

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：82104

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B））

研究期間：2019～2022

課題番号：19KK0154

研究課題名（和文）有望系統AZ-97とマダガスカルリン欠乏土壌を基盤とするイネのリン獲得戦略の解明

研究課題名（英文）Clarification of phosphorus uptake ability of rice variety AZ-97 under low phosphorus soil conditions in Madagascar

研究代表者

高井 俊之（Takai, Toshiyuki）

国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生産環境・畜産領域・主任研究員

研究者番号：40547725

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、リン欠乏土壌においても旺盛な生育を示すイネ品種「AZ-97」の(1)リン獲得メカニズムの解明と(2)遺伝要因の同定を目的として実験を行った。「AZ-97」は「IR64」に比較して、根から分泌されるクエン酸量やフォスファターゼ活性に差は無いものの、微生物のAlphaproteobacteriaが根圏で増加しており、「AZ-97」のリン獲得能に関与している可能性が示唆された。また、遺伝解析実験の結果、第1染色体長腕SD1領域に「AZ-97」型が生育初期の分けつ数およびバイオマスを増やすQTLを検出し、SD1がリン獲得能に関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アフリカでよく見られるリン欠乏土壌では、イネの収量が著しく低くなるため、そのような環境下でも生育が良好なイネが求められている。本研究では、AZ-97というイネ品種がリン欠乏土壌でも生育が良好であり、その要因として考えられる遺伝子座を検出した。本遺伝子座を育種で利用することにより、今後リン欠乏土壌でイネの収量を向上させることができるかもしれない。

研究成果の概要（英文）：The objectives of this study were (1) to elucidate the mechanism underlying efficient P acquisition under low P soils in AZ-97 and (2) to identify the genetic factors associated with the vigorous growth under low P soils in AZ-97. We found that the relative abundance of Alphaproteobacteria was higher in AZ-97 rhizosphere than in IR64, implying its contribution to the efficient P acquisition in AZ-97. Genetic analysis detected a QTL increasing tiller number and above-ground biomass with the AZ-97 allele on the long arm of chromosome 1 where SD1 gene was located, suggesting that SD1 may play a role in P acquisition in low P soils in AZ-97. A near-isogenic line for the QTL will elucidate if SD1 contributes to P acquisition and if SD1 is associated with Alphaproteobacteria.

研究分野：作物学

キーワード：イネ AZ-97 リン欠乏土壌 根圏 微生物 QTL

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アフリカ随一のコメ生産国であるマダガスカルをはじめ、アフリカの多くの国々では、アジアの国々と同様にコメが重要な主食の1つになりつつある。しかし、アフリカでは、イネの栽培の多くは小規模農家が担っており、高価な化学肥料を購入し施肥することが困難な状況にあり、肥料投入量はアジアに比べて極めて少ない。また、こうした低肥料環境向けの品種開発もほとんどみられず、依然としてアフリカのイネの収量は2.3t/haとアジアのイネ収量4.7t/haの半分以下に停滞している。2050年にはアフリカの人口が2倍になると予測されており、爆発的な人口増に伴うイネ需要のために、アフリカにおけるイネの増収は喫緊の課題である。

さらに重要な問題として、マダガスカルをはじめとするアフリカには窒素、カリと並ぶ植物の必須3要素の1つであるリンの利用性が低い強風化リン欠乏土壌が広く分布し、イネの生産性を阻害している(Saito et al. 2019)。一般にリン欠乏土壌では、イネの分げつ発生が著しく抑制され、穂数が減少することで収量が大きく減少する。こういった背景の下、申請者らはリン欠乏環境でも良好な生育を維持できるイネの遺伝資源を探索するために、マダガスカルの強風化リン欠乏土壌を用い、分げつの発生に焦点を当てて研究を進めてきた。その結果、マダガスカルの主力品種「X265」をはじめとする他品種では典型的なリン欠乏症状がみられる少量のリン施用条件でも、顕著に分げつ数・地上部乾物重を増加させるイネ系統「AZ-97」を見出した(Tsujimoto et al. 2020)。「AZ-97」では、地上部乾物重の増加に伴ってリン吸収量も増加しており、リン欠乏環境においても効率的にリンを吸収できる適応戦略を有していることが予測され、「AZ-97」がもつ効率的なリン吸収機構の解明と同系統を用いたイネ育種が、マダガスカルをはじめリン欠乏下に停滞するアフリカのイネ収量改善に向けた打開策の一つになると判断した。

