

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：13601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14636

研究課題名(和文) ダイズ種子の吸水特性の評価指標の開発 - 冠水抵抗性の選抜を効率化するために -

研究課題名(英文) Development of Estimation Method for Imbibition Characteristics in Soybean Seed
- To Facilitate Selection for Better Germination Growth under Excess Soil
Moisture Conditions -

研究代表者

萩原 素之 (HAGIWARA, Motoyuki)

信州大学・学術研究院農学系・教授

研究者番号：90172840

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：種子の吸水量(A)と吸水を中断した種子に乾燥処理を与えた際の蒸発量(E)の比(E/A)、種子の水分活性(A_w)はいずれも種子への水の浸透状況を示すと推定できるが、過湿条件下の発芽試験による発芽率や初期生長の品種間差をより良く説明できたのはE/Aであった。また、吸水中の種子の体積増加は種子組織の損傷に影響する要因ではないかと推定したが、過湿条件下の発芽試験との相関はE/AやA_wの場合より弱かった。以上から、種子の冠水抵抗性の簡便・迅速評価指標としてE/A法が優れることを示した。E/A法で種子冠水抵抗性の品種間差をより正確に評価するには、種子の大きさを考慮した補正を行えば良いことも明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Two indices, 1: E/A, where A is the amount of water absorbed by a seed before absorption was suspended and E is the amount of water evaporated from a seed after then, and 2: water activity (A_w) of a seed were supposed to indicate water infiltration status of a seed. When these were compared, E/A better correlated with germination percentages and germination growths in germination test under excess water conditions. Although the increase in seed volume during water absorption seemed to be a factor related to mechanical damage of a seed tissue resulting in suppressed germination growth under excess water conditions, it correlated even lower, compared to E/A and A_w, with the results obtained from germination test under excess water conditions. From the above, E/A was a superior index for the evaluation of the germination resistance under excess water conditions. It was also shown that more effective E/A values are available by correcting them taking the size of a seed into account.

研究分野：Crop Science

キーワード：発芽 ダイズ 過湿条件 吸水

1. 研究開始当初の背景

我が国においてダイズはコメに次いで食文化上、重要な作物と言えるが、その自給率は10%未満であり、極めて低く、その生産向上は重要課題となっている。

我が国のダイズ生産の大部分は水田転換畑で行われており、ダイズ生産農地の約80%が水田転換畑である。水田転換畑はその特性上、一般に降雨時の排水性に劣り、土壌が過湿状態となりやすい。一方、我が国のダイズの播種期は多くの地域で梅雨期であるため、ダイズ栽培は播種準備(耕耘・整地作業)、播種作業および播種後の発芽生長に至るまで降雨の影響を受け、播種の遅れや播種後の降雨に起因する収量の低下や不安定化から逃れられない状況にある。

播種後の降雨で土壌が過湿条件になると発芽やその後の初期生長が大幅に抑制され、収量への影響が大きくなるため、過湿土壌条件下でも良好な発芽と初期生長が得られるようにすることが我が国のダイズ栽培では強く求められている。圃場の排水性を高めるなどの耕種的対処もあるものの、根本的には過湿条件下での発芽・初期生育の特性が優れる(種子冠水抵抗性)品種の育成が急がれている。

なお、種子冠水抵抗性には、ダイズ種子が急速な吸水をする際に種子組織に損傷が生じ、種子からの貯蔵養分の種子外への浸出が増えること、およびそれに伴う土壌中の微生物が原因となる種子の被害が増加することが深く関わっているとされている。

2. 研究の目的

上述のように、過湿条件下での発芽・初期生育の特性が優れる(種子冠水抵抗性)品種の育成が我が国のダイズ生産向上の必須条件と考えられる。しかしながら、種子冠水抵抗性を簡便・迅速に評価する方法は確立されていない。このため、現状では種子冠水抵抗性が高い品種や系統を効率的に選抜することは困難で、種子冠水抵抗性育種が効率的に進む状況にはない。

本研究は、ダイズの種子冠水抵抗性育種を効率化しうのような、種子冠水抵抗性を簡便・迅速に評価する指標を確立することを目的とする。具体的には、種子冠水抵抗性の品種間差を、できる限り短時間かつ簡単な調査で適切に説明できる指標を見いだすことにより、多数の試料(品種・系統)について種子冠水抵抗性の差異をこれまでよりも容易かつ高精度で判別できるようにすることを目的とする。

3. 研究の方法

ダイズの種子冠水抵抗性には、吸水時に起きる種子の急激な膨らみに伴って生じる種子組織の損傷が関与しているとされる。このため、他の研究では吸水速度(の抑制)や吸水に伴う種子組織の変化を光学あるいは電子

