

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05599

研究課題名（和文）ダイズの低リン耐性を向上する生理学的機序：生育相別のリン獲得・利用機構の基盤構築

研究課題名（英文）Evaluation of soybean tolerance to low phosphorus in soil using soybean germplasm collection

研究代表者

松村 篤（Matsumura, Atsushi）

大阪府立大学・生命環境科学研究科・講師

研究者番号：30463269

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：多くの研究者が共通して利用できるダイズコアコレクションを用いてダイズのリン栄養に関する情報を集積することを目的とした。本研究では、ダイズのリン獲得に関与する根系構造の変化、ダイズのリン吸収を促進するアーバスキュラー菌根菌との共生、難溶性リンの利用能などの諸形質について世界のダイズコアコレクション内での品種間差異を明らかにし、各形質に関して有望と思われる品種を特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有限な資源であるリン鉱石を原料とするリン肥料は今後も世界的な需要拡大が見込まれ、将来の供給不足が懸念されている。本研究ではダイズを対象として多様な遺伝資源を含むコアコレクションを用いて様々なリン獲得戦略の品種間差異やそのメカニズム解明に努め、数品種ではあるが有望系統を選抜することができた。遺伝子導入技術が急速に発展している中、本研究結果はリン栄養に関するダイズ育種に貢献すると思われる。

研究成果の概要（英文）：Growth and phosphorus (P) efficiency of soybean genotypes (mini core collections) was compared by focusing various P acquisition strategies such as root structure, symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi, utilization of sparingly soluble P. The P-efficient genotypes in each P acquisition strategy were selected in this research.

研究分野：作物学

キーワード：ダイズ 遺伝資源 リン吸収 根系構造 アーバスキュラー菌根菌 難溶性リン

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

リン肥料の原料となるリン鉱石の枯渇が懸念されて久しいが、近年リン肥料価格は確実に上昇傾向にある。世界人口の増加やバイオ燃料用の作物生産の推進はさらなるリンの需要拡大を示唆するものであり、我が国をはじめリン資源がない国々に大きな影響を与える。現在様々な作物を対象にリンの効率的吸収・利用に関わる遺伝子の同定や低リン耐性植物の作出に関する研究が国内外で取り組まれている。ゲノム編集をはじめ遺伝子の改良技術やゲノム解析技術が進展している中、ダイズにおいて低リン耐性の付与につながる諸形質を明らかにし、有望な育種素材を探索することは重要な課題である。

2. 研究の目的

本研究では低リン耐性に関与する多様な遺伝子群が存在すると予想される世界のダイズコアコレクションの中から有望系統を見つけ出す。さらに、リン獲得能の評価は、単に植物体のリン吸収量だけに着目するのではなく、種子内養分の依存時期および栄養生長期における根系の低リン応答反応や難溶性リンの溶解に関わる有機酸の分泌、菌根共生を介したリン獲得など多様な視点に着目して研究に取り組む。各形質について系統間差異を明らかにし、リン吸収量に対する各形質の寄与度を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

3-1. 根系構造からみたダイズの低リン応答性: 幼若期および栄養成長期における異なるリン施肥条件下での生育変化とその品種間差について調査を行い、特徴的な品種を選抜した。

実験 1. 初生葉展開期までの低リン応答とその品種間差

リン酸二水素カルシウムを施肥する +P 区と、リンを施肥しない - P 区の 2 処理区を設けた。窒素、カリウム、カルシウムの条件は両処理区で同量となるように調整した。人工気象器内で全 79 品種を生育させ、播種後 10 日目前後にあたる初生葉展開期に両処理区における地上部の生育と根系の形態について調査を行った。

実験 2. 開花期までの低リン応答とその品種間差

処理区は +P 区と - P 区の 2 処理区とし、世界のダイズコアコレクション 74 品種を 1/5000 a ワグネルポットで栽培し開花期に各品種の生育を処理区間で比較した。

3-2. ダイズにおける難溶性リン利用能の品種間差異と低リン応答関連形質との関係: 世界のダイズミニコアコレクションを供試材料に用いて、難溶性リン利用能の品種間差異を評価し低リン応答関連形質との関係性を調査した。

世界のダイズコアコレクションの内 79 品種と日本の主要品種であるフクユタカを供試品種として用いた。川砂とバーミキュライトを混合した土を供試土壌として栽培を行った。可溶性リン区(Control 区)と難溶性リン区(AIPO₄区)の 2 処理区を設け、他の肥料成分は、両処理区で同量に調整した。リン利用能の指標として地上部乾物重の相対値(AIPO₄区/Control 区)について品種間差異を調査した。