2. 研究の目的

本研究は、アフリカに広がるリン欠乏土壌でも高い生産性を示す品種開発や栽培技術開発の基盤を構築することを目標とした。目標達成のために、マダガスカルの現地リン欠乏環境を基盤に「AZ-97」、「X265」および熱帯多収品種「IR64」を用いて、(1)リン欠乏環境における「AZ-97」の高いリン獲得能のメカニズムの解明、(2)少量リンでも生育が良好な「AZ-97」の遺伝要因の解明を研究の目的とした。

しかしながら、研究開始早々コロナ感染拡大の影響を受け、マダガスカル現地に渡航することが困難となったため、(1)に関しては、国内に存在するリン欠乏土壌を使用して国内実験に切り替えるなど、軌道修正を経て研究を行った。

3. 研究の方法

(1)「AZ-97」と「IR64」の2つの品種を茨城県つくば市の国際農林水産業研究センターのガラス温室内で栽培した。栽培には中央に仕切りを置き、左右で異なる土壌を入れることができるsplit-root boxを用いた。また、沖縄県石垣島の国際農林水産業研究センター熱帯・島嶼研究拠点で採取した低リン土壌を栽培に用いた。土壌リン濃度および土壌滅菌処理(ガンマ線処理)の有無の二つの条件を変え、次の4つの処理()左右:リン施肥土壌、()左右:リン無施肥土壌、()左:リン施肥土壌 右:リン無施肥土壌、()左:ガンマ線処理をしたリン施肥土壌 右:ガンマ線処理をしたリン無施肥土壌、で41-42日間栽培をした。リン以外の窒素およびカリウムは栽培期間中十分量入れた。栽培41-42日後に根からの滲出物分泌速度を求めた。その後、植物体を収穫し、バイオマスおよびリン吸収量を調べた。さらに、根圏土壌の微生物組成と、土壌リン画分濃度、ホスファターゼ活性についても調べた。

(2)「AZ-97」と「X265」を交配して得られたF₁個体を栽培し、F₂自殖種子を獲得後、130個体および182個体から成るF₂集団をマダガスカル国立農村開発応用研究センター付属温室(以下、マダガスカル)および茨城県つくば市の国際農林水産業研究センター付属水田圃場(以下、つくば)で栽培試験に供試した。マダガスカルでは、リン欠乏土壌を充填したポットに、NKを十分量、Pを若干量施用(N, P, K = 53, 8, 79 mg kg soil⁻¹)した後、F₂集団を1個体ずつ移植し、定期的に分げつ数を計測し、播種後74日目に地上部乾物重を得た。つくばでは、肥料を十分量施用(N, P, K = 48, 28, 27 kg ha⁻¹)した水田圃場にF₂集団を移植し、分げつ数等を定期的に調査し、成熟期に稈長・地上部乾物重を得た。得られた表現型データと遺伝子型データを用いてR/qtlソフトウェアでQTL解析を行った。また、検出したQTLの再現性とその効果を確認するために、ターゲットQTLに関する準同質遺伝子系統の育成に向けて「AZ-97」と「X265」両背景で戻し交配を進めた。

4. 研究成果

(1)ガンマ線処理をした土壌ではしていない土壌に比べて、「AZ-97」および「IR64」の植物体バイオマスおよびリン吸収量は減少しており(図1a,b)、土壌微生物の存在が植物の成長に大きく寄与していることが考えられた。その一方で、品種間の大きな差は見られなかった。

