

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月12日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05055

研究課題名(和文) サツマイモの高CO2応答特性

研究課題名(英文) Traits of sweet potato in response to high CO2

研究代表者

矢野 勝也 (Yano, Katsuya)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：00283424

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：サツマイモが高CO2環境下で高いバイオマス生産能を發揮することを私たちは見いだした。その原因を、1) エンドファイトによる窒素固定能、2) 肥大成長可能なシンク器官から解析した。サツマイモの窒素固定能を 15N値から推定したところ、ダイズに匹敵する個体からトウモロコシと同程度まで幅広いことを確認した。サツマイモ塊根を肥大できないように処理しても葉身デンプン濃度の増加や気孔コンダクタンスの低下は起きないこと、高CO2環境下のジャガイモでは、生育後期におそらく窒素欠乏による老化促進によって、バイオマス生産能が向上しなかったことから、シンク容量の柔軟性だけでは不十分であ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

大気CO2濃度の上昇を植物バイオマス生産能の向上にいかに関与するかが問われている。しかし、高CO2環境下における植物生産力の向上は期待よりも貧弱な場合が多い。この原因として、1) 窒素欠乏、2) 葉内での糖・デンプンの蓄積、の2点がしばしば指摘されてきた。サツマイモは高CO2環境下で高いバイオマス生産能を發揮するが、その原因として1) エンドファイトによる窒素固定能、2) 肥大成長可能なシンク器官が糖・デンプンの葉内蓄積を抑制するのではないかと考えた。本研究の結果、イモのような柔軟なシンク容量を具えるだけでは不十分であり、それに加えて窒素欠乏を回避することが必要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have previously found that sweet potato plants demonstrated high biomass production capacity under high CO2 environment. The cause was analyzed from 1) nitrogen fixation ability by endophytes, 2) secondary growth of tuber making sink capacity flexible. The nitrogen-fixing ability of sweet potato was estimated through the 15N analysis, showing a greater variation similar to that by soybean to corn. Treating the sweet potato tuberous root so as not to enlarge does not cause an increase in leaf starch concentration or a decrease in stomatal conductance. Moreover, in potato plants with high CO2 environment, the biomass production ability did not increase due to aging promoted probably by nitrogen deficiency at later growth stage. These results suggest that the flexibility of sink capacity alone is not enough to enhance biomass under elevated CO2.

研究分野：作物生態生理学

キーワード：CO2 バイオマス サツマイモ ジャガイモ 窒素固定 エンドファイト リン

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

大気CO₂濃度の上昇を植物バイオマス生産能（=CO₂回収能）の向上にいかんにか活用するかが問われている。しかし、高CO₂環境下における植物生産力の向上は期待よりも貧弱な場合が多い。この原因として、高CO₂環境に遭遇した植物が短期的に高い光合成能を発揮しても、長期的には光合成能が低下する“CO₂順化”の問題が指摘されている。このCO₂順化を回避して、植物バイオマス生産能をいかに強化するかが重要な課題である。

例えば、屋外半開放系CO₂濃度上昇実験でコムギを育成した私たちの結果では、CO₂濃度が倍増してもバイオマス生産・収量の増加は1.2倍程度の微増にとどまった。ところが、同様の実験をサツマイモで試みたところ、CO₂濃度の倍増でバイオマス生産・収量が1.7倍も増加した。この結果は、コムギと比較してサツマイモがCO₂順化を引き起こしにくいことを示唆している

CO₂順化の原因として、1) 窒素欠乏、2) 葉内での糖・デンプンの蓄積、の2点がしばしば指摘されてきた。コムギにはないサツマイモの特性として、1) に対してはサツマイモ体内に共生する細菌（エンドファイト）による窒素固定が貢献したかもしれない（図1）。事実、私たちの得た結果では、窒素施肥量を増やしてもサツマイモの応答は変化せず、地上部窒素濃度も同様であった。しかも、植物体の窒素安定同位体比（¹⁵N/¹⁴N）のδ¹⁵N解析の結果から、このサツマイモはダイズの半分程度の窒素固定能を発揮したと推測された。2) に関しては肥大成長できる塊根が葉内の炭水化物蓄積の緩和に寄与した可能性がある。

