

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K05996

研究課題名（和文）種子吸水性と冠水害の新規評価法に基づくダイズの種子冠水抵抗性の効率的評価法の確立

研究課題名（英文）Developing efficient evaluation method for pre-germination flood tolerance in soybean based on new evaluation method for seed imbibition and flood injury

研究代表者

萩原 素之（Hagiwara, Motoyuki）

信州大学・学術研究院農学系・教授

研究者番号：90172840

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）：複数の品種・系統の種子冠水抵抗性評価指標E/Aを比較する際、種子含水率の厳密な統一は不要で、裂皮粒は多くなければ除去不要である。また、貯蔵種子でのE/Aの品種間比較が可能で、E/Aを用いれば効率的な抵抗性評価が可能である。さらに、種子浸漬液の濁度は迅速測定可能な抵抗性評価指標であることが示されたため、E/Aと濁度の組合せは抵抗性の評価精度を高め、抵抗性品種の育成に貢献すると考えられる。同一品種でも小粒種子の抵抗性が優るのは種子内部の隙間が少ないためであると示唆された。また、黒ダイズの種皮に含まれるポリフェノール類が種子浸漬中の微生物増殖を抑制して冠水条件下の発芽改善に関わることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種子冠水抵抗性の評価指標としてE/Aは測定容易で、種子含水率の厳密な調整不要、裂皮粒もその頻度によっては除去不要であるなどを明らかにした。抵抗性評価には種子含水率調整が必須とされていたため、E/Aは実用性に優れる。また、迅速測定可能な種子浸漬液の濁度も抵抗性指標として利用可能であった。E/Aと濁度の組合せで抵抗性評価の精度向上と抵抗性選抜の効率化が期待でき、実用的な成果を得た。同一品種でも小粒の方が抵抗性が高いのは、種子内部に隙間がある頻度が低く、隙間があっても狭いためであることを明らかにした。播種用種子として大粒を除外すれば抵抗性の向上策になり得る。これは、早急な対策としての意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：When comparing the E/A, the resistance evaluation index, setting the seed water content of varieties used for evaluation to the same value is unnecessary. Removing seeds with cracks on the seed coat is also unnecessary if they are not abundant, and E/A can be compared among varieties using stored seeds. These results show that E/A enables efficient evaluation of resistance. Furthermore, since the turbidity of the seed soak solution was shown to be a rapidly measurable resistance evaluation index, the combination of E/A and turbidity will improve the accuracy of resistance evaluation and contribute to the breeding of resistant varieties. It was suggested that the better resistance of small seeds, even of the same variety, is due to the infrequent and narrow gaps inside the seeds. It was also suggested that polyphenols contained in the seed coat of black soybean were involved in improving germination under submerged conditions by inhibiting microbial proliferation during soaking.

研究分野：作物学

キーワード：ダイズ 粒大 発芽生長 吸水 種子内部の隙間 エバンスブルー 種皮 アリューロン層

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界的な和食ブームもあり世界的にダイズの需要が増加している。一方、我が国のダイズ自給率は低く、国産ダイズ生産の向上は重要と言える。我が国のダイズ生産の重要な阻害要因として播種後の梅雨の多雨で発芽と初期生長が不良となり減収する種子冠水害があり、海外でも問題となっている。種子冠水害抵抗性(以後、抵抗性)の品種開発には種子吸水特性の評価が重要であるが、抵抗性品種の開発は進んでいない。抵抗性品種の開発上の障害として、抵抗性の効率的な評価方法が確立されていないことがあり、簡便で迅速な方法の確立が求められている。

