

令和 5 年 7 月 21 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K15824

研究課題名(和文) ヤムの巧みな繁殖戦略を紐解く：地上部と地下部の連絡を介した塊茎肥大制御因子の同定

研究課題名(英文) Identification of key factors regulating tuber enlargement through the linkage between aboveground and belowground parts in water yam (*Dioscorea alata* L.)

研究代表者

濱岡 範光 (Hamaoka, Norimitsu)

九州大学・農学研究院・助教

研究者番号：40778669

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：地上部と地下部に塊茎を形成して栄養繁殖するヤマイモの繁殖様式に着目し、ダイジョの塊茎肥大機構について検討した。地下部新芋の肥大は、日長12時間未満の短日条件下で促進することが確認され、これに関与する候補遺伝子を見出した。地上部のムカゴ形成は短日+半湛水条件下で促進することが明らかとなり、土壌過湿を地下部で感知することによりムカゴを形成し、光合成産物を転流する機構があることが示唆された。また、塊茎肥大遺伝子の同定に向けて、突然変異の誘発に適した放射線量を決定・照射し、ダイジョ突然変異系統群を作成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

栄養繁殖を基本とするヤマイモ種は、他の普通作物と比較して品種育成が遅れ、種によって生産可能な地域が限定されてきた。本研究において見出した塊茎形成・肥大メカニズムを基盤として、その主因子を制御した品種や栽培法を創出することができれば、早晚性の改変による広域適応性の付与やムカゴ着生の人為的制御などの栽培応用につながり、ヤマイモの生産性向上への足掛かりとなることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Dioscorea ssp. has a unique mode of reproduction which formed tuber both aboveground and belowground parts. This study was considered to mechanisms of tuber formation and enlargement in water yam (*Dioscorea alata* L.). Enlargement of belowground tuber was promoted short-day condition of less than 12 h day-length, and a candidate gene which affected tuber enlargement was selected. Bulbil formation was promoted under short-day + water-flooding condition. It was suggested that physiological mechanisms of signaling from belowground parts and photosynthate translocation are related to that formation. In addition, original mutant lines in water yam were developed by using X-ray from synchrotron light for the purpose of identifying the candidate gene.

研究分野：作物学

キーワード：ダイジョ 塊茎肥大 光環境 土壌水分 転流 放射線照射 突然変異

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

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(地下塊茎)やムカゴ(地上塊茎)による栄養生殖を行う。すなわち、ヤマの栽培・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ったことから、他の普通作物と比べて品種育成が遅れ、種によって栽培地域が限定されていた。地下部と地上部に塊茎を形成するというユニークな特性をもつヤマにおいて、塊茎肥大に関わる環境要因とはいったい何なのだろうか。また、それらを制御している生理学的因子(遺伝子)はどのようなものだろうか。

一方で、ムカゴが形成・発育するというヤマの特性は、いくつかの植物種で確認されているものの、土地利用型の普通作物の中ではヤマ特異的な形質であり、その生理的メカニズムを明らかにすることは、安定生産および品種育成につながるばかりか、植物の繁殖戦略を紐解く鍵となることから、植物学的にも大変興味深い。これまでに、国内のダイジョ8品種を収集し栽培特性に関する研究を進める中で、北部九州で栽培した場合、地下部における塊茎肥大程度に品種間差があることを確認している。一方で、これまで一般的に国内で栽培されたダイジョではムカゴの形成がほとんど見られないとされていたが、降水量が多い時期に毎年ムカゴを形成する品種を見出した。供試材料と評価手法が定まった今こそ、新芋とムカゴの形成・肥大の制御メカニズムを解き明かすことで、ヤマの繁殖戦略を紐解き、栽培・育種への応用の鍵となる基盤的知見を得る。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ヤマの一種であるダイジョを用い、地上部と地下部に塊茎を形成し栄養繁殖するというヤマのユニークな繁殖様式に着目し、植物生理学・分子生物学的なアプローチから塊茎肥大機構の一端を解き明かすことである。すなわち、新芋(地下塊茎)とムカゴ(地上塊茎)の形成・肥大に関わる生理学的要因を地上部と地下部での環境応答(日長、光質、土壌水分)の面から明らかにするものである。また、塊茎形成・肥大を制御する因子(遺伝子)を同定するために、放射線を用いて遺伝子突然変異を誘発し、ダイジョ突然変異系統群の作出を行った。

3. 研究の方法

課題1. 光環境が新芋(地下部塊茎)形成・肥大に及ぼす影響とそれに関わる主要因子の同定

地下部塊茎である新芋の形成・肥大機構を日長・光質の面から検討した。供試品種としては、国内で入手可能だったダイジョ全8品種の中で日長反応が中庸であった、'やまとまこうしゃ'を用いた。栽培は人工気象室において、幼植物を用いた環境応答評価系(30)において行った。極短日である8h日長から長日である14h日長まで、日長8h、10h、12h、14hの計4処理区を設け、移植後、第一本葉が展開した日から10日おきに植物体を採取し、塊茎肥大開始日の調査を行い、葉・新芋に分けてサンプリングした。塊茎肥大関連遺伝子について、遺伝子発現量をリアルタイムPCR法によって測定した。