「IR64」ではガンマ線を照射して滅菌処理をした土壌では根圏土壌の微生物多様性は減少したのに対し、「AZ-97」では滅菌処理の有無にかかわらず、根圏土壌の微生物多様性は違いが見られなかった(図 2a)。微生物ごとの相対現存量を見ると、「AZ-97」の根圏土壌では「IR64」に比べ、Alphaproteobacteria が多いという結果が得られた。「AZ-97」では、イネ側のアプローチにより Alphaproteobacteria などが根圏で増加し、根圏土壌の微生物の多様性が維持されることが示され、これがリン獲得能を高めている可能性も考えられた。また、根からの有機酸分泌のうち、リンの溶解能力が高いとされるクエン酸分泌速度は、リン濃度が高い土壌で高い傾向が見られた(図 2b)。「AZ-97」と「IR64」ではリン濃度の高い場所でクエン酸を分泌し、より効率的にリン獲得に努めようとしている可能性が示唆されたが、これは品種間の違いは見られなかった。土壌中の可給態リン濃度、難溶性リン濃度、およびホスファターゼ活性、微生物バイオマスリン濃度の根圏効果は処理間差および品種間差も見られなかった。

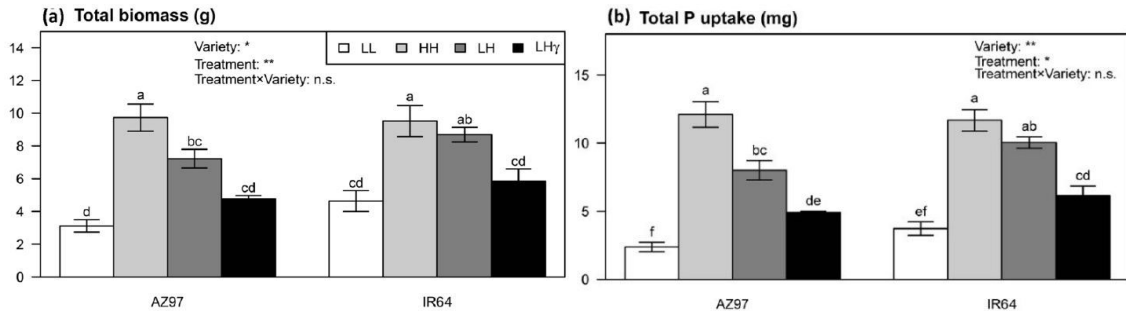


図 1. 41-42 日間栽培後の「AZ-97」と「IR64」の植物体バイオマス (a) とリン吸収量 (b)
 LL は)左右:リン施肥土壌、 HH は)左右:リン無施肥土壌、 LH は)左:リン施肥土壌
 右:リン無施肥土壌、 LH は)左:ガンマ線処理をしたリン施肥土壌 右:ガンマ線処理をしたリン無施肥土壌をそれぞれ示す。