2. 研究の目的

本研究は、抵抗性に深い関わりのある種子吸水特性に関わる、ダイズ種子内への水浸透の難易の簡便な評価方法として研究代表者らが開発を進めてきた方法に加えて、新規の簡便迅速な評価方法を検討すること、および冠水害の新規評価法として、冠水条件で発芽した幼植物葉の光合成機能の評価を行うことを目的とした。また、これらの研究過程で得られる情報に基づいて、抵抗性に関与する作物学的要因についての知見の高度化を図るとともに、抵抗性の向上に寄与する要因の検討を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1)抵抗性の簡易評価指標 E/A の効率的取得：種子の吸水量(A)と吸水中断種子に乾燥処理を施した時の蒸発量(E)を測定して求めた E/A は、抵抗性と正の相関を示し、抵抗性の選抜指標として有用であることを研究代表者らは示してきた。本研究では、E/A が水抵抗性の簡便な評価指標として有用であることを種子含水率および種皮外観などについて従来より広い条件の下で再確認するとともに、種子含水率(9.0~15.0%)と種皮外観(裂皮やしわ)が E/A の値に影響するか否かを確認し、E/A を測定して抵抗性評価を行う場合に、測定対象種子試料の水分調整や種子選別を簡略化できるか検討する。また、種子の貯蔵期間が E/A に及ぼす影響も調べる。

(2)種皮の透水性の評価：種子の吸水特性には種皮の透水性と種皮より内部の子葉組織の吸水性の両者が関わるが、多くの場合、前者がより重要である。種皮の透水性や種子の吸水特性を迅速測定する全く新しい試みとして、測定試料表面の撥水性の測定に用いられる接触角計を用いる。種皮に滴下した微小水滴の接触角を計測して撥水性(すなわち透水性の低さ)を短時間内に測定する。

(3)種子冠水抵抗性の新規評価法：抵抗性の弱い品種の場合、種子浸漬中に浸漬液の腐敗がみられる。微生物増殖の簡便評価法として用いられている濁度を種子浸漬液について測定し、抵抗性との相関を調べ、種子浸漬液の濁度による抵抗性評価の可能性を検討する。

(4)抵抗性の生理的評価：冠水ストレスを与えた後に出芽した幼植物の葉の光合成の光化学系に冠水ストレスが及ぼす影響を、子葉と初生葉のクロロフィル蛍光測定で調べる。子葉と初生葉のクロロフィル蛍光特性の比較により、出芽後の初期生長の回復ポテンシャルの品種間差も検討する。

(5)種皮中のポリフェノール類が冠水条件での発芽に及ぼす影響：浸漬液中のポリフェノール類濃度と冠水条件での発芽との関係を調べる。

(6)種子の粒大変異が冠水抵抗性に及ぼす影響：種子粒大と吸水速度、浸漬時の子葉の細胞損傷(エバンスブルー染色)および種子の内部形態(種子の断面観察)との関係を解析する。

4. 研究成果

(1)冠水抵抗性の簡易評価指標 E/A の効率的取得：種子含水率が E/A の値に及ぼす影響は、抵抗性が高い品種では小さく、抵抗性が低い品種では含水率が高いと抵抗性が高い品種に比べて影響が大きくなった。一方、E/A の値と冠水条件下での発芽の関係には種子含水率の大きな影響はなく、E/A が 0.45 ないし 0.5 以上の品種では発芽良好であった。よって、種子含水率が 9.0~15.0% の範囲の種子サンプルを用いれば、E/A は種子含水率に左右されない種子冠水抵抗性の評価指標になると考えられる。

収穫後の種子貯蔵期間(2年間)が E/A に与える影響については、貯蔵により E/A の値は低下することを認めたが、E/A の品種間の大小の傾向は種子貯蔵によって変わらなかったため、貯蔵年数が同一であれば、貯蔵種子の E/A による抵抗性の品種間差の比較が可能と考えられた。また、2年の比較ではあるが、同一品種の E/A の年次変動は小さく、E/A は比較的安定した値を示すとみられた。

