



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：1811112T

BL番号：09

(様式第5号)

シンクロトロン光照射によるカンキツの突然変異個体作出手法の開発
Development of method producing a mutant individual with using synchrotron
light in Citrus.

法村彩香・園田真一郎

English Ayaka Norimura・Shinichiro Sonoda

長崎県農林技術開発センター果樹・茶研究部門カンキツ研究室

English Nagasaki Agricultural and Forestry Technical Development Center
Sector of Fruit Tree and Tea. Citrus Laboratory

- ※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（注：結論を含めて下さい）

シンクロトロン光を用いたカンキツの突然変異誘発のため最適な照射線量を検討するため、X線をカンキツの実生、穂木および種子に照射した。照射後の生育を調査した結果、実生では吸収線量0~40Gyで照射すると生存率は高いが、80Gyでも半数は生存可能である。また、照射によるわい化の傾向は見られなかった。カンキツ多胚品種‘せとか’の種子は吸収線量80Gyで照射した場合、実生個体を作成できないことが確認された。

(English)

The X-ray were irradiated to the seedlings, the scions and the seeds of Citrus to examine the possibility of mutagenesis of citrus by synchrotron radiation. As a result of growth investigation into irradiation individual, the survival rate of the irradiation seedlings were high in the 0~40Gy irradiation group, and those half survived in the 80Gy irradiation group. In addition, it was not confirmed that the irradiation individual dwarfed. When the polyembryony seeds of ‘Setoka’ (hybrid of *Citrus spp.*) were irradiated at 80Gy, it was confirmed that a survival individual was not provided from irradiation group.

2. 背景と目的

ウンシュウミカン育種では、主に珠心胚由来の実生から変異個体を選抜したり、「枝変わり」と呼ばれる成長点の突然変異による枝単位の変異部分を接ぎ木したりする方法で新品種を作出している。しかし、これらの突然変異は自然界で偶発的に起こるもので、変異系統を得るには確率が低く、効率的でない。また、本県ではこれまで珠心胚実生から新系統の選抜試験を行っているが、変異幅が小さく、浮き皮果しにくい等の大きな形質変異は得られていない。

これまで静岡県農林技術研究所では重イオンビーム照射により、着色や浮き皮しにくい系統の選抜に成功しており、放射線を利用した突然変異育種の有効性が示されてきた。さらに、佐賀県果樹試験場では九州シンクロトロン光研究センターのシンクロトロン光を利用した突然変異育種により、とげ

消失変異個体を獲得しており、量子ビーム照射によるカンキツ育種の可能性が示唆されている。

そこで、カンキツにおけるシンクロトロン光を用いた突然変異誘発の新たな手法を検討し、カンキツ育種分野における有用な手法を明らかにする。

3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

シンクロトロン光を用いた突然変異誘発のため最適な照射線量を検討する。実生は、照射約 50 日後の生存率および生存個体の生育について調査する。種子は、照射 10 日後の生育、照射 15 日後の生存率について調査する。

- (1) 照射品種：今村温州、盛田温州、せとか、津之望
- (2) 照射部位：種子（せとか）
穂木（今村温州、津之望）
実生（今村温州、盛田温州）
- (3) 照射線種：白色 X 線光（BL9）
- (4) 吸収線量：0Gy、5Gy、10Gy、20Gy、40Gy、60Gy、80Gy
- (5) 照射個体数：各区 30～50 個体程度

表 1 供試試料と吸収線量ごとの照射個体数

照射品種	照射部位	吸収線量 (Gy)						
		0	5	10	20	40	60	80
今村温州	実生	45	45	45	45	45	—	45
	穂木	○	○	○	○	○	—	○
盛田温州	実生	30	30	30	30	30	—	30
せとか	種子	○	—	—	○	○	○	○
津之望	穂木	○	○	○	○	○	—	○

注) ○は照射を行ったこと、- は照射していないことを示す

(5) 試料作製方法および照射方法

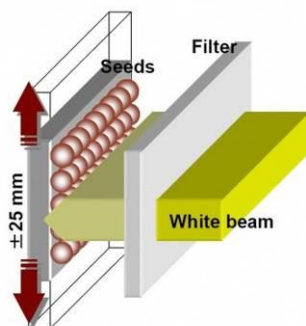
実生：ビーム照射 8～10 週間前に種子をシャーレに播種し、ビーム照射 5～7 週間前にポット（倍土）に移植する。照射はビームが生長点に当たるよう配置する。

種子（吸水）：ビーム照射 1 日前に播種し、照射後はシャーレに播種し発芽を促したのち、培土に移植する。

穂木：ビーム照射 1 日前に採取する。照射後は 3 月末から 4 月上旬にかけて高接ぎを行う。

実生および種子は、播種以降、室温 25℃、相対湿度 75%の恒温恒湿室で生育させる。穂木は高接ぎまで 4℃の冷蔵庫で保管する。

試料は下図のように配置させて、ビームを指定した吸収線量になるよう照射する。



実験レイアウト（種子）



実験レイアウト（実生）

4. 実験結果と考察

(1) 温州ミカン実生の照射約 50 日後生存率 (表 2)

盛田温州実生に吸収線量 5Gy で照射すると、約 50 日後の生存率は 83.3%と無照射 (0Gy) より低下したが、20Gy までは 80%台を維持した。40Gy では 80%を下回り、80Gy で急激に低下した。

今村温州実生では、0~40Gy は 95%以上を維持したが、80Gy の吸収線量で急激に低下した。

以上のことから、実生苗に対しシンクロトン光を吸収線量 0~40Gy で照射すると生存率は高いが、80Gy でも半数は生存可能である。照射個体の突然変異が誘発されたかについて現時点で判断できないため、今後の生育について引き続き調査する必要がある。