3-3. アーバスキュラー菌根菌接種効果の品種間差異とその機作の解明: AM 菌接種効果の品種間差異がダイズに存在するかを調査するため、本学附属教育研究フィールド内のビニールハウスにおいて 2019 年にスクリーニング試験を実施した。供試品種として世界のダイズミニコアコレクション 80 品種と日本の品種であるフクユタカおよびエンレイを用いた。滅菌した赤玉土とバーミキュライトを 2 : 1 の割合で混合し、リン酸二水素カリウムを 12 mg P/kg soil となるように施肥した低リン土壌を 1.2 L ポットに充填した。AM 菌を接種する接種区と接種しない非接種区の 2 処理区を設け、各品種 3 反復ずつ栽培を行った。AM 菌接種効果の判断には MGR という指

標を用いた。これは AM 菌接種による総乾物重の変動を表し、 $\{(\text{接種区の総乾物重} - \text{非接種区の総乾物重}) / \text{非接種区の総乾物重} \} \times 100 (\%)$ で算出した。

4 . 研究成果

4-1. 根系構造からみたダイズの低リン応答性 :

実験 1 全品種を対象として - P 区と +P 区間で比較した結果、地上部乾物重をはじめ多くの調査項目において有意な差は認められなかったが、主根長のみ - P 区で有意に減少した。次に、+P 区の各調査項目と種子重について相関解析を行った。多くの調査項目において有意な相関関係が見られた。特に地上部乾物重と種子重の相関係数は 0.8 以上であり、強い正の相関関係にあった。低リン条件下での根系の応答反応を評価した結果、'Seita' と 'COL/PAK/1989/IBPGR/2326(1)' は - P 区で根の乾物重を増大させる応答を示した。また、'L2A' と 'Bhatmas' は根の乾物重に処理区間の相違は見られなかった一方で、側根数と主根長がリン無施肥区で増加したことからリン欠乏条件に反応して根の分布を変化させた。初生葉展開期というごく初期の生育段階でもダイズの一部の品種は土壤中のリン濃度の高低を感知して地下部の形態を変化させることが明らかとなった。

実験 2 全品種において - P 区で有意に生育が抑制されたが、その抑制の程度は品種間で異なっていた。すなわち、地上部乾物重では - P 区/+P 区の相対値が 0.06 から 0.60 の範囲で分布し、地下部乾物重では 0.18 から 0.87 の範囲で分布した。

地上部乾物重と種子重との相関を調査した結果、+P 区では相関が見られなかった一方、- P 区では有意な正の相関が見られた。初生葉展開期までの生育とは違い、適度なリン条件下では開花期までの地上部の生育に種子重との関連はないが、低リン条件下では開花期までの地上部の生育も種子内の養分に依存していることが考えられる。また、地上部乾物重の - P/+P 比と種子重とも有意に正の相関が見られた。したがって種子重が大きいほど低リン耐性が高い傾向にあると考えられる。

本研究で選抜された品種に関して、各品種の低リン耐性との関連性についてさらなる調査が必要である。初生葉展開期で選抜された品種群は低リン条件を他品種よりも素早く検知し、根を発達させた。この形質は土壤中のリンを効率よく吸収する能力であるリン獲得効率につながる可能性がある。一方、開花期で低リン耐性が高いと選抜された品種群は、- P 区でも地上部と地下部の乾物重の両方の減少が他品種よりも抑えられていたことから、少ないリンでも多くの乾物を生産できる能力であるリン利用効率と関連があるかもしれない。今後は選抜された各品種の形質を詳細に調査するとともに、低リン耐性との関連を調査する必要がある。

4-2. ダイズにおける難溶性リン利用能の品種間差異と低リン応答関連形質との関係 :

地上部乾物重の相対値は品種間差異が確認され、最小 0.3 から最大 3.6 の範囲で連続的に分布していた。このことから、リン利用能には多様な遺伝的要素が関係していたと考えられ、遺伝的要素を網羅するコアコレクションの正当性が証明された。'GmWMC108'、'GmWMC186'、'GmWMC188' の 3 品種はリン利用能が高い品種、日本の主要品種である'フクユタカ'、'エンレイ' の 2 品種はリン利用能が低い品種とした。

選抜した品種を用いて、低リン応答関連形質として、根乾物重、根のクエン酸濃度、地上部リン含有量を調査した。根乾物重と根のクエン酸含有量は、地上部乾物重と同様に'GmWMC108'、'GmWMC186'、'GmWMC188' が Control 区と比較して AIP_{0.4}区で高くなり'フクユタカ'と'エンレイ'では低くなる傾向にあった。また、地上部リン含有量は'GmWMC108'と'GmWMC188'で高く

なり、‘フクユタカ’と‘エンレイ’では低くなる傾向にあった。すなわち、リン利用能が高い品種は良好な根の発達とクエン酸合成量の上昇によってリン吸収を促進させたと考えられる。

4-3. アーバスキュラー菌根菌接種効果の品種間差異とその機作の解明：

全体的な傾向として、AM 菌接種によって生育は向上した。MGR は最小 - 40.5%から最大 247.9%の範囲で分布しており、AM 菌接種効果には品種間差異が確認された。また、GmWMC191、GmWMC190、GmWMC176をAM 菌接種効果が高い品種、GmWMC142、GmWMC182、GmWMC019をAM 菌接種効果が低い品種として選抜した。