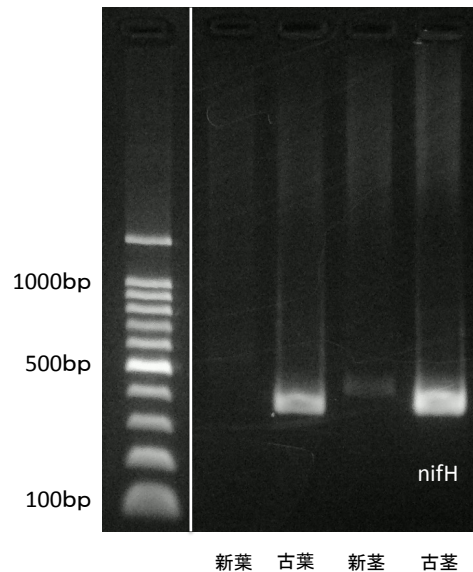


図1 サツマイモ体内で検出されたエンドファイト細菌 *nifH* 遺伝子。

2. 研究の目的

なぜサツマイモは高CO₂で高いバイオマス生産能を発揮できるのか、その理由を探ることが本研究の目的である。そのための作業仮説として、1) エンドファイトによる窒素固定能、および2) シンク器官であるイモのシンク容量可変性がCO₂順化の回避に関与するかを検証した。もし1) が重要ならば、窒素固定能を持たない他のイモ類（ジャガイモなど）では高いバイオマス生産能は期待できない。また、サツマイモでもエンドファイトを除去した個体ではCO₂順化が起きやすくなるかもしれない。もし2) が重要であるならば、サツマイモに限らず他のイモ類でも高CO₂で高いバイオマス生産能が期待できる。さらに、イモが肥大成長できないような処理を施してやれば、その特性が失われるだろう。これらの検証から、サツマイモが高CO₂で高いバイオマス生産能を発揮できる理由を解明する。

3. 研究の方法

オープントップチャンバー（図2）を用いてCO₂濃度2段階（約400、800ppm）を設定し、サツマイモを土耕栽培した。約1ヶ月育成後、土壌から根系を丁寧に抜き取り、各処理区内の半数には肥大を始めたイモに肥大抑制する金網を取り付けてから再びポットに根系を戻して土壌を充填した（図2）。残りの半数は金網を取り付けずに同様の手順でポットに戻した。

週に一度、最上位展開葉の気孔コンダクタンスをポロメータで測定しつつ、葉の一部をサンプリングし、デンプン濃度を測定した。約4ヶ月生育させた後に収穫し、地上部・地下部乾物重・イモ収量・窒素濃度を調査した。また、エンドファイトによる窒素固定能推定のために、同位体比質量分析計でδ¹⁵N値を調査した。

