

九州シンクロトロン光研究センター 県有ビームライン利用報告書

課題番号：2007076T

BL番号：BL09

(様式第5号)

ダイジョにおけるシンクロトロン光を用いた突然変異系統群の創出
Development of mutant lines by using synchrotron light
in water yam (*Dioscorea alata* L.)

濱岡 範光・石橋 勇志
Norimitsu Hamaoka, Yushi Ishibashi

九州大学大学院 農学研究院
Faculty of Agriculture, Kyushu University

- ※1 先端創生利用（長期タイプ）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後2年以内に研究成果公開〔論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表〕が必要です（トライアル利用を除く）。
- ※3 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※4 共著者には実験参加者をご記載ください（各実験参加機関より1人以上）。

1. 概要

本研究では、ダイジョの放射線突然変異系統を作出することを目的として、塊茎片に対する最適な X-線照射強度を照射後の不定芽分化率（生存率）から検討した。その結果、照射強度が高いほど不定芽の分化率が低下し、不定芽分化率が 60%であった 20Gy から 25Gy での照射がダイジョ塊茎での変異誘発に適した線量であることが明らかになった。

(English)

In this study, we tried to develop mutant lines of water yam by using X-ray from synchrotron. We investigated the effect of radiation level on adventitious bud differentiation. As a result, the rate of adventitious bud differentiation was gradually decreased with higher intensity in the X-ray radiation, and differentiation rate was 60% in 20Gy treatment. It was predicted that appropriate irradiation dose for mutagenesis is 20-25Gy in water yam tuber.

2. 背景と目的

ヤマノイモ属植物の食用種であるヤマイモは、熱帯降雨林から温帯にかけて広く分布し、重要な食料源として世界中で広く栽培されている。その一種であるダイジョ (*Dioscorea alata* L.) は、昨今、ジオスゲニンなどの健康増進物質を含むことが明らかとなり、機能性作物としても注目されている。一般にヤマイモでは、種子は実るものの、そのほとんどが不稔となるため種子繁殖はあまり行われず、新芋やムカゴによる栄養生殖を行う。すなわち、ヤムの栽培・育種においては、可食部である新芋とムカゴの形成を制御することが肝要であるが、これらに関わる生理学的因子はほとんど未解明であり、他の作物と比べて品種育成が遅れている。

近年、ヤマイモの全ゲノムが解読され、ゲノム情報を用いた解析が可能となった (Tamiru *et al.* 2017)。私たちは昨年度までに、ヤムゲノム情報を用いた遺伝子発現解析から、ダイジョ塊茎肥大の抑制に働く候補遺伝子を見出している (鍋嶋ら 2020)。本実験課題では、シンクロトロン光照射によりダイジョ遺伝子欠損変異体群を作出し、それら系統群の中から本候補遺伝子の機能が欠損した系統を選抜する。選抜した遺伝子欠損系統の生理特性を評価することで、本遺伝子の機能を明らかにし、塊茎肥大を早期に開始する早生ダイジョの作出を試みる。

3. 実験内容 (試料、実験方法、解析方法の説明)

2020年に九州大学農学部伊都圃場で栽培したダイジョ塊茎 (品種: やまとまこうしゃ) を用い、予め、輪切りにし扇状に切り分けた種芋 (生重 2-3g程度) を照射用サンプルとした。まず、九州シンクロトロン光研究センター内のBL09により、外皮を照射面として、10Gy、20Gy、40Gy、60Gyの計4条件でX-線照射を行った。各照射区におけるサンプル数は、25-50個体であった。照射後のサンプルは、九州大学生物環境調節センターにおいて、30°Cのチャンバー内で33日間暗処理を行った後、適量の水を与えて不定芽を誘導した。灌水後17日目のサンプルについて、生存率の指標となる不定芽分化率を調査し、バーミキュライトを充填したバット内に処理区毎に分けて移植した。現在、チャンバー内 (気温30°C・14時間日長) において、適宜灌水して栽培を行っている。