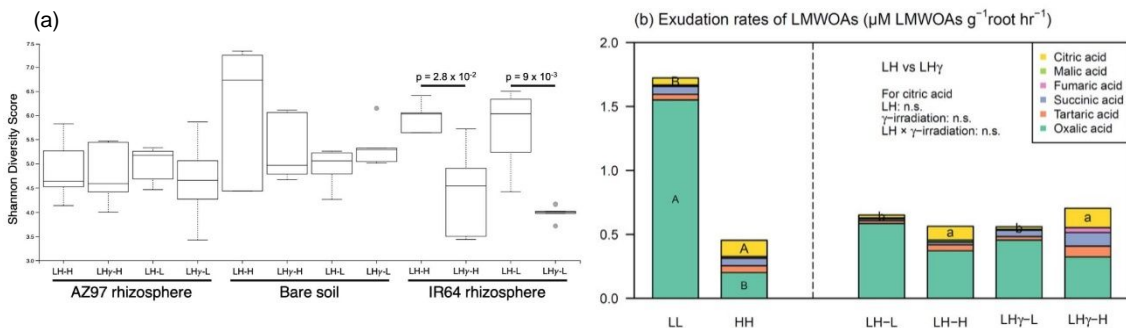


図 2. 41-42 日間栽培後の「AZ-97」と「IR64」の根圏土壌および非根圏土壌の微生物の多様性 (a) と処理ごとの細根からの有機酸分泌速度 (b)。有機酸は品種間の違いは見られず、データをまとめて示している。

(2) 「AZ-97」の分けつ数は両試験において生育初期から「X265」よりも多かった(図 3a, c)。マダガスカルの播種後 74 日目の地上部乾物重は「X265」よりも大きかったが、つくばの成熟期の稈長および地上部乾物重は「X265」が「AZ-97」を上回った(図 3b, d, e)。

QTL 解析の結果、両試験に共通して第 1 染色体長腕の半矮性遺伝子 *SD1* 近傍に「AZ-97」型で分けつ数を増加させる QTL を検出した(図 4)。同領域に地上部乾物重の QTL も検出されたが、マダガスカルでは「AZ-97」型、つくばでは「X265」型がそれぞれ地上部乾物重を増やす効果を有していた。この違いについて、地上部乾物重の調査時期が両試験で異なるため、ステージの違いが QTL の効果の違いに現れたのか、リン欠乏土壌環境特異的に「AZ-97」型がポジティブに働くのか 2 つの可能性が考えられた。

この問いに回答するために、今回検出した QTL に関する準同質遺伝子系統の育成を進め、ターゲット領域のみヘテロ型で遺伝背景は親品種に置換した個体を「AZ-97」背景 (BC₄F₁ 世代) および「X265」背景 (BC₅F₁ 世代) でそれぞれ選抜した。

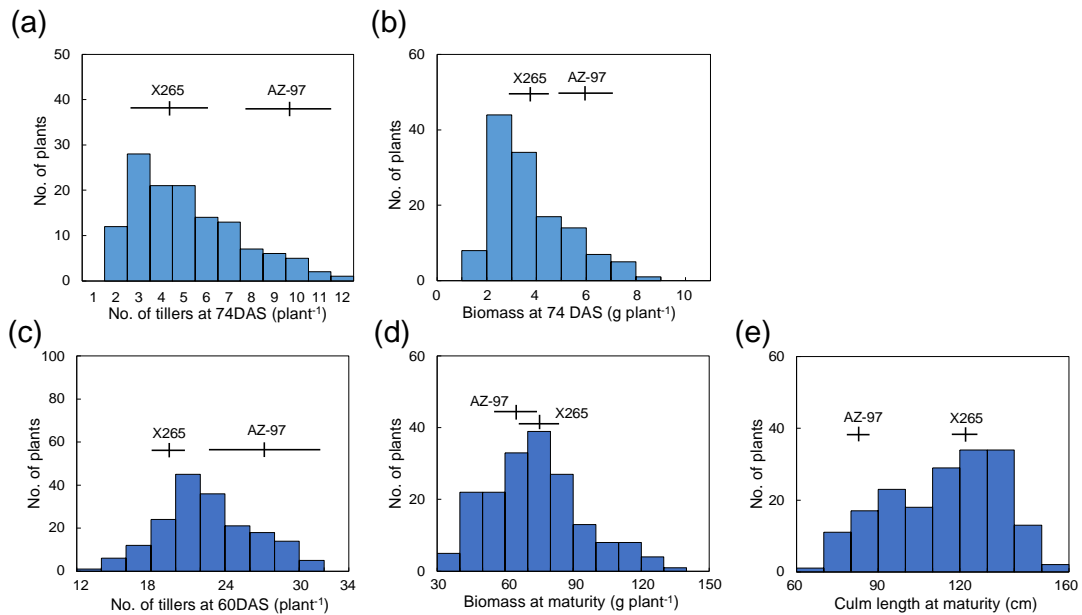


図 3. マダガスカル (a, b) およびつくば (c-e) で栽培した F₂ 集団の分けつ数 (a, c)、地上部乾物重 (b, d) および稈長 (e) の頻度分布