同様に、窒素固定能を持たないジャガイモを供試し、異なるCO₂濃度（約400、800ppm）下で応答を調査した。

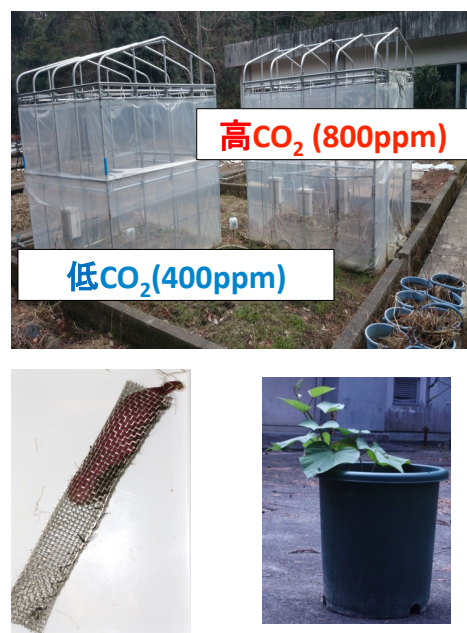


図2 屋外オープントップチャンバー（上）、塊根肥大制限処理（下）。

4. 研究成果

サツマイモ体内からエンドファイト細菌を単離し、ニトロゲナーゼ遺伝子 (*nifH*) を有する系統を複数同定した。その中で、16S rRNA の部分配列に基づき *Klebsiella oxytoca* と同定されていた細菌系統を調査した。この系統が窒素固定能を有することをアセチレン還元法で確認し、無窒素培養条件下でも生育可能なことを認めた。また、この系統の全ゲノム配列を解析したところ、以前サトウキビから単離された細菌 *Kosakonia sacchari* の SP1 系統に最も近縁であることが判明した。サツマイモウイルスフリー苗を入手して解析した結果、エンドファイトが存在していることを認め、抗生物質を含む培地で継代培養してエンドファイトフリー個体の作成を試みたが、完全に排除することは困難であった。

異なる CO₂ 濃度 (約 400ppm・800ppm) に設定したオープントップチャンバーにおいて、窒素施肥レベルを2段階 (低・高) 設けてサツマイモの土耕栽培を実施した。高 CO₂ 環境でサツマイモの全バイオマスおよび塊根収量は有意に増加したが、窒素施肥レベルでは変化を確認できなかった (図3)。また、CO₂ 濃度や窒素施肥レベルは地上部窒素濃度を変化させなかった (図3)。植物体 δ¹⁵N 値を比較すると、トウモロコシよりもサツマイモの値が低く、より大気窒素の δ¹⁵N 値に近いことからサツマイモが窒素固定していたことが推定された。

サツマイモの塊根肥大を抑制することで、高 CO₂ 環境に対する応答が変化するかどうかを調査した。異なる CO₂ 濃度 (約 400ppm・800ppm) に設定したオープントップチャンバーにおいて、サツマイモの土耕栽培を実施した。苗を植え付けてから約1ヶ月後に、すべての個体を一度ポットから取り出し、半数の個体には塊根に金網を取り付けてからポットに埋め戻した (塊根肥大制限処理有り)。また、残り半数の個体の塊根には金網を取り付けずにポットに戻すことを行った (塊根肥大制限処理無し)。生育が進むにつれて、低 CO₂ に比べて高 CO₂ 環境は気孔コンダクタンスを低下させたが、塊根肥大制限処理の有無が気孔コンダクタンスに与える影響は小さかった。同様に、高 CO₂ 環境は葉身のデンプン蓄積を増大させたが、塊根肥大制限処理の影響は小さかった (図4)。塊根肥大処理開始後約3ヶ月目にサンプリングしたところ、塊根肥大制限処理によって塊根重量は特に高 CO₂ 環境下で大きく低下した (図5)。そして、個体全体の乾物重も塊根肥大制限処理によって有意に低下した。これらの結果から、塊根肥大が高 CO₂ 環境に対するサツマイモの応答にある程度の役割を果たすこと、ただし塊根肥大制限処理は葉身デンプン濃度の増加や気孔コンダクタンスの低下を必ずしも生じさせないことが判明した。塊根肥大制限処理は新葉の発生を促進しており、これが気孔コンダクタンスや葉身デンプン含量にも影響した可能性もある。

もし CO₂ 順化の回避にイモ (容量可変的なシンク器官) が重要ならば、サツマイモ同様ジャガイモでも CO₂ 倍増で高いバイオマス生産能を確認できるだろう。そこで、ジャガイモを対象に高 CO₂ 環境に対する応答をグロースチャンバー内で約1ヶ月間の栽培期間で調査した。その結果、リン施