顕微鏡で観察する、組織損傷に伴い種子組織から浸出する物質の種類・量を直接測定あるいは間接測定(電気伝導度を利用)するのが一般的な研究手法となっている。

本研究では、吸水に伴う種子組織の損傷は、水が種子内部に深く浸透すると起こると考え、種子内部への水の浸透程度を簡便に評価できると推定できる3つの方法を取り上げた。

(1) 種子内部への水の浸透程度の評価法

E/A 法

E: 吸水中断後、種子に乾燥処理を与えた際に、種子から蒸発する水の量

A: 吸水中断までの間の吸水量

吸水処理時間が長くなり、種子内部に水が浸透するほど E/A は小さくなる

(測定法は後述)

Aw 法

Aw(水分活性)は、測定対象試料中の水と試料組織との結合の強弱を示す指標で、強く結合している状態(種子組織内部に水が浸透している状態に相当)では Aw は小さくなる。

ポータブル水分活性測定装置(LabSwift-aw、ノバシーナ)で測定した。

吸水種子の体積増加

下記の2つの指標を求めた。

種子体積比: 吸水種子の体積 / 吸水前の種子体積

膨潤程度: (吸水種子の体積 - 吸水量) / 吸水前の種子体積

種子体積は、平成27年度は菜種置換法に準じ、小粒径のガラスビーズを用いて測定し、平成28年度はデジタル実容積測定装置(DIK-1150、大起理化学工業)を用いて測定した。

(2) E/A の測定方法

種子表面に傷やシワがないものを選別し、さらに石マメを除外して25の定温器内で供試品種の種子を所定時間(5~360分)種子重量の10倍量の純水に浸漬し、所定時間経過後の種子重量の増加を吸水量(A)とする。吸水量測定後、シリカゲルを入れたプラスチック製容器に種子を移して密閉し、25の定温器で30分間乾燥処理を行い、処理終了後ただちに種子重を測定して乾燥処理による種子重の減少を種子からの蒸発量(E)とする。E/AはEをAで除した値である。

なお、E/Aは種子重の影響を受け、両者の間に負の相関がみられることが分かったため、研究最終年には種子の大きさを考慮した補正を下記のように行った。

すなわち、種子重は種子の大きさ(体積)に比例すると仮定し、種子重の3乗根(r)を求め、 $E/A \times r$ の計算式により補正したE/Aを新E/A、補正を行わないE/Aを旧E/Aとして区別した。

(3) 過湿条件下での発芽試験

無肥料の水稲育苗用ロックウールマットをプラスチック製トレーに敷き、種子の上端とロックウールの上端の高さが一致するようにロックウールマットにダイズ種子の臍を横にして種子を押し込んで播種した。播種後、水を種子上端面まで満たして 25 明条件の定温器内に置き、水を 1 日数回補給して水位をできる限り一定に保ち、7 日間発芽生長させた。

発芽率、出芽率、初生葉出葉率、本葉出葉率、主根長、側根数などを測定した。

4. 研究成果

(1) 平成 27 年度の成果

種子冠水抵抗性の異なる黄ダイズ 6 品種（スズホマレ、タチナガハ、つぶほまれ、リュウホウ、ナカセンナリ、あやみどり）を供試した。

過湿条件下の発芽試験の結果、種子冠水抵抗性は総合的にみて、高：スズホマレ、タチナガハ、中：つぶほまれ、リュウホウ、低：ナカセンナリ、あやみどりであった。ただし、高の 2 品種の種子冠水抵抗性は特に高くはなく、供試品種の種子冠水抵抗性の品種間差は比較的小さかった。

E/A と種子冠水抵抗性との関係は、本研究の基礎研究段階で得られていたものに比べ不明瞭であった。これは E/A の値が概して小さく、品種間差が小さかったことによると考えられた。

各品種につき、種皮を除去した種皮除去区と除去しない対照区を設けて、E/A に差が見られた吸水時間 30 分の浸漬処理を行い、吸水処理終了直後とその後一定時間経過後の種子の水分活性（Aw）を測定した。

両測定値の差を求め、さらに「種皮除去の場合の Aw の差 - 対照区の場合の Aw の差」を求めると、これが大きいほど過湿条件下の発芽率が高かった。

以上から、本年度の試験で供試した 6 品種は種子冠水抵抗性の品種間差が小さく、このような場合には E/A および吸水後の種子の Aw で種子冠水抵抗性を的確に評価することはできなかった。一方、「種皮除去の場合の吸水中断直後の Aw とその後一定時間経過後の Aw の差 - 種皮を除去しない場合の吸水中断直後の Aw とその後一定時間経過後の Aw の差」は、種子冠水抵抗性の品種間差の検出力が優れると推察された。