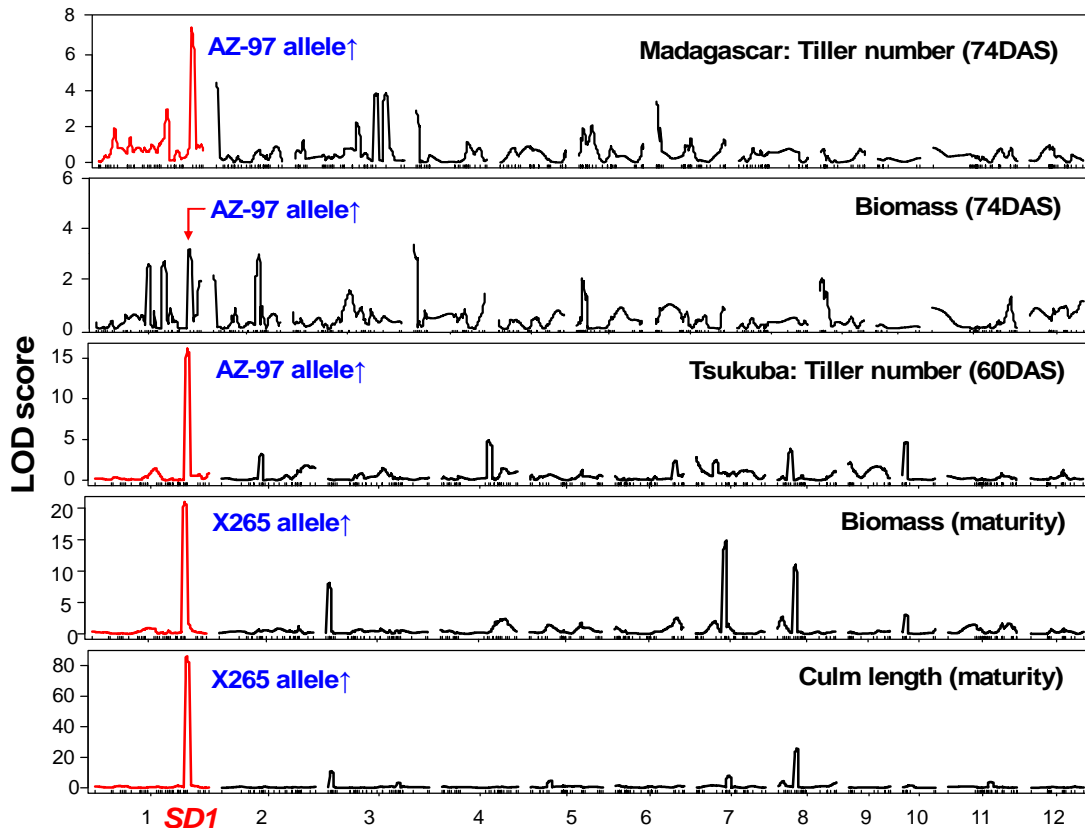


図 4. マダガスカルとつくばにおける AZ-97/X265 F₂ 集団を用いた QTL 解析結果

(3)「AZ-97」のリン獲得メカニズム解明実験では、「AZ-97」は「IR64」に比較して、根から分泌されるクエン酸量やフォスファターゼ活性に差は無く、バイオマス量やリン吸収量に顕著な差は見られなかった。本研究で用いた石垣島のリン欠乏土壌は、マダガスカルのリン欠乏土壌とは性質が異なっていたのか、また「X265」を比較品種として用いなかったために、顕著な品種間差が得られなかったのか、今後解決すべき課題として残すこととなったが、微生物の Alphaproteobacteria が「AZ-97」の根圏で「IR64」よりも増加していたことは、今後の研究に繋がると考えている。一方、遺伝研究によって「AZ-97」の旺盛な初期生育への関与が示唆された *SD1* は、稈長の制御に関わり緑の革命で活躍した遺伝子として知られるが、これまで窒素への反応に関する知見はあったが、リンへの反応に関する報告は著者の知る限り無い。本研究は、コロナ感染拡大の影響で進捗が遅れ、準同質遺伝子系統を研究実施期間内に完成させ、QTL の

効果が *SD1* によるものなのか明らかにすることはできなかった。しかしながら、*SD1* の新たな機能の発見に繋がる可能性を提示できた意味で、本研究は学術的にも興味深く、*SD1* がリン欠乏環境を対象とした育種にも利用できる可能性とともに、研究実施課題として最低限の成果を報告できたと考える。

< 引用文献 >

Saito, K., Vandamme, E., Johnson, J., Tanaka, A., Senthilkumar, K., Dieng, I., Akakpo, C., Gbaguidi, F., Segda, Z., Bassoro, I., Lamare, D., Gbakatchetche, H., Abera, B. B., Jaiteh, F., Bam, R. K., Dogbe, W., Sékou, K., Rabeson, R., Kamissoko, N., Mossi, I. M., Tarfa, B., D., Bakare, S. O., Kalisa, A., Baggie, I., Kajiru, G. J., Ablede, K., Ayeva, T., Nanfumba, D., & Wopereis, M. C. S. (2019). Yield-limiting macronutrients for rice in sub-Saharan Africa. *Geoderma*, 338, 546–554.

