と NM は接種と非接種区の地上部乾物重)。

実験 3. ダイズコアコレクションの AM 菌感染率の差異

窒素 2 kg 10a⁻¹、リン酸 4 kg 10a⁻¹、カリ 8 kg 10a⁻¹ を施肥した宇都宮大学附属農場に日本および世界のダイズミニコアコレクション計 176 系統を乱塊法(n = 2)で 6 月 28 日に播種し、栽培した。これら栽培個体を 3 葉期の 7 月 18 日にサンプリングし、根系を透明化しトリパンブルーで染色し、感染率を算出した。

4. 研究成果

実験 1. 根および AM 菌菌糸を定量化できる根箱手法の確立

全ての接種区の地上部乾物重と根表面積は非接種区に比べ大きく、特に、局所接種の地上部乾物重は他の処理区に比べ 5% 水準で有意に大きかった。これらの結果から、AM 菌の接種による効果を最大限にするには、局所接種が適していることが明らかになった。また、局所接種においては、接種した位置で根が繁茂する現象が認められた(図 1)。フィルターにトラップされた菌糸の定量化に挑戦したが、染色過程で菌糸が流れていくことがわかり、菌糸の定量化は断念した。

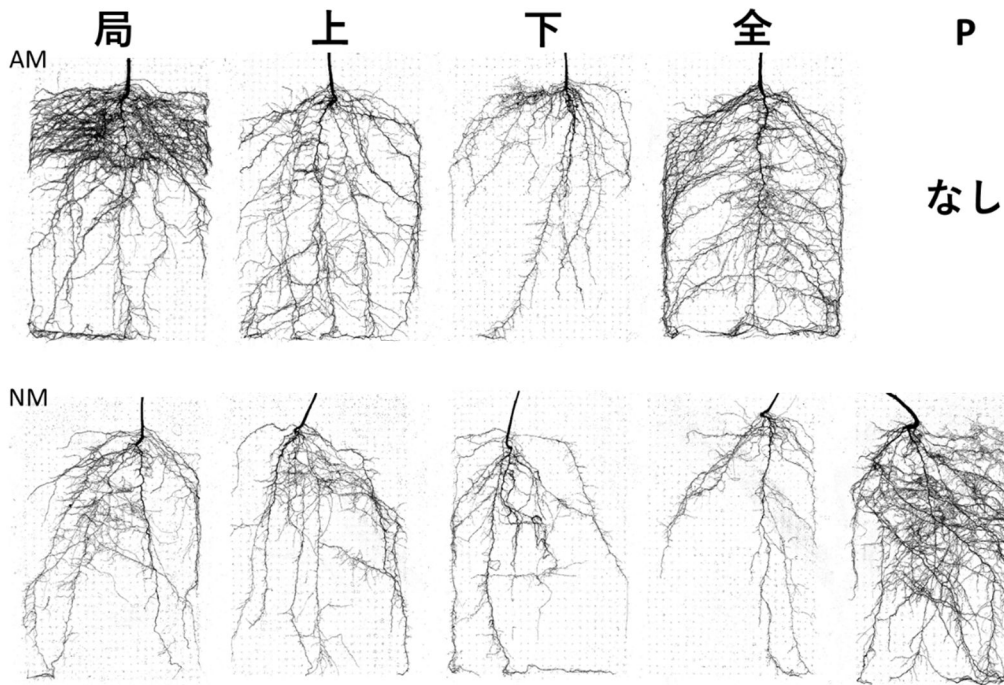


図1. AM菌接種位置およびリン酸施肥が根系分布に及ぼす影響. AM, 接種区; NM, 非接種区. 局, 局所接種区; 上, 上部混合接種区; 下, 下部混合接種区; 全, 全層接種区; P, 多P区.

実験2. 根箱を用いたMGRを決定する地下部形質の解明

MGRを決定する要因を調べるために、MGRと根表面積、感染率、養分吸収など全ての測定項目との関係を精査したが明瞭な傾向は認められなかった。

そこで、非接種区とAM菌接種区に分けて、形質間の関係を調べた。その結果、接種区と非接種区のそれぞれで、リン吸収量と地上部乾物重との間に有意な正の相関関係が認められた。また、非接種区の根表面積とリン吸収量との間の決定係数は0.675と高く、有意な正の相関関係が認められた。しかし、接種区では両形質間に有意な相関関係は認められたものの、決定係数は0.129と小さかった。そこで、感染率を含めて解析したところ、接種区においては、AM菌感染根長とリン吸収量との決定係数が0.569と高く、さらに、AM菌感染率と根表面積あたりのリン吸収量との決定係数は0.679と、さらに高かった。以上の結果から、品種に関わらず、非接種区のリン吸収量については根表面積で大部分を説明できるが、接種区のリン吸収量については根表面積のみではほとんど説明できず、AM菌感染率を計測する必要があることが明らかとなった。

実験3. ダイズコアコレクションのAM菌感染率の差異

実験2でAM菌接種区のリン吸収能をAM菌感染率が決定していることが明らかになったため、日本および世界のダイズコアコレクション全てを圃場で栽培し、生育初期のAM菌感染率