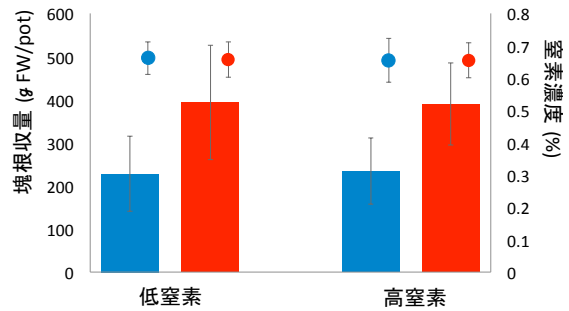


図3 窒素施肥量が塊根生産 (棒) および地上部窒素濃度 (点) に与える影響. 青は低 CO₂ (400ppm)、赤は高 CO₂ (800ppm) 環境を示す.

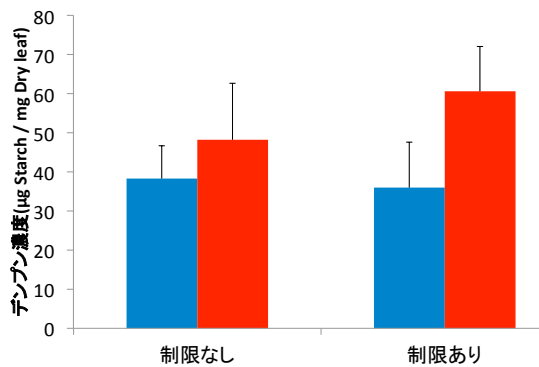


図4 塊根肥大制限が葉身デンプン濃度に与える影響. 青は低 CO₂ (400ppm)、赤は高 CO₂ (800ppm) 環境を示す.

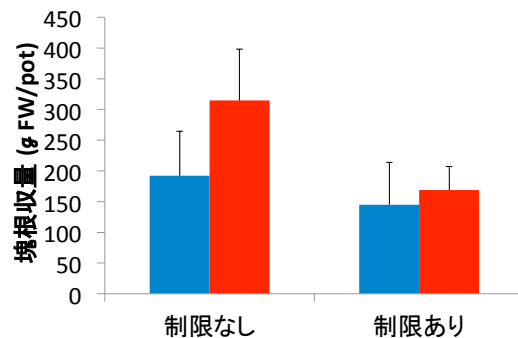


図5 塊根肥大制限が塊根生産に与える影響. 青は低 CO₂ (400ppm)、赤は高 CO₂ (800ppm) 環境を示す.

肥レベルに依存して、CO₂倍増で最大1.5倍のバイオマス増を達成できた。バイオマス生産能は植物個体の積算蒸散量と水利用率の積で表現できるが、高CO₂環境は積算蒸散量をほとんど変化させないで、水利用率を大きく向上させており、この水利用率の増加が高CO₂環境下でのバイオマス生産増に貢献したことが判明した。いずれのCO₂環境下でもリン欠乏状態は気孔コンダクタンスを増加させる一方で、高CO₂環境では低CO₂環境よりも気孔コンダクタンスは常に低くなった。この気孔コンダクタンスの変動が水利用率に大きく影響したと推察される。また、リン栄養状態が十分な場合には低CO₂環境よりも高CO₂環境の方が葉身デンプン蓄積量は多かったが、リン欠乏状態ではCO₂環境による違いは小さくなった。葉身のリン濃度とデンプン濃度には負の相関があり、葉身のデンプン蓄積を抑制して“CO₂順化”を回避する上で、葉身リン濃度の関与が示唆された。

上記の短期間のグロースチャンバー実験を踏まえて、屋外オープントップチャンバーで長期間の栽培実験を行った。その結果、短期間のグロースチャンバー実験とは異なり、高CO₂環境はジャガイモのバイオマス生産能を向上させなかった。特に、高CO₂環境のジャガイモで老化が促進されて生育期間が短縮される傾向が認められ、窒素欠乏の可能性が疑われた。このような老化促進はサツマイモでは確認されなかったことから、高CO₂環境下でバイオマス生産能を向上させるには肥大成長可能なイモの存在だけでなく、老化促進を抑制するために窒素栄養を満たす必要があることを示唆する。高CO₂環境下優れたバイオマス生産能をサツマイモが発揮するのは、可變的に拡大できるシンク器官（イモ）に加えて、エンドファイトによる窒素固定能が果たす役割が大きいと推察した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

