

高窒素固定能を示すダイズ変異体選抜の背景

富永晃好・永田真紀¹⁾・夫津木耕一・山内彩花・内海俊樹¹⁾・阿部美紀子¹⁾
九町健一¹⁾・橋口正嗣²⁾・明石良²⁾・Ann M. Hirsch³⁾・有馬進・〇鈴木章弘
(佐賀大農・¹⁾ 鹿児島大理・²⁾ 宮崎大フロンティア・³⁾ UCLA)

【目的】

現在、全世界における作物生産のために年間約 8,000 万トンの合成窒素肥料が農地へ投入されているが、それは同時に環境・エネルギーなどに関するさまざまな問題を引き起こしている。ダイズの子実生産もその例外ではない(世界の合成窒素肥料の約 22%を使用)。本研究ではこういった農業形態から脱却し、しかも作物の生産性を高めることを最終目標に、根粒における窒素固定能が増加したマメ科植物を選抜し、その表現型について詳細に理解することを目的とした。

【材料及び方法】

ダイズへ応用するためのパイロット実験として、マメ科のモデル植物であるミヤコグサおよび根粒数が増加したミヤコグサ変異体 *enf1* を用い、根粒菌接種の有無による根粒数、窒素固定活性、バイオマス生産量、子実生産量、窒素含量などを調査した。また、窒素固定能に影響を与える遺伝子の発現解析や根粒内での一酸化窒素 (NO) のレベルを調査することで、窒素固定活性増加のメカニズムについて検討を加えた。

【結果および考察】

1. 野性型ミヤコグサ (MG20) および *enf1* 変異体を用いた根粒着生試験

播種後 3 日目の芽生えにミヤコグサ根粒菌を接種し、窒素を含まない培地で 4 週間生育させて表現型を解析した。その結果 *enf1* は、対照区と比較して有意に多い根粒を形成し、窒素固定活性も 1.7 倍まで上昇していた。また *enf1* の地上部は、バイオマス生産量および窒素含量ともに MG20 よりも高い値を示した。さらに、根粒菌接種後 98 日までの花数、結莢率、莢数、1 莢当たりの種子数に関しては有意差は見られなかったものの、種子 100 粒重と種子の窒素含量については、*enf1* が有意に大きな値を示した。

2. 窒素固定活性増加のメカニズム解析

enf1 変異体は窒素固定活性が増加していることが示されたので、窒素固定活性に影響を与えることが

報告されている遺伝子について、その発現量をリアルタイム RT-PCR 法で調べた。その結果、予想に反して、*enf1* 変異体におけるそれらの発現は MG20 と比較して有意差がなかった。次に、*enf1* 変異体はアブシジン酸 (ABA) に対する感受性が低下した変異体として単離されたので、内生 ABA 濃度を測定した。その結果、*enf1* における ABA 濃度は 1/3 以下に低下していることが明らかになった。この低下が窒素固定活性増加の原因かどうか調べるために、根粒が形成されている MG20 を ABA 合成阻害剤アバミンで 3 日間処理し、窒素固定活性を測定した。するとアバミン処理したものは内生 ABA 濃度が低下して窒素固定活性が高くなっていた。一酸化窒素 (NO) は、ニトロゲナーゼの活性を阻害するという報告があるので、*enf1* における NO のレベルを蛍光試薬を用いて測定した。その結果、ABA 濃度が低い根粒内では、発生する NO 量が減少していることが示された。つまり、*enf1* の根粒内では ABA の濃度が低く保たれており、それが根粒内での NO の発生を抑制し、その結果として窒素固定活性が高くなっているものと考えられた。今後は、*enf1* 変異体の原因遺伝子の同定をおこなうとともに、この知見をダイズなどのマメ科作物へ応用することが求められる。

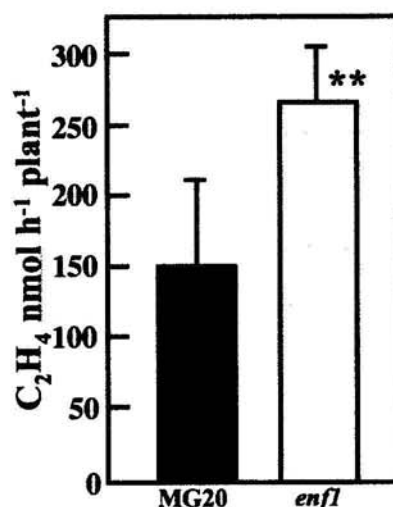


図 1. MG20 と *enf1* 変異体の窒素固定活性アセチレン還元法で測定した。(n = 40) エラーバーは標準偏差。**; 1%水準で有意差あり