

(様式第4号)

## 実施課題名※ 小麦におけるシンクロトロン光を用いた突然変異育 種法の開発

**English** Development of mutation breeding using synchrotron light in wheat.

著者氏名 松中 仁

**English** Hitoshi MATSUNAKA

著者所属 (独)農研機構・九州沖縄農業研究センター

**English** NARO/KARC

※長期利用課題は、実施課題名の末尾に期を表す(I)、(II)、(III)を追記すること。

### 1. 概要

本研究において、シンクロトロン光を利用したコムギの突然変異育種法の開発を目的として、小麦乾燥種子にシンクロトロン光を照射した。発芽率、苗立ち率、稔実率を調査した。線量との生存曲線から、シンクロトロン光を利用したコムギの突然変異処理には、65Gyから110Gy程度の線量が最適であると考えられた。

### (English)

Synchrotron lights can be employed to induce mutation. We examined the effects of synchrotron lights by using wheat(*T. aestivum*) seeds. As a result, we predict that appropriate irradiation dose for mutagenesis is 65-110Gy in wheat.

### 2. 背景と研究目的：

突然変異育種は、新規の有用な遺伝資源を作出するための非常に有用な手法の一つである。しかしながら、コムギではこれまで実用品種として数品種が育成されただけにとどまっており、イネやオオムギなど他のイネ科作物と比較しても、その数は極端に少ない。コムギで突然変異育種が利用されなかった大きな理由は、コムギが異質6倍体であるため、同祖の遺伝子が少なくとも3つ程度存在していると考えられており、1つの同祖遺伝子に突然変異が生じても、残された複数の同祖遺伝子が正常に機能しているため、表現型に現れてこないためと考えられる。

近年、コムギにおいても同祖遺伝子が識別された遺伝子が、多く単離されるようになり、コムギの遺伝子型の同定が進んできている。そのため、照射する材料について、変異処理する遺伝子特定の形質に関与する遺伝子型を試験の目的に応じて選定することで、表現型のち容易に突然変異をスクリーニングすることが可能になってきている。そこで、本研究では、シンクロトロン光によりコムギで突然変異を誘発するために、最適な照射条件を明らかとする。

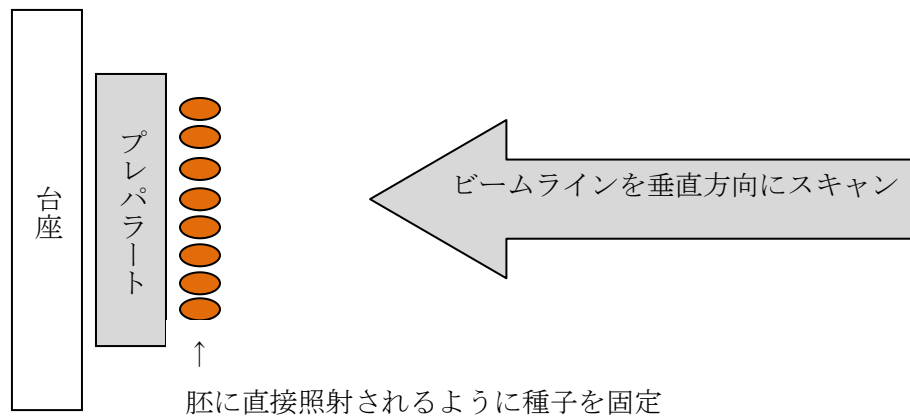
### 3. 実験内容 (試料、実験方法の説明)

コムギの乾燥種子に、白色X線光を照射する。照射の条件は、20.83mAhとし、減衰板により遮蔽し数段階の吸収線量になるよう変化させて、突然変異処理を行う。

- 1) 照射材料：コムギ乾燥種子6品種・系統(ニシカゼコムギ、きぬいろは、チクゴイズミ、ミナミノカオリ、西海188号、アブクマワセ)
- 2) 使用ビームライン：SAGA-LS BL09
- 3) 線量：0Gy(照射無し：対照)15Gy, 30Gy, 65Gy, 110Gy, 210Gy, 525Gy
- 4) 調査項目：発芽粒率、苗立ち率、稔実状況
- 5) 実験手順：
  - (1) 事前にガラスプレパラート(25mm×70mm)に胚を表向きに揃え種子を固定する。プレパラート1枚につき100粒の種子を固定。
  - (2) 固定台にプレパラートを固定。

- (3) シンクロトロン光を照射.
- (4) 材料を回収し、発芽粒率、苗立ち率、稔実を調査.