Tsujimoto, Y., Sakata, M., Raharinivo, V., Tanaka, J. P., & Takai, T. (2020). AZ-97 (*Oryza sativa* ssp. *Indica*) exhibits superior biomass production by maintaining the tiller numbers, leaf width, and leaf elongation rate under phosphorus deficiency. *Plant Production Science*, 24, 41–51.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 Mukai Mana, Hiruma Kei, Nishigaki Tomohiro, Utami Yuniar Devi, Otaka Junnosuke, Yoshihashi Tadashi, Sarr Papa Saliou, Oo Aung Zaw, Takai Toshiyuki, Tujimoto Yasuhiro	4. 巻 未定
2. 論文標題 Dysbiosis of the rhizosphere microbiome caused by γ -irradiation alters the composition of root exudates and reduces phosphorus uptake by rice in flooded soils	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant and Soil	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11104-022-05726-5	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高井俊之、Vivian Raharinivo、阪田光和、川村健介、辻本泰弘
2. 発表標題 イネ品種AZ97のリン欠乏土壌での良好な生育に関わる遺伝要因の解明
3. 学会等名 日本作物学会第255回講演会
4. 発表年 2023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
研究分担者	辻本 泰弘 (Tujimoto Yasuhiro) (20588511)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生産環境・畜産領域・主任研究員 (82104)	
研究分担者	西垣 智弘 (Nishigaki Tomohiro) (80795013)	国立研究開発法人国際農林水産業研究センター・生産環境・畜産領域・任期付研究員 (82104)	
研究分担者	川村 健介 (Kawamura Kensuke) (90523746)	帯広畜産大学・畜産学部・准教授 (10105)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	晝間 敬 (Hiruma Kei) (20714504)	東京大学・大学院総合文化研究科・准教授 (12601)	
研究分担者	阪田 光和 (Sakata Mitsukazu) (50843322)	高知大学・教育研究部総合科学系黒潮圏科学部門・講師 (16401)	

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		
マダガスカル	国立農村開発応用研究センター (FOFIFA)	アンタナナリボ大学放射線研究所	