種皮外観(整粒・しわ・裂皮)が E/A に及ぼす影響については、しわ粒の E/A は整粒の E/A よりやや小さい値になるものの、両者の相関は強く、整粒としわ粒で冠水条件下の発芽に大差がなかったことから、E/A を測定する種子サンプル中のしわ粒は E/A による抵抗性の評価に影響しないと考えられた。一方、裂皮粒の E/A は整粒の E/A より小さかった。また、裂皮粒の E/A と抵抗性との関係は小粒品種で特に不明瞭であった。よって、小粒品種において E/A を抵抗性の評価指標とする場合、E/A を測定する種子サンプル中の裂皮粒の除去が必須と考えられる。一方、中大粒品種の場合は、裂皮粒における E/A の低下程度から判断して、裂皮粒の混入が 15%程度までであれば、測定される E/A の値への影響が小さいため、裂皮粒の除去は不要と考えられた。

(2)種皮の透水性の評価：種皮表面への微小水滴の滴下後 3 分までの接触角には品種間差が認め

られ、冠水条件での発芽率と有意な負の相関を示し、冠水抵抗性の迅速な評価法として有用である可能性が示された。しかし、接触角は E/A とは有意な相関を示さなかった。微小水滴落下から 5 分経過後までの接触角の減少にも品種間差がみられたが、接触角の減少程度は冠水条件下の発芽率および E/A と有意な相関を示さなかった。

(3)種子冠水抵抗性の新規評価法：72 時間浸漬後の種子浸漬液の濁度は、冠水条件での発芽率とは有意な負の相関、12 および 24 時間浸漬後の種子からのグルコース溶出量とは有意な正の相関を示し、種子浸漬に伴う種子からのグルコース溶出が浸漬液での微生物増殖を招くことが冠水条件下での発芽率低下に関わっていることが示唆された。種子浸漬液の濁度測定は抵抗性の簡便評価法として有用と考えられた。

(4)抵抗性の生理的評価：子葉と初生葉の LEF (電子伝達速度) と F_v' / F_m' (開いている光科学系 II における量子収率) に品種間差がみられたが、種子冠水処理は F_v' / F_m' に影響しなかった。短時間の種子冠水の場合、出芽後の幼植物の乾物生長は子葉と初生葉の LEF および F_v' / F_m' の値が高い品種で良好な傾向であったが、長時間の種子冠水の場合は光合成パラメータと出芽後の幼植物の乾物生長に明瞭な関係はなかった。24 時間の種子冠水の場合には、光合成パラメータの把握が幼植物の冠水害からの回復の良否の把握に繋がる可能性が示唆された。

(5)種皮中のポリフェノール類が冠水条件での発芽に及ぼす影響：抵抗性が低い品種の種子を浸漬する際に他品種の種皮粉末を浸漬液に加えることにより、浸漬液中のポリフェノール類濃度が冠水条件での発芽に及ぼす影響を調べたところ、ポリフェノール類の濃度(総ポリフェノール濃度、総アントシアニン濃度、総プロアントシアニン濃度)と発芽率に正の相関を認めた。また、黒ダイズの種皮粉末を浸漬液に添加した場合、種子浸漬による子葉組織の損傷が軽減された。さらに詳細な調査の結果、アントシアニンとプロアントシアニンの浸漬液中の濃度がそれぞれ一定以上になると冠水条件での発芽が改善されることが示された。種皮中のアントシアニンおよびプロアントシアニンは浸漬中の微生物増殖を抑制することにより冠水抵抗性を改善する可能性が考えられた。

(6)種子の粒大変異が抵抗性に及ぼす影響：同一品種における種子の粒大の違い(粒大変異)は冠水条件での発芽に有意な影響をもち、小粒の発芽が優れることを複数品種で認めた。また、抵抗性に及ぼす粒大変異の影響は黄ダイズの方が黒ダイズより大きいことが示唆された。黄ダイズの中粒～大粒品種では品種ごとに 100 粒重と冠水条件での発芽との間に有意な負の相関がみられた。黄ダイズでは小粒の方が初期吸水が緩やかであったことから、小粒の発芽が良好となる要因は初期吸水が緩やかであることと考えられた。粒大変異が吸水速度への影響を介して抵抗性に影響しているとみられたため、種子断面の形態と粒大変異の関係を調べた。その結果、小粒では子葉間および子葉と種皮の間の隙間がみられない、またはみられても隙間が狭いが、大粒では隙間のある粒が多く、隙間が広がった。また、大粒では種子浸漬による子葉組織の損傷の頻度が高く、損傷は上記の隙間に隣接した部位で起きていた。よって、小粒で抵抗性が高いのは、種子内部の隙間がない粒が多く、そのため吸水とそれに伴う子葉組織の損傷が抑制されるためであることが示された。よって、播種時に大粒を除くことは、品種改良に依らない抵抗性の向上対策になり得ることが示された。