図1.照射状況



#### 4. 実験結果と考察

照射後の種子を、ろ紙を2枚敷いたシャーレに置床し、蒸留水6mlを加え、15℃・暗条件で7日間発芽粒を調査した。3本の種子根が発根した状態を、発芽と定義した。発芽した種子は、順次シャーレから取り出し、園芸培土を充てんした育苗トレイに移し、無加温のガラス室で生育させた。

供試した6品種・系統の発芽率の平均値は、照射による影響は認められなかった(図2)。高線量(525Gy)でやや発芽率が低下しており、さらなる高線量では、発芽率の低下を引き起こす可能性も考えられるが、今回試験した線量においては、いずれの材料も発芽は正常にしたと考えられる。

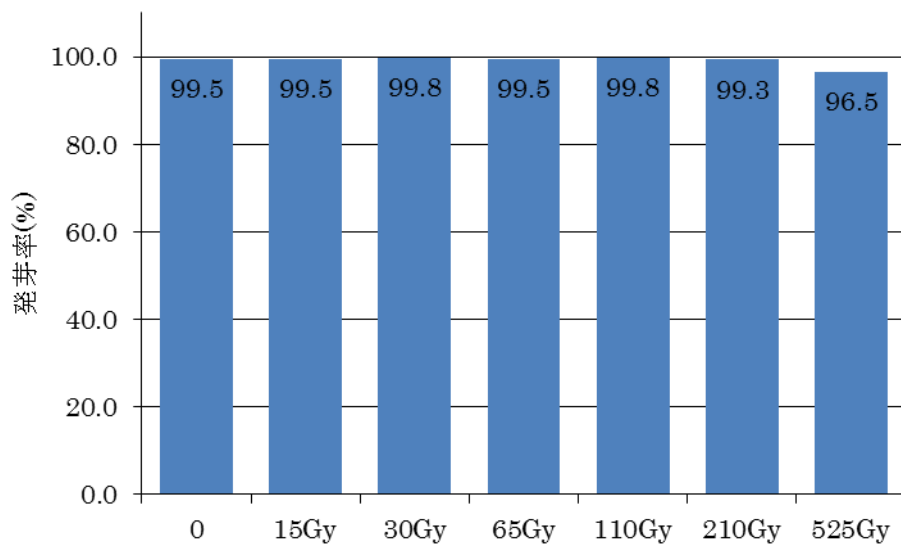


図1. 6品種・系統の発芽率

育苗トレイに移植後、4週間後の苗立ち率(苗立ち個体/移植粒数)を調査した。6品種・系統の苗立ち率の平均値は、照射線量の増加に伴い、低下していた(図2)。線量が65Gy、110Gyでは、低線量もしくは高線量と比較して標準誤差が大きくなっており、品種・系統間により線量に対する応答が異なることが示唆された。本試験では、供試材料につき1回の照射しかしておらず、試験の反復を行っていないため、品種・系統間の応答性については再試験が必要だと思われる。一般的に突然変異は、生存率50%が最適線量とされており、苗立ち率と線量との関係から得られた生存曲線から、シンクロトロン光を利用したコムギの突然変異においては、65Gyから110Gy程度が最適線量と考えられる。

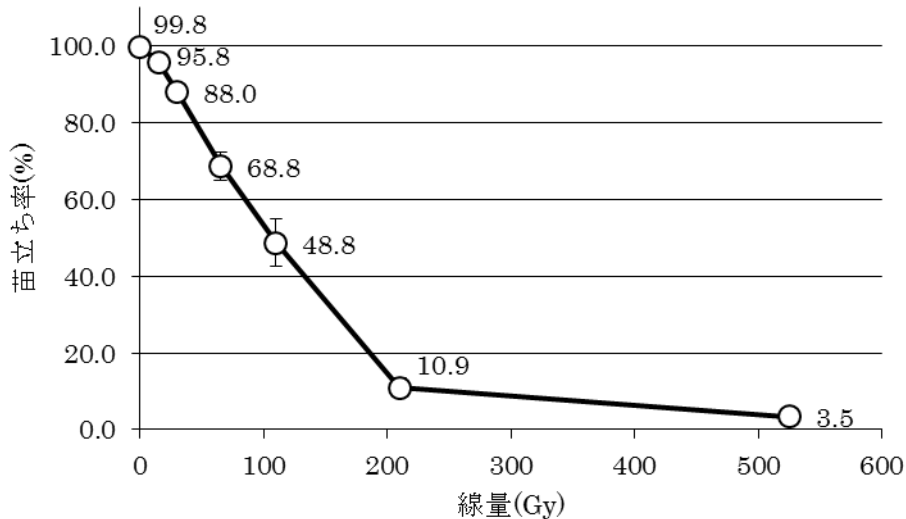


図2. 6品種・系統の線量と苗立ち率の関係

無加温のガラス室で移植後6週間生育させたのち、屋外で成熟期まで生育させ稔実個体率（稔実個体/移植粒数）を調査した。収穫は移植後12週間後に行った。収穫できた個体について、種子の稔実状況を調査したところ、すべての穂について正常に稔実しており、不稔が目立つ個体は認められなかった。苗立ち後、枯死した個体について、収穫時に達観で生育を観察したところ、出穂した個体は認められず、苗立ち後の枯死は生殖成長に移行できないためと考えられ、生殖成長に移行できた個体については、概ね出穂・着粒していたと考えられる。

6品種・系統の稔実個体率の平均値は、照射線量の増加に伴い、低下していた(図3)。稔実個体率と線量との関係から得られた生存曲線から、シンクロトロン光を利用したコムギの突然変異は65Gy程度の線量が最適線量と考えられた。