課題2. ムカゴ(地上部塊茎)の形成・肥大に関与する環境要因と主要因子の同定

これまでの観察から、降水量が多い時期にムカゴを多く着生することを確認しているダイジョ品種'ナガイモ(丸系)'を用いた。壤土を充填した40cm高のロングポットにて栽培を行い、処理区として、長日区、短日区、長日+半湛水区、短日+半湛水区を設けた。短日処理および半湛水処理(20cmまで湛水)は、種芋移植から7週間後および10週間後にそれぞれ開始した。形成されたムカゴを7日毎にマークし、着生節位と着生数を調査した。湛水処理から20日毎にガス交換速度を測定するとともに、湛水処理開始日および15日後に¹³C₂を個体にフィードさせ、その後の同化産物の動態を調査した。また、過湿環境の感知が地下部に由来することを明確にするため、短日条件下で地上部のみミスト処理を行う区(地下部への灌水は慣行)を設け、ムカゴ着生数を調査した。

課題3. 放射線の利用による突然変異体の作出

ダイジョ塊茎(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、生存率が約50%となる最適な照射線量を明らかにするため、九州シンクロト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のチャンパー内で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、パ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、チャンパー内(気温30・14時間日長)において栽培を行った。その後の不定芽分化率の結果に基づき、最適な照射線量を20Gyに設定し、種芋への多個体照射を実施した。

4. 研究成果

[課題 1]

ダイジョの新芋（地下部塊茎）肥大における日長と光質の影響について検討した。人工気象室において、8h、10h、12h、14h の日長条件で栽培し、塊茎肥大を評価した。また、光中断処理として、10h 日長下で暗期に 1h、赤色光、遠赤色光、白色光のいずれかを照射し、塊茎肥大に関わる光質を検討した。ダイジョ塊茎は、8h、10h の日長において肥大することが確認された（図 1）。また、遠赤色光下において塊茎が肥大したのに対し、白色光、赤色光下では塊茎肥大が抑制された。したがって、ダイジョは赤色光に应答し、12h 未満の短日日長で塊茎肥大を開始することが明らかとなった。これを踏まえ、塊茎肥大関連遺伝子の発現解析を行った。塊茎が肥大する 10h 日長下の塊茎では、14h 日長下のものよりも顕著に高い発現を示す遺伝子が見出されたことから、ダイジョの塊茎肥大には本遺伝子が関与すると考えられた。

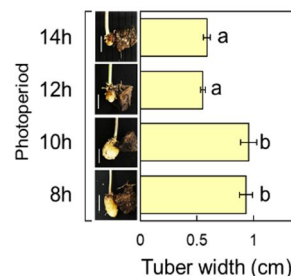


図 1. 異なる日長条件が新芋肥大に及ぼす影響

[課題 2]

地上部塊茎であるムカゴの形成・肥大機構について日長と土壤水分の面から検討した。個体当たりのムカゴ数は長日よりも短日条件で高い傾向がみられ、特に、短日 + 半湛水処理によってムカゴの形成が著しく促進されることを見出した（図 2）。一方、地上部のみを過湿した処理区では、このようなムカゴ数の増加はみられなかった。短日 + 半湛水処理に対する個体レベルでの生理生態学的特性の変化を光合成および転流の面から検討した。その結果、対照区と比較して処理区の光合成速度・気孔伝導度は、処理後 20 日目までに有意に低下した一方、収穫期（処理後 40 日目）では対照区でも低下する傾向があり処理区間で差はなかった。炭素安定同位体を用いたトレーサー実験により、処理区間でソース-シンク単位を比較した結果、処理区では形成されたムカゴへ同化産物が多く分配されることを見出すとともに、新芋肥大初期（処理開始日）に同化した炭素は、新芋への分配比が低く、葉や茎部に多く蓄積することが明らかになった。これらの結果から、ムカゴの形成には地下部の環境（土壤水分）を感知して地上部へと輸送されるまたは地上部で生合成されるアブシジン酸が関与していることが示唆され、それにともなって茎部に蓄積した同化産物が転流し、ムカゴが肥大すると考えられた。

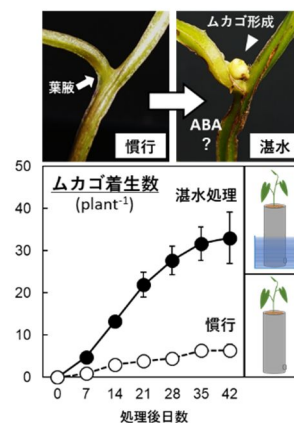


図 2. 短日 + 半湛水処理によるムカゴ着生数の推移

[課題 3]

ダイジョ突然変異系統群の作出を目的として、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。図 3 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。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、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。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、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。これまでに種芋 1350 個体への X-線照射（20Gy）を完了し、系統育成を進めている。

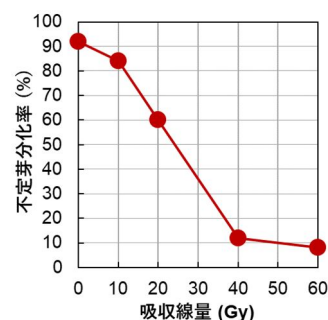


図 3. X-線による吸収線量とダイジョ塊茎の不定芽分化率の関係

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Norimitsu Hamaoka, Misato Nabeshima, Takahito Moriyama, Yudai Kozawa, Yushi Ishibashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Photoperiodic regulation of tuber enlargement in water yam (<i>Dioscorea alata</i> L.)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Agronomy	6. 最初と最後の頁 2939
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/agronomy12122939	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鍋嶋美里・森山貴仁・濱岡範光・石橋勇志
2. 発表標題 ヤムイモの塊茎肥大制御機構の解析
3. 学会等名 日本作物学会第249回講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------