以上の成果をまとめると、E/A は抵抗性の有用な評価指標であり、複数の品種・系統について評価する場合、評価対象種子の含水率を厳密に揃える必要はなく、裂皮粒が目立つほど多くなければ除去する必要はないため、種子選別などの事前準備を簡略化できる。また、2 年までの貯蔵種子で、貯蔵期間が同じであれば品種間比較が可能であり、効率的な抵抗性評価が可能と言える。さらに、種子浸漬液の濁度も抵抗性評価指標として有用と考えられる。市販の濁度計を用いれば濁度測定は E/A 測定よりも迅速かつ容易である。E/A による評価と濁度による評価を組合せることにより、抵抗性の評価精度は高まると考えられ、2 つの評価法の組合せは抵抗性向上のためのスクリーニングの効率化、ひいては抵抗性品種の育成に貢献すると考えられる。これらの 2 方法に比べると、種皮の撥水性は、抵抗性との関連は示唆されたが、種皮が相対的に平面に近い大粒種子を除くと精度の高い測定が容易とは言えず、撥水性測定の実用的利用価値は劣るとみられた。従来、小粒品種と黒ダイズ品種の抵抗性が高い傾向にあることが報告されていたが、その理由は明らかではなかった。本研究により、小粒種子の抵抗性が優る要因は種子内部の隙間が少なく、あっても狭いことにあることが示唆された。また、黒ダイズの種皮に含まれるポリフェノール類が種子浸漬中の微生物増殖を抑制して冠水条件下の発芽改善に関わることを示唆された。大粒種子を播種時に除外することで抵抗性を向上させられる可能性が示唆されたことは、品種を変更することなく生産現場で実施しうる抵抗性向上対策として実際の意義が大きい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井内 晴佳, 萩原 素之, 佐山 結花
2. 発表標題 同一品種でもダイズの過湿条件での発芽の良否は粒大により異なる
3. 学会等名 日本作物学会第256回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 萩原 素之, 小佐野 佑菜, 瀧川 康範, 井内 晴佳
2. 発表標題 黒ダイズ種皮は黄ダイズ種子の過湿条件下での発芽を改善する
3. 学会等名 日本作物学会第256回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井内 晴佳, 萩原 素之, 丹羽 菜月
2. 発表標題 ダイズの種子冠水抵抗性評価指標E/Aでの抵抗性評価では「しわ粒」の除去は不要
3. 学会等名 日本作物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 萩原 素之, 井内 晴佳, 丹羽 菜月
2. 発表標題 ダイズの種子冠水抵抗性評価指標E/Aによる抵抗性評価の効率化
3. 学会等名 日本作物学会第253回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丹羽 菜月, 萩原 素之, 濱渦 康範, 井内 晴佳
2. 発表標題 黒ダイズの種皮中のポリフェノール類がダイズの種子冠水抵抗性に与える影響
3. 学会等名 日本作物学会第253回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丹羽 菜月, 萩原 素之
2. 発表標題 ダイズの種子浸漬液の濁度測定による種子冠水抵抗性の簡易・迅速評価
3. 学会等名 日本作物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 萩原 素之, 上條 夏菜, 丹羽 菜月
2. 発表標題 ダイズの種子冠水抵抗性評価指標E/Aの経年変化および経年種子のE/Aと発芽生長の関係
3. 学会等名 日本作物学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------