(2) 平成 28 年度の研究成果

Peking、黒千石（黒ダイズ）、ミヤギシロメ（黄ダイズ）、晩酌茶豆 5 号（茶ダイズ）、あやみどり（青ダイズ）の 5 品種を供試した。

過湿条件下の発芽試験の結果、種子冠水抵抗性は、高：Peking、黒千石、ミヤギシロメ、中：晩酌茶豆 5 号、低：あやみ

どりと判定された。

E/A は吸水時間が長くなるほど減少し、種子に浸入した水は時間経過とともに組織に浸透して蒸発しにくくなることを示すと考えられた。吸水時間の長短に関わらず、E/A は種子冠水抵抗性が高い品種 > 種子冠水抵抗性が低い品種の傾向で、吸水時間が短い場合に品種間差がより顕著であった。

種皮を除去する種皮除去区と除去しない対照区を設け、E/A の値に品種間差が明瞭に認められた吸水時間 30 分の浸漬処理を行って、浸漬処理終了直後の種子の水分活性（Aw）を測定した。対照区の Aw は種子冠水抵抗性高の品種ほど小さい傾向にあった。種皮除去区でも同様であったが、品種間差は対照区の方が大きく、種皮の特性の違いが種子の吸水に及ぼす影響が大きいことが示唆された。

吸水種子の体積増加に関する 2 つの指標はいずれも種子冠水抵抗性との関係が明瞭ではなかった。

以上から、本年度の試験で供試した 5 品種では E/A および Aw が種子冠水抵抗性の品種間差の評価に有用であることが分かった。

(3) 平成 29 年度の研究成果

供試品種は 13 品種とした：あやみどり（青ダイズ）、エンレイ、ギンレイ、こうじいらす、里のほほえみ、タマホマレ、鶴ノ子、ナカセンナリ、ナンブシロメ、フクユタカ、ミズグリ、ミヤギシロメ、ユキホマレ（黄ダイズ）。

過湿条件下の発芽試験の結果を総合的にみて、種子冠水抵抗性はエンレイが最も優れ、次いで里のほほえみ、ユキホマレ、ギンレイの順で、鶴ノ子、ナカセンナリ、こうじいらす、フクユタカの種子冠水抵抗性は低かった。

吸水時間が短い場合に E/A の品種間差がより顕著であった。種子重と E/A の間には概して負の相関がみられた。つまり、E/A は種子の大きさの影響を受け、小さい種子の E/A が大きい傾向にあった。これは、小さい種子では種子表面と種子の中心との距離が短く、種子内の水が種子表面から蒸発しやすいためと考えられる。

また、E/A の値と過湿条件下での発芽生長との相関関係の有意性は一部では認められたものの、必ずしも高くなかった。

の結果は、種子の大きさが E/A に影響していることを示しており、種子の大きさが大きく異なる場合、E/A による種子冠水抵抗性の評価が必ずしも適切に行えないことを示している。そこで、種子の大きさに影響されない種子冠水抵抗性の指標を得るため、E/A の値を補正する方法を検討した。種子の大き

さが E/A の値に影響するのは、「種子表面積 / 種子体積」= 表面積比が種子の大きさに反比例するためと推察される。ここで、種子の比重に品種間差がないと仮定すれば、種子体積が種子重を決めるので、種子重の 3 乗根は種子の大きさの指標とみなせる。そこで、種子の大きさを考慮して補正した E/A を新 E/A と呼ぶこととし、新 E/A = 旧 E/A × 種子重の 3 乗根とした。

また、E のより適正な値を得るため、吸水中断後の密閉容器での乾燥処理を、従来は吸水量に関わらず吸水種子 10 粒に対して 15g のシリカゲルで行っていたが、吸水重量の 20 倍重量のシリカゲルで行うように変更した。

これらの変更の結果、新 E/A では種子重との相関がみられなくなり、種子重の影響を取り除くことができた。また、新・旧 E/A とも吸水時間が短いほど品種間差が顕著であった。5 分浸漬の場合で新・旧 E/A と冠水条件下の発芽生長との相関係数を比較すると、新 E/A の場合の方が大きく、発芽率、出芽率とも有意 ($p < 0.03$) な正の相関を示した。初生葉展開率、主根長、側根発生率においても新 E/A の方が相関係数は有意ではないものの大きかった。

以上から、新 E/A は旧 E/A よりも種子重の影響を受けず種子冠水抵抗性の品種間比較が可能な指標と判断され、種子重 (粒大) の異なる遺伝資源を対象に種子冠水抵抗性の評価指標として利用可能と期待できる。また、5 分の短時間浸漬で評価が可能という点で利便性が高く有用である。