(2) 温州ミカン実生の照射約 50 日後までの生育状況 (表 3)

ビーム照射日 (1 月 22 日) の実生丈は、盛田温州で 18.3~28.6mm、今村温州で 25.9~36.2mm であった。照射後約 50 日後に実生丈を調査したところ、伸長量は無照射 (0Gy) とあまり変わらないか、照射した個体で高くなるものもあった。吸収線量の違いによるわい化等の傾向は見られなかった。

(3) カンキツ多胚種子の照射後の生育 (表 4)

カンキツ多胚種子に 20~80Gy の吸収線量を照射すると、照射 10 日後の根長および芽長の生長が有意に抑制された。

20Gy では 0Gy と比較して発芽率が低下したが、発根率および生存率は同等であった。80Gy では照射 10 日後で胚が褐変し、腐敗する個体が 3 割以上で認められ、生存率は 0%であった。

今回の試験では、カンキツ多胚種子に 20Gy より高い吸収線量を照射した場合に芽長が有意に抑制された。また、80Gy 以上の吸収線量を照射した場合、実生個体を作成できないことが確認された。カンキツ多胚種子においては、これまで佐賀県果樹試験場によって BL9 および BL7 を利用した照射が行われており、BL9 では吸収線量が 40Gy より高くなると実生丈は低くなり、60Gy より高くなると発芽率が大きく低下し、さらに吸収線量 80Gy においても発芽個体を得られることが確認されている (青山, 2017)。今回得られたデータにおいて、前例より低い吸収線量で生育差がみられた要因としては、供試した品種の種子あたりの胚数が多く、胚の大きさが小さかったことで線量の影響を受けやすかったことが考えられた。また、吸収線量 60Gy の生存率は 20Gy と同等、かつ 40Gy よりも有意に高くなっており、生存可能な限界の吸収線量を判断できなかった。吸収線量が高くなるほど生存率が低くならなかった原因は不明であるが、今後は照射実生の生育を継続調査するとともに、変異個体が効率的に作成できる吸収線量を明らかにするために 20Gy 以上 80Gy 未満で再度照射試験を行う必要がある。

表 2 吸収線量 (Gy) の違いによる温州ミカン実生の照射約 50 日後生存率 (2018)

品種	照射約50日後生存率 (%)					
	0Gy	5Gy	10Gy	20Gy	40Gy	80Gy
盛田温州	100.0	83.3	86.7	80.0	76.7	56.7
今村温州	97.8	97.8	97.8	97.8	95.6	71.1

表 3 吸収線量 (Gy) の違いによる温州ミカン実生の生育 (2018)

品種	調査日 (照射後日数)	実生丈 (mm)					
		0Gy	5Gy	10Gy	20Gy	40Gy	80Gy
盛田温州	1/22 (0日)	23.1	28.6	19.8	21.7	18.3	21.3
	3/14 (50日)	23.3	30.8	20.3	24.6	18.5	26.1
	伸長量 (mm)	0.2	2.2	0.5	2.9	0.3	4.7
今村温州	1/22 (0日)	25.9	36.2	36.1	35.8	32.7	31.7
	3/14 (50日)	26.5	37.6	38.1	37.6	34.5	33.7
	伸長量 (mm)	0.6	1.4	2.0	1.7	1.8	1.9

表4 吸収線量 (Gy) の違いによるカンキツ多胚種子の生育 (2018)

吸収線量	供試胚数 (個)	根長 (mm)	発根率 (%)	芽長 (mm)	発芽率 (%)	胚の腐敗率 (%)	生存率 (%)
0 Gy	133	11.2 a ^z	65.4 a	4.0 a	48.9 a	0.0 b	48.1 a
20Gy	118	4.1 b	66.9 a	2.2 b	29.7 b	0.0 b	43.2 ab
40Gy	184	0.9 b	55.4 ab	0.1 d	3.3 c	0.0 b	6.5 bc
60Gy	90	2.4 b	61.1 a	0.7 c	27.8 b	0.0 b	33.3 b
80Gy	88	0.4 b	31.8 b	0.0 d	0.0 c	34.1 a	0.0 c

^z 生育調査は照射 10 日後、生存率は照射 15 日後に調査。

^y Tukey-kramer 法により異なるアルファベット間は 5%有意水準で有意差あり

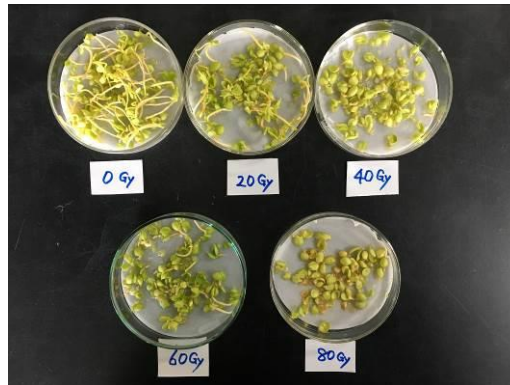


写真1 吸収線量 (Gy) の違いによるカンキツ多胚種子の照射 10 日後の様子

5. 今後の課題

照射実生の生育を継続調査し、形質変異の有無を調査する。また、照射穂木については高接ぎを実施後、発芽した枝の生育調査を行う。さらに、変異個体が効率的に作出できる吸収線量を明らかにするために照射する吸収線量の範囲を変えて再度照射試験を行う。

6. 参考文献

青山 直子. シンクロトロン光を利用したカンキツ品種開発への可能性. 第 12 回九州シンクロトロン光研究センター研究成果報告会実施報告書. 2017. p22-28.

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)

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)

ビーム照射、カンキツ

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(2018年度実施課題は2020年度末が期限となります)。

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)