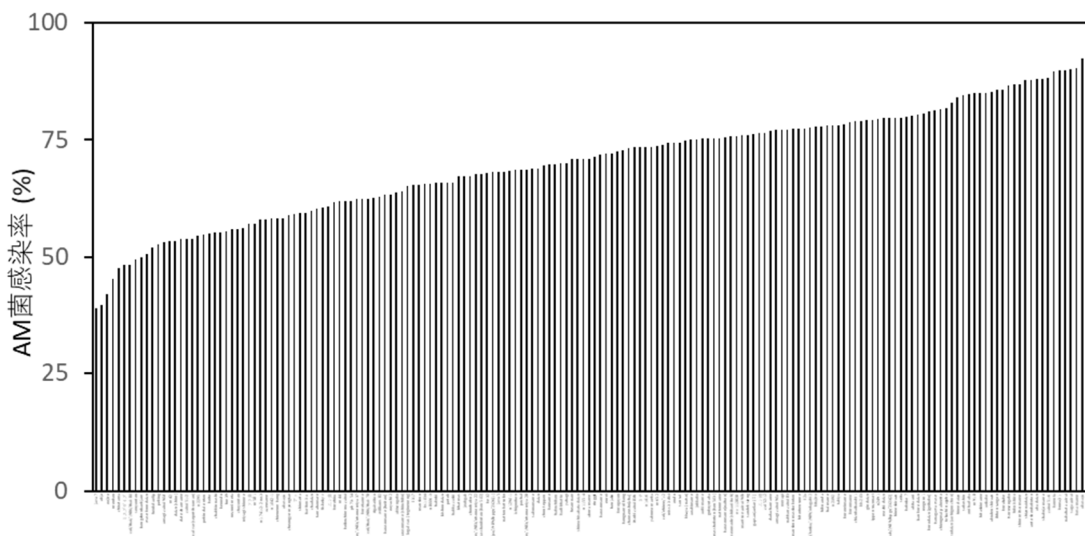


図2. 日本および世界のダイズコアコレクションのAM菌感染率. 2反復の平均を示す.

を調べた。その結果、日本および世界のダイズコアコレクションの AM 菌感染率は 38.8 から 93.2%まで分布していた。日本のダイズコアコレクションの感染率は 41.7 から 93.2%まで、世界のダイズコアコレクションは 38.8 から 87.7%まで分布していた。日本と世界のダイズコアコレクションの感染率の平均値はそれぞれ 74.4 と 65.6%であり、日本のほうが世界のダイズコアコレクションに比べ高い傾向にあった。

<引用文献>

神山ら, 2017, 根箱・ピンボード法に用いる根系採取装置の開発と利用法, 根の研究 26(4) 85-91.

Koyama et al., 2021, Complete root specimen of plants grown in soil-filled root box: sampling, measuring, and staining method, *Plant Meth.*, 17(1) 97.

Suematsu et al., 2017, Phenotypic variation in root development of 162 soybean accessions under hypoxia condition at the seedling stage, *Plant Prod. Sci.*, 20:3, 323-335, DOI: 10.1080/1343943X.2017.1334511

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 神山 拓也, 唐澤 敏彦	4. 巻 4
2. 論文標題 菌根サイズのリン吸収と生育を決定する地下部形質	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 1072-1075
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takuya Koyama, Shun Murakami, Toshihiko Karasawa, Masato Ejiri, Katsuhiko Shiono	4. 巻 17
2. 論文標題 Complete root specimen of plants grown in soil-filled root box: sampling, measuring, and staining method	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Methods	6. 最初と最後の頁 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13007-021-00798-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 宮田博光, 神山拓也
2. 発表標題 ダイズコアコレクションを用いた低リン耐性系統の選抜
3. 学会等名 第24回栃木作物・育種懇話会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永島春樹, 神山拓也
2. 発表標題 キチンナノファイバー施用による共生微生物を介したダイズ生育促進効果
3. 学会等名 第24回栃木作物・育種懇話会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神山拓也, 唐澤敏彦
2. 発表標題 菌根および非菌根サイズのリン吸収を決定する形質
3. 学会等名 第50回記念根研究集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koyama T., Murakami S., Hashimoto M., Yoshidome K., Arakawa Y., Karasawa T.
2. 発表標題 Non-destructive method for sampling, preserving, and analyzing soil-grown root systems
3. 学会等名 10th Asian Crop Science Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本叡信, 村上隼, 青木博光, 神山拓也
2. 発表標題 リン局所施肥に対するコムギ根系の時空間的応答
3. 学会等名 第54回根研究集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koyama T.
2. 発表標題 Visualizing the hidden half of plants
3. 学会等名 International Workshop on Optics, Biology, and Related Technologies 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橋本叡信, 青木博光, 村上隼, 林裕也, 成澤友香, 神山拓也
2. 発表標題 リン局所施肥によるコムギ根系の動態と地上部生育への影響
3. 学会等名 日本作物学会 253回講演会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

research map https://researchmap.jp/Takuya-K/?lang=ja

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関