

ダイズの高能率生産のための根粒形成調節遺伝子の機能解明と利用技術に関する研究

山川武夫(九州大学大学院 農学研究院)

1. 始めに

日本の土壌では、一般にダイズの栽培歴が長くすでに多くのダイズ根粒菌、いわゆる土着根粒菌が生息している。このような場合、窒素固定活性が高い根粒菌を接種すれば事足りるわけではなく、競争的根粒形成能の高い根粒菌を定着させやすい方法で接種することが大事である。従来、特定の根粒菌株に対して非親和性を示すダイズ品種には、根粒形成調節 (*Rj*) 遺伝子を保有する品種が知られており、特定の血清型の根粒菌の根粒形成を抑制する。ダイズのこの能力を根粒菌の接種技術に応用するために一連の研究を行った。

2. 根粒形成調節 (*Rj*) 遺伝子を利用した接種技術の開発

根粒形成調節 (*Rj*) 遺伝子 (*Rj₂*, *Rj₃*, *Rj₄*) を全て保有するダイズ系統を作出し、この系統が他の遺伝子保有ダイズに比較し、根粒菌 *B. japonicum* USDA110 と選択的に根粒を形成し、生育時期による占有率変化が小さいなど優れた形質があることを見いだした。またこの結果から、フクユタカ (*Rj₄* 遺伝子保有ダイズ) のセロタイプ USDA110 の占有率が生育初期に特に高く、これを維持させればフクユタカの収量増加につながると推察した。この形質を利用してフクユタカの生産性を向上させるための USDA110 の接種法および接種菌濃度として、ピートモスを媒体とした作土層への接種法 (1.7×10^5 cells/g 乾土 $\approx$ 土着根粒菌濃度) が有効であり、適正な種子接種濃度は 1 粒当たり 10^5 cells であることを明らかにした。

3. *Rj* 遺伝子型と根粒菌の親和性

ダイズ根粒菌 *B. japonicum* Is-1 株は *Rj₂Rj₃* 遺伝子保有ダイズ品種 CNS によって根粒形成が抑制される。この菌株の根粒形成抑制の原因遺伝子である *Rj₂-gsn* 遺伝子の同定を行った。まず、ミニトランスポゾンベクター-pUTKm を用いて、Is-1 株から CNS に対して根粒形成能をもつ Tn5 変異株を 7 菌株 (1C1 株, 1C2 株, 5C1 株, 6C1 株, 7C1 株, 7C2 株, 10C2 株) 獲得した。これらの Tn5 変異株が全ての *Rj* 遺伝子保

有ダイズ品種に有効根粒を形成した。根粒の着生場所と数が菌株ごとに異なることから、Tn5 挿入遺伝子の変異株ごとに異なる可能性を指摘した。次に Rescue 法により Tn5 を含む DNA 断片のクローニングとシーケンスを行い、全ての Tn5 変異株の Tn5 挿入遺伝子の全配列を決定した。BLASTP を用いた相同性検索により、全ての Tn5 挿入遺伝子が、全ゲノム配列が解読されている *B. japonicum* USDA110 株の遺伝子と高い相同性をもち、それらの相同遺伝子の推定遺伝子産物は互いに異なることを明らかにした。現在 *Rj* 遺伝子と根粒菌の親和性について更なる研究を展開中であり、今後明確になるであろう。

4. ダイズの窒素固定および根粒活性に及ぼす影響要因の解明

ダイズの根粒形成や窒素固定は、根圏の様々な環境に影響されることを明らかにした。ダイズ品種 アキセンゴク と Peking および ササゲ 品種 ケゴンノタキに、*B. japonicum* A1017, *Shinorhizobium fredii* USDA193 および *B. sp. Vigna* MAFF03-03063 をそれぞれ接種し、植物の成長、根粒形成、窒素固定に及ぼす根圏の CO₂ 濃度の影響を明らかにするために、CO₂ 欠如空気、3 dm³ m⁻³ CO₂ 濃度の空気、25 dm³ m⁻³ CO₂ 濃度の空気の供給下で水耕栽培した。その結果、*Bradyrhizobium* 菌株とダイズやササゲとの共生にとって、N₂ 固定や成長のための最適 CO₂ 濃度は、おおよそ 10 dm³ m⁻³ であり、一方 *S. fredii* とダイズとの共生にとってのそれは、おおよそ 30 dm³ m⁻³ であると推定した。ダイズは *S. fredii* と *B. japonicum* との間で根粒を形成し、その導管液中を転流する主要な窒素化合物素の主要な形態がウレイドであることを明らかにした。

ダイズが根粒を形成するためには、炭素や窒素だけでなく、各種無機元素が必要である。根圏に微量元素を供給しない場合、根毛中の微量元素の含有率に根粒菌の接種の有無で差は認められなかった。ダイズが根粒を形成する際、根毛への特異的元素 (Ca, Co, Fe) の集積が知られているが、これは発芽時点で培地から積極的にそれらの元素を吸収した結果であると推察した。