

近縁野生種を用いたジャガイモの干ばつ耐性強化試験

井上 智博 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 菊池 彰 (筑波大学 生命環境系)

【背景 目的】

近年、地球全体で大規模な気候変動が進行しつつあり、作物の収量に対して負の影響を及ぼしている。一方で世界の人口は増え続けているため、気候の変動に対応した作物を開発することが急務である。研究材料としたジャガイモ (*Solanum tuberosum*) は、小麦、米、トウモロコシに並ぶ世界四大作物の一つであり、世界中で栽培されているが、乾燥ストレスに弱いため、この欠点を補強することが必要である。ジャガイモは近縁種との交配が可能な場合があるため、強い乾燥耐性を持つ近縁野生種と栽培品種を交配させることで栽培品種の長所を備えた乾燥耐性ジャガイモの作出が可能となる。

所属する研究室で実施された近縁野生種の乾燥耐性評価試験から、*S. chillonanum* 11TA (11TA) が選抜されている。本研究では、栽培種に乾燥耐性形質を導入するために作出された、交雑種子を用いて目的の耐性形質を持つ個体の選抜を行うとともに、将来的には乾燥耐性に寄与する遺伝子の探索を目指す。

【材料】

・植物材料

乾燥耐性を持つ 11TA とジャガイモを交配させるため作出された、倍加個体 (11TA-21) と、*S. tuberosum*、*S. phureja*、*S. chacoense* を種間雑種個体 (13A-31-101) を親個体として用い、両者を交配させた種子と両親個体を共同研究先より入手した。両親個体の植物材料は Murashige and Skoog (MS) 固形培地上で、25°C、16 時間明期、8 時間暗期で継代培養し、維持している。

・ストレス培地

乾燥ストレスの代用として実験的には浸透圧ストレスを用いた。MS 液体培地にはポリエチレングリコール (PEG) を、MS 固形培地にはマンニトールを含ませたものを用いた。PEG やマンニトールの濃度を変えることで任意にストレス強度の設定が可能である。ストレス強度は先行論文 (Duc et. al. 2014) を参考にしている。

【方法】

1. 11TA-21 と 13A-31-101 の乾燥耐性評価 (親世代評価)

植物材料を試験管内で増殖させた後、植物体の側芽を含むように切り出し、その植物片を通常の MS 液体培地が入った 250 ml 瓶に 3 片ずつ入れて 4 週間振盪培養 (80 rpm、25°C、16 時間明期、8 時間暗期) する。その後、PEG の入った MS 液体培地に入れ替え、振盪培養 (80 rpm、25°C、16 時間明期、8 時間暗期) をおこない、9 日後に植物体の葉の萎れや変色の具合を点数化する。評価は、茎頂から 2~5 番目の計 4 枚にそれぞれおこない、葉の萎れや変色が 0% (3 点)、50% 未満 (2 点)、50% 以上 (1 点) 100% (0 点) として、植物体の乾燥耐性を 12 点満点で評価する。なお、PEG の濃度と浸透圧の関連については文献 (Michel 1983) を参考にしている。

2. 種子の乾燥耐性評価 (子世代評価)

11TA と 13A-31-101 を交配させて得られた種子からより乾燥耐性を持つ個体を選抜するため、三段階に分けた選抜を行う。一次選抜においては 0.04 g/ml のマンニトールを含む MS 固形培地を用いた。固形培地上に種子を配置し、1 ヶ月後に発芽しかつ子葉が確認できる状態の個体を選抜した。二次選抜では、一次選抜された個体を継代し増殖させ、各系統 5 個体に対しマンニトール添加培地での成長評価をおこなう。二次選抜で優良と思われた系統に関しては、増殖後、親世代評価と同様の PEG 入り MS 液体培地を用いた三次選抜を行う。親世代の耐性評価試験を元に適切な濃度を設定する。

【結果 今後の展望】

1. 親世代の乾燥耐性評価

継代培養中の時点で 13A-31-101 と 11TA-21 を比較すると、密閉性の高いパラフィルムから通気性のあるサージカルテープに封を変更する程度の乾燥で 13A-31-101 は枯れ始める傾向があった。そのため 13A-31-101 は乾燥耐性を持つ 11TA-21 と比較して低い PEG 濃度で試験をおこなう必要がある。具体的には 11TA-21 では -2.4、-1.8、control の 3 濃度、13A-31-101 では -1.8、-0.9、control の 3 濃度 (単位は MPa) で試験を行う。11TA-21 の限界となるストレス強度を、子世代三次選抜におけるストレス強度とする。

2. 子世代種子の乾燥耐性評価

一次選抜では日を分けて 2 グループ行った。第 1 グループでは 105 個、第 2 グループ 112 個の種子の発芽試験を行った。子葉を展開した個体は第 1、第 2 グループ共に 17 個体であった。半数以上の種子が未発芽で、第 1 グループでは 66、第 2 グループでは 77 個あった。これらが種子保存中に死んでいたのかを確かめるため DW で洗浄後、通常の MS 固形培地上に移したところ、第 1 グループでは 59/66 個体、第 2 グループでは 60/77 個体が発芽したことから、両グループから共に 17-8%ほどの個体が耐性系統として選抜されたことになる。

二次選抜に向けてストレス強度の設定のため、品種 Desiree を用いた。0.04、0.08、0.12、control の 4 種のマンニトール濃度で行った (単位は g/ml)。0.04 g/ml では Desiree は成長を阻害され、0.08 g/ml 以上の濃度では枯死した。子世代種子から得られる耐性系統は Desiree より高い乾燥耐性を持つと考えられるため、二次選抜の濃度は 0.04 g/ml 以上の濃度でより細かい濃度でスクリーニングを行う。そして選抜されたものを継代により増殖させ、三次選抜に移る。

【参考文献】

Duc et. al. (2014) *Plant Biotechnology* 31: 77-81
Michel (1983) *Plant Physiol.* 72: 66-70