- ① Shinjo R, Uesaka K, Ihara K, Sakazaki S, Yano K, Kondo M, Tanaka A. Draft genome sequence of *Burkholderia vietnamiensis* strain RS1, a nitrogen-fixing endophyte isolated from sweet potato, *Microbiology Resource Announcements*, 査読有, 7, e00820-18, 2018
DOI: 10.1128/MRA.00820-18
- ② Okamoto K, Yano K. Al resistance and mechanical impedance to roots in *Zea mays*: Reduced Al toxicity via enhanced mucilage production, *Rhizosphere*, 査読有, 3, 60-66, 2017
DOI: 10.1016/j.rhisph.2016.12.005
- ③ Sisaphaithong T, Hanai S, Tomioka R, Kobae Y, Tanaka A, Yano K, Takenaka C, Hata S. Varietal differences in the growth responses of rice to an arbuscular mycorrhizal fungus under natural upland conditions, *Plant Signaling & Behavior*, 査読有, 12, e1274483, 2017
DOI: 10.1080/15592324.2016.1274483
- ④ Shinjo R, Uesaka K, Ihara K, Loshakova K, Mizuno Y, Yano K, Tanaka A. Complete genome sequence of *Kosakonia sacchari* strain B0-1, an endophytic diazotroph isolated from a sweet potato, *Genome Announcements*, 査読有, 4, e00868-16, 2016
DOI: 10.1128/genomeA.00868-16.

〔学会発表〕(計 6 件)

- ① Yi Y, Yano K. Interaction between P supply and elevated CO₂ on biomass production and water-economy of potato. 第246回日本作物学会講演会, 2018年9月5日 - 6日
- ② 村瀬志織, 吉田篤司, 矢野勝也. 高CO₂環境下における土耕ダイズのリン施肥反応. 第246回日本作物学会講演会, 2018年9月5日 - 6日
- ③ Loshakova K, Tanaka A, Shinjo R, Yano K, Kondo M. Effect of diazotrophic endophytes on growth in sweet potato. 日本作物学会第244回講演会, 2017年9月14 - 15日
- ④ 新庄莉奈, 田中愛子, 矢野勝也, 近藤始彦. 土壌の減菌がサツマイモの生育と窒素固定能へ及ぼす影響 - 作付履歴の異なる土壌間での比較 -. 日本作物学会第244回講演会, 2017年9月14 - 15日
- ⑤ 新庄莉奈, 田中愛子, 矢野勝也, 近藤始彦. 窒素固定エンドファイト *Burkholderia vietnamiensis* の分離とイネへの生育促進効果. 土壌肥料学会中部支部会, 2017年3月2日
- ⑥ Shinjo R, Tanaka A, Yamakawa H, Uesaka K, Fujita Y, Ihara K, Yano K. Isolation and characterization of novel diazotrophic *Burkholderia vietnamiensis*. 第4回アジア植物共生窒素固定学会, 2016年10月16日

〔図書〕(計 1 件)

矢野勝也 他, 朝倉書店, リンの事典, 2017, 344

〔その他〕

ホームページ等

<https://sakumotsu.wixsite.com/nu-crop-science>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：近藤始彦

ローマ字氏名：KONDO Motohiko

所属研究機関名：名古屋大学

部局名：大学院生命農学研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：00355538

研究分担者氏名：田中（竹本）愛子

ローマ字氏名：TANAKA (TAKEMOTO) Aiko

所属研究機関名：名古屋大学

部局名：大学院生命農学研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：90464148

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。