AM 菌接種効果の品種間差異が生じる機作を解明するために、MGR と各品種の乾物重、種子重およびAM 菌感染状況を比較した。まず、非接種区の地上部乾物重とMGRの間には負の相関がみられた。このことから、低リン条件下でAM 菌共生以外のリン獲得戦略を用いて生育を維持できる品種は接種効果が低く、植物体経由のリン獲得戦略が発達していない品種はAM 菌接種に依存するというトレードオフが存在する可能性が示唆された。また、初期生育では種子中のリンが用いられるため、種子重が大きい品種は低リン耐性が高い可能性がある。しかし、本研究ではMGRと種子重の間に相関は見られなかったことから、種子重はMGRに影響しないことが示唆された。AM 菌は植物根に感染すると主に内生菌糸、樹枝状体や嚢状体を根内に形成する。これらの構造が多く形成され、発達した感染状況であれば、AM 菌と植物体間での養分輸送が活発に起こり、接種効果も高くなると報告されている。そこで、選抜品種の根におけるAM 菌構造の存在率を示すAM 菌感染率やAM 菌の共生器官である嚢状体の形成率を計測したが、MGRとの間に関連性は認められなかった。よって、感染の状況が直接的にMGRへ影響を与えている可能性は低い。

AM 菌と共生したダイズはAM 菌からリンを受け取るための菌根依存型リン酸トランスポーター遺伝子とAM 菌に糖を輸送するための糖エクスポーター遺伝子を発現させる。接種するAM 菌種によって接種効果は変動し、菌根依存型リン酸トランスポーター遺伝子であるGmPT10および糖エクスポーター遺伝子GmSWEET15の発現量の違いによって生じることが報告されている。そのため、接種効果の品種間差異が生じる要因を遺伝子発現量の観点から調査するため、スクリーニング試験において高いMGRを示したGmWMC190と低いMGRを示したGmWMC142を用いた栽培試験を行った。スクリーニング試験と同じ低リン非接種区と低リン接種区に加え、高リン非接種区(120 mg P/kg soil)を設け、各品種3反復ずつ播種した。人工気象器において播種後50日間栽培した後、地上部は乾物重測定用に、根は遺伝子発現量解析用に回収した。

地上部乾物重をもとにMGRを算出したところ、GmWMC190は68.6%、GmWMC142は14.4%であった。スクリーニング試験時ほど大きな差は生じなかったが、接種効果が高い品種として選抜したGmWMC190の方が高いMGRを示した。また、非接種区では高リン区と比較して低リン区で生育が抑制され、GmWMC190は高リン区の25.0%、GmWMC142は37.8%の生育量となった。差は小さいが、接種効果が低いGmWMC142の方が抑制が小さいことから、植物体自身の低リン耐性のポテンシャルが高い品種は接種効果が低くなる可能性が示された。

GmPT10およびGmSWEET15の発現量解析を行った結果、AM 菌接種によってGmPT10は両品種で発現量が増加傾向にあり、GmSWEET15はGmWMC190のみ増加傾向にあった。このことから、ダイズはAM 菌からリンを受け取るために菌根依存型リン酸トランスポーター遺伝子の発現量おとび糖を十分に与えるための糖エクスポーター遺伝子の発現量をもとに高めることで接種効果を向上させることができると考えられる。つまり、GmSWEET15の発現量が接種効果に影響している可能性が示唆された。

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 古谷 舞, 増本 寛之, 高田 志帆, 松村 篤
2. 発表標題 第三複葉期におけるダイズ根系の低リン条件に対する応答とその品種間差
3. 学会等名 日本土壌肥料学会 2019年度静岡大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増本 寛之, 古谷 舞, 高田 志帆, 松村 篤
2. 発表標題 リン酸アルミニウムをリン源として利用する能力が高いダイズ品種の探索
3. 学会等名 第248回日本作物学会講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松村 篤, 古谷 舞, 増本 寛之, 高田 志帆
2. 発表標題 ダイズ品種間でみられた土壌へのリン酸鉄施用に対する応答性の違い
3. 学会等名 第249回日本作物学会講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高田 志帆, 古谷 舞, 増本 寛之, 松村 篤
2. 発表標題 世界のダイズミニコアコレクションにおけるアーバスキュラー菌根菌接種効果の品種間差
3. 学会等名 第249回日本作物学会講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 古谷 舞・松村 篤
2. 発表標題 世界のダイズミニコアコレクションを用いた低リン耐性の高いダイズ品種の探索
3. 学会等名 第245回日本作物学会講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古谷舞・高田志帆・増本寛之・松村篤
2. 発表標題 異なる低リン耐性を持つダイズ品種の根系分布の比較
3. 学会等名 第49回根研究集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高田志帆・古谷舞・増本寛之・松村篤
2. 発表標題 世界のダイズミニコアコレクションにみられた菌根依存性の品種間差
3. 学会等名 第49回根研究集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室HP http://saibaiseirigaku.wixsite.com/crop-ecophysiology
--

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