図1. 照射時の塊茎配置方法

4. 実験結果と考察

図1に、X-線吸収線量と不定芽分化率の関係を示す。吸収線量が高いほど、不定芽の分化率が低下し、40Gy および 60Gy 照射区の分化率はそれぞれ 12%、8%と著しく低かった。突然変異誘発における最適照射量の目安となる生存率 50%を加味すると、不定芽分化率が 60%であった 20Gy から 25Gy 程度のエネルギー量がダイジョ塊茎の最適な照射量であると考えられた。現在、すべての照射個体 (未分化の個体含む) をバットに移植し、栽培を行っている (図 3A,B)。不定芽誘導後の塊茎においては、通常は外皮の直下に位置する内鞘部柔組織において不定芽が生じるが (図 3C)、40Gy・60Gy 照射区では、木部組織から不定芽を生じた個体が多くみられ注目された (図 3D)。また、20Gy 照射区において生育途中の葉形態を観察した結果、通常の形状と異なり、丸みをおびた形状の葉を展開する個体があり (図 3E,F)、これらには何らかの遺伝子変異が生じていることが示唆された。以上より、ダイジョにおいて X-線による突然変異の誘発が可能であることが明らかとなり、変異誘発における最適な照射線量は 20-25Gy であると推察された。

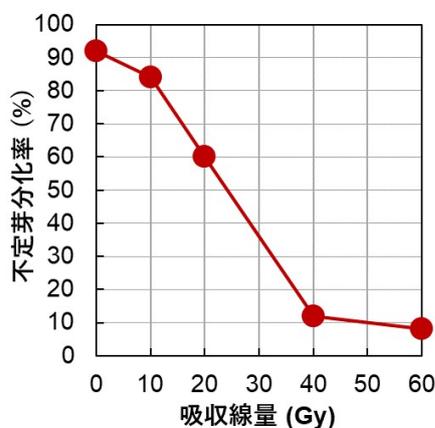


図2. X-線による吸収線量とダイジョ塊茎の不定芽分化率の関係

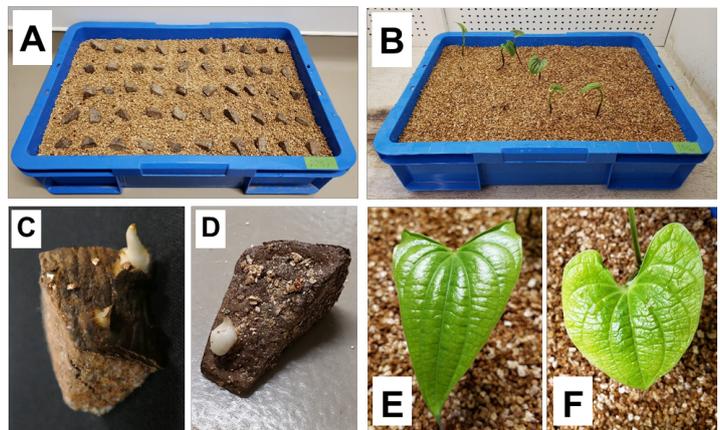


図3. 照射後の植物体の生育状況

(A) 移植時の配置、(B) 移植後 18 日目の様子

(C) 通常的不定芽分化、(D) 木部からの不定芽分化

(E) 正常な形状の葉、(F) 丸みをおびた形状の葉

5. 今後の課題

本研究は、ダイジョの塊茎形質をターゲットとしたものである。したがって、変異体群の形質評価にあたっては、試験栽培を継続し、長日条件下で塊茎を肥大する系統の選抜を図るとともに、ゲノム DNA を取得して塊茎肥大を抑制する候補遺伝子の欠損を確認する必要がある。また、本手法で得られたダイジョ変異体については、個体内でキメラを生じている可能性があるため、それらをゲノムレベルで詳細に評価し、変異形質の維持・安定性について検討する必要がある。

6. 参考文献

1. Tamiru *et al.* (2017) Genome sequencing of the staple food crop white Guinea yam enables the development of a molecular marker for sex determination, *BMC Biology* 15: 86
2. 鍋嶋ら (2020) ヤムイモの塊茎肥大制御機構の解析, *日本作物学会第 249 回講演会要旨集*: 193

7. 論文発表・特許（注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果）

なし

8. キーワード（注：試料及び実験方法を特定する用語を2～3）

ヤムイモ、ダイジョ、突然変異

9. 研究成果公開について（注：※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文（査読付）発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください。提出期限は利用年度終了後2年以内です。例えば2018年度実施課題であれば、2020年度末（2021年3月31日）となります。）

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

① 論文（査読付）発表の報告	（報告時期：	年	月）
② 研究成果公報の原稿提出	（提出時期：	年	月）