また、稔実個体/苗立ち個体の割合は、線量が増加するに伴い、低下する傾向にあり、出穂できずに枯死する個体が増加していたと考えられる(図4)。苗立ち個体に占める稔実個体の割合の標準誤差は、苗立ち率や稔実個体率の標準誤差よりも大きな値となっており、品種・系統間差が大きいと考えられる。

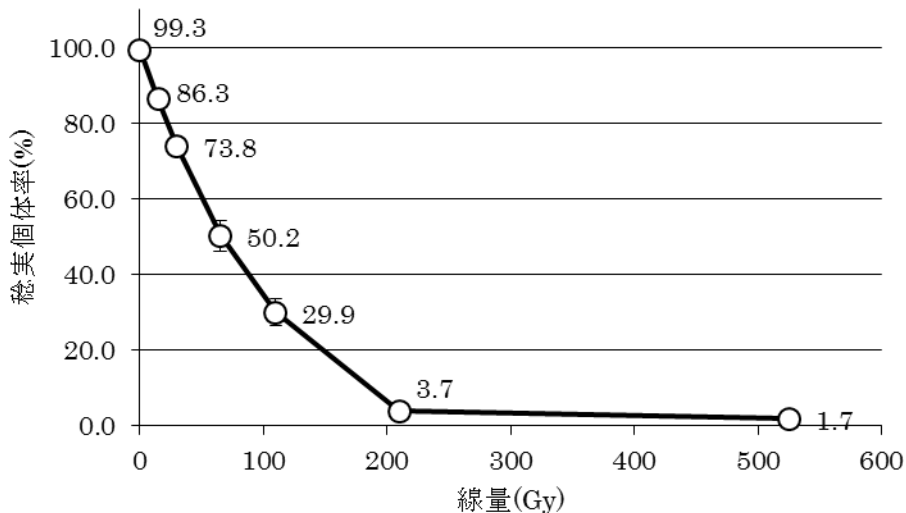


図3. 6品種・系統の線量と稔実個体率の関係

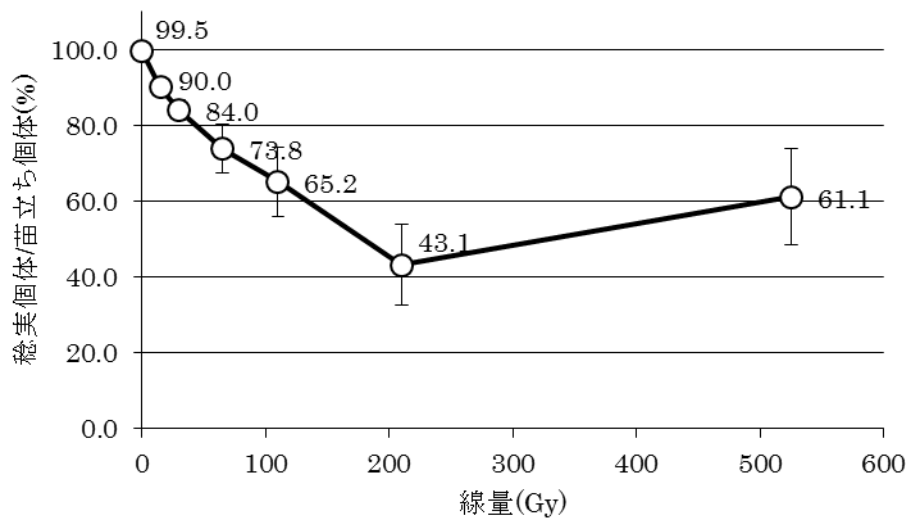


図 4. 6 品種・系統の線量と稔実個体/苗立ち個体の関係

#### 5. 今後の課題：

本研究において、苗立ち率と稔実個体率から線量との生存率曲線を作成することができた。一般に突然変異は生存率 50% が最適線量とされており、今回の試験からは、65~110Gy の間に最適線量が存在すると考えられた。品種・系統により最適線量が多少異なる可能性もあるため、より詳細な線量の検討が必要である。また一方で、コムギは 6 倍体植物であるため、同祖の機能を有する遺伝子が重複して存在していると考えられる。同時に 3 つの遺伝子が突然変異を受けなければ、生存することは可能であるため、最適線量が生存率 50% ではない可能性も示唆される。そのため、今後は遺伝子レベルでの変異の頻度についても解析を行う必要がある。

#### 6. 論文発表状況・特許状況

特になし。

#### 7. 参考文献

特になし。

#### 8. キーワード (試料及び実験方法を特定する用語を 2~3)

- ・突然変異

偶発的または人為的に DNA 塩基配列が変化すること

- ・異質 6 倍体

生存に必要な最小限の染色体セットが、3 種類の植物由来から構成されており、一般的には同じ機能を有する遺伝子が、3 つ程度存在している。

- ・Gy (グレイ)

放射線のエネルギーがどれだけ物質に吸収されたかを表す単位