(4) 研究成果の総括

E/A の測定には高度の機器を要しない。一方、E/A は過湿条件下の発芽生長と一定の相関を有すること、吸水経過よりも品種間差が明確に認められることから、ダイズ品種の種子冠水抵抗性を簡易評価する指標となり得る。

しかしながら、種子冠水抵抗性の品種間差が小さい場合には、E/A でその際を判別することが困難であった。

E/A の値には種子の大きさの影響が認められた。また、E の値を求める乾燥処理の過程にも改善の余地が認められた。そこで、吸水中断後の乾燥処理で E を求める手順を改良した。また、E/A への種子の大きさの影響を補正する方法を考案した。

上記の改良と補正の結果、得られた新 E/A は旧 E/A に比べて、過湿条件下での発芽生長との相関が高まった。

Aw は、種皮除去した種子と除去しない種子を用いることにより、種皮と種皮より内側の種子組織の吸水特性の品種間差を明らかにするのに有用であった。本研究で供試した品種の場合、種皮の

透水性が低い場合に概して種子冠水抵抗性が高かったが、種子冠水抵抗性は種皮の透水性だけで決まるとは言い切れなかった。

E/A は種皮とそれより内側の種子組織の吸水特性を総合的に表す指標と理解できるので、この点でも E/A は種子冠水抵抗性を評価するのに有用なものと考えられる。

E/A による種子冠水抵抗性の評価は、5 分という短時間の種子浸漬処理で可能であるため、迅速評価が可能である。

E/A が種子の新旧に影響されるか調べたが、明確な影響は見られなかった。

吸水中の種子体積の増加に関する 2 つの評価指標は、いずれも過湿条件下の発芽生長との相関が余り高くなく、種子冠水抵抗性の評価指標としての有用性は低いと判断された。

以上を総合すると、E/A (特に、種子の大きさの影響を補正した場合) は種子粒大や種子の新旧に関わらず、種子冠水抵抗性を評価するのに実用的かつ有用な指標であり、その取得が他の研究で用いられている手法よりはるかに容易であることから、実際の育種場面での種子冠水抵抗性の選抜や育種を効率化することが期待できると認められた。

また、Aw は、本研究で購入した測定機器を使用した場合には、安定した測定値を得るのに長時間を要してしましたが、研究代表者の先行研究で使用した測定機器では 5 分の短時間で測定値が得られた (両測定機器には測定精度の違いがある)。よって、Aw を種子冠水抵抗性の品種間差判別のための高精度の指標として用いることは容易ではないと判断されたが、簡易的判別に用いるのなら、測定精度は低いが測定所要時間の短い測定機器を用いれば、一定の有用性を持つと考えられる。また Aw は、種皮とそれより内側の種子組織の吸水特性の違いを簡便に知るための手法としては有用と考えられる。

(5) 残る課題

当初は供試品種数を 20 ~ 30 品種まで拡大する計画であったが、実現に至らなかった。この主な原因は、得られるデータの斉一性を高めるには、種子選別を念入りに行う必要があるため、これに要する労力が極めて大きかったためである。

種子の新旧は E/A の値に大きく影響しないとみられる結果を得たため、実際の育種において E/A を選抜指標として利用する場合、貯蔵している遺伝資源を用いることができるであろうことを示した意義は大きい。また、これは、貯蔵種子を利用することにより、E/A を得る際の反復数を増やし、その分、種子選別に要する労力を軽減できる可能性も示している。このようなやり方が有効かどうかは今後確認を要する。

また、新 E/A では種子の大きさの影響がどこまで補正されたか、供試品種を増やして確認が必要であろう。さらに、新 E/A は旧 E/A に比べて種子冠水抵抗性の品種間差の検出力が高まったのではないかと推察するが、この点は今後の検証を要する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 3 件)

三浦康児・田中智大・萩原素之、ダイズ種子冠水抵抗性の簡易評価指標の改良による有用性向上、日本作物学会第 245 回講演会要旨集、2018、145

三浦康児・藤井久・萩原素之、吸水種子からの蒸発に注目したダイズの種子吸水特性の検討および種子冠水抵抗性との関係、日本作物学会第 244 回講演会要旨集、2017、18

萩原素之・三浦康児、ダイズの冠水抵抗性評価のための種子吸水特性の簡易評価の検討、日本作物学会第 242 回講演会要旨集、2016、86

6. 研究組織

(1)研究代表者

萩原 素之 (HAGIWARA Motoyuki)

信州大学・学術研究院・農学系・教授

研究者番号：90172840