

植物トランスクリプトーム応答を利用した 野外における直接および共生経路からのリン獲得能の評価

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 根圏制御学 港 翔平

1. 目的

リン資源は有限であり、近い将来の枯渇が予想されているため、作物にリン酸を供給するアーバスキュラー菌根菌 (AM 菌) を利用して、リン肥料を削減する研究が世界的に活発化している。土壌中の AM 菌密度は、土壌環境や農地管理方法により大きく変動するため、菌根共生の機能を最適化する技術を構築するためには、全リン吸収量に占める AM 菌の貢献度を定量的に評価することが必要である。一方、菌根共生した植物は根および AM 菌からリン酸を吸収するが (それぞれ直接および共生経路)、野外土壌には土着の AM 菌が存在し、対照となる「菌根非形成植物」を設定することができないため、各経路からのリン酸獲得量を個別に測定することは困難である。そこで本研究では、直接および共生経路からのリン酸吸収速度を植物の遺伝子発現により評価する方法 (分子マーカー) の検討を行なった。

2. 方法

菌根応答性が高く、圃場における菌根菌接種によって収量増加の例が多数報告されているネギ (*Allium fistulosum* cv. Motokura) に *Rhizophagus clarus* HR1 (MAFF520076) をポットあたり 0–500 胞子接種し、二重メッシュ区画栽培系において直接、共生または両経路から 50–1,000 μM リン酸を含む液肥を与えて人工気象器で栽培した (精密ポット試験)。また、山形県鶴岡市内の 3 か所の圃場 (ネギ連作、水田転作、および客土圃場) において、菌根菌資材 (出光興産製) の接種有無およびリン酸施肥 3 段階 (0, 50, 100 kg ha^{-1}) の試験区を設けてネギを栽培した (圃場試験)。精密ポット試験では播種後 3–6 週間、圃場試験では移植後約 30 日の根から RNA を抽出し、Illumina HiSeq により 50-bp-シングルエンドシーケンスを行なった後、ネギの mRNA リファレンスにマッピングすることにより発現量を定量した。地上部のリン吸収量はバナドモリブデン法により測定した。精密ポット試験における遺伝子発現データから LASSO 法により直接および共生経路のリン酸吸収速度をそれぞれ推定するマーカー (重回帰式) を作製した。マーカーの精度は、推定値 (Y) と実測値 (X) の相関解析により評価した。

3. 結果と考察

直接および共生経路由来のリン酸吸収速度のマーカーには、それぞれ 4 個および 8 個の遺伝子を用いた場合に最も特異的かつ高い精度で推定可能であった (それぞれ $r=0.858$ および 0.899)。両経路から同時にリン酸を施肥した植物体のリン酸吸収速度を直接および共生マーカーで推定し、合算した値と全リン実測値のプロットは、原点を通る直線に近似されたこと ($Y=0.969X, r=0.765$) からも、これらマーカーの精度の高さが裏付けられた。水田転作および客土圃場のサンプルを用いた場合は、推定値 (=各経路由来リンの合算値) と実測値がほぼ一致していた (それぞれ $Y=1.05X, r=0.839$ および $Y=1.2X, r=0.909$) のに対し、ネギ連作圃場のサンプルでは、推定値が実測値の 2.4 倍と過大評価となった ($Y=2.44X, r=0.945$)。しかし、いずれの圃場でも相関係数は高かった。このうちネギ連作圃場では、100 kg ha^{-1} 施肥区で共生経路からのリン酸獲得量 (貢献度) が全体の 65% と低いが、AM 菌を接種することで貢献度を 80% 近くまで増加させ、かつ、リン酸肥料を 50 kg ha^{-1} に減らすことが可能であることがマーカーを利用した解析でわかった。今後は、土壌の性質や管理要因とマーカー精度との関係を明らかにすることで推定精度の向上を図る必要がある。