



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：1411124R

B L 番号：BL09A

(様式第5号)

キクにおけるシンクロトロン光を用いた突然変異育種 Induction to mutation using the synchrotron light in *chrysanthemum* sp.

植松 紘一
Koichi Uematsu

長崎県農林技術開発センター

Agriculture and Forestry Technical Development Center, Nagasaki Prefectural Government

- 1 先端創生利用(長期タイプ、長期トライアルコース、長期産学連携コース)課題は、実施課題名の末尾に期を表す() () () を追記してください。
- 2 利用情報の開示が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後二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。(トライアルコース、及び産学連携コースを除く)

1. 概要(注:結論を含めて下さい)

本研究では、輪ギクの花弁培養において、シンクロトロン光を用いた実用的形質を有する系統の作出を目的として、吸収線量が花弁生存に及ぼす影響と植物体再生率を調査した。その結果、有効な吸収線量は15~20Gyと示唆されたが、植物体再生率を考慮すると有効な吸収線量は決定できなかった。

In this study, we have investigated that synchrotron light can be employed to induce mutation. To produce strains having commercial traits in petal segments culture of *chrysanthemum*, we investigated the effects of level radiation on survival of the petal and percentage of plant regeneration.

As a result, we considered that it is effective when irradiated with 15-20Gy of synchrotron light. But we cannot decide effective level of radiation on survival of the petal considering percentage of plant regeneration.

2. 背景と目的

前回の照射では、長崎県で育成された輪ギクおよび小ギクの変異個体作出のために、材料に穂を用いて照射を行い輪ギクおよび小ギクの生存曲線を作成した。そして、生存曲線から突然変異体を効率的に得られる放射線量を決定した。

本試験では組織培養と放射線を併用した突然変異方法を確立するため、今回は植物組織片(花弁)にシンクロトロン光を照射する。しかし、効率的な変異個体作出の放射線量が決定していないため、今試験では生存曲線の作成を試みる。

3. 実験内容(試料、実験方法、解析方法の説明)

- 1) 供試系統
 - ・輪ギク系統:「長崎C」
- 2) 照射部位
 - ・キク花弁
- 3) ビームライン
 - ・LS-09A

4) 吸収線量

・輪ギク花卉

0Gy (対照区)、2Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy、30Gy

5) 供試数 (花卉)

吸収線量 (Gy)	0 (対照区)	2	5	10	15	20	30
花卉数 (枚)	120	120	122	120	141	140	120

6) 調査項目

・輪ギク花卉

照射後3週間目の花卉枯死率および照射後7週間目の花卉からの植物体再生率

7) 実験方法

照射7~10日前にキク花卉を植物体再生シャーレ培地(5.5cm)1枚あたり20枚置床する(図1)、置床後、25℃暗所に照射日まで静置する。

照射はシャーレを縦に貼り付け2枚並べて固定する(図2)。

処理区ごとに試料にシンクロトロン光を照射する。

照射後は、25℃、3000Luxの培養庫内で3週間培養し、3週間目にカルスを形成せずに枯死した花卉数を調査する。その後、MS基本培地に移植し、カルスから植物体を再生させる。

移植後4週間目に植物体を再生した花卉数を調査する(図4)。

~今後の予定~

再生した植物体を圃場に定植し、突然変異の有無を調査する。

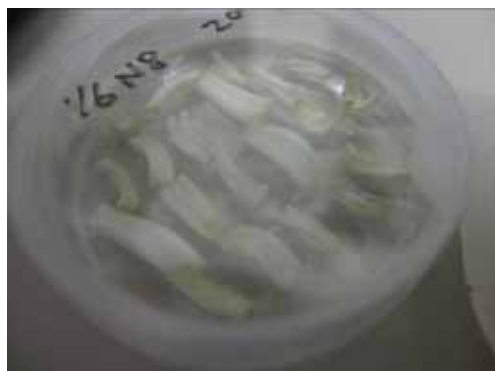


図1 培地上に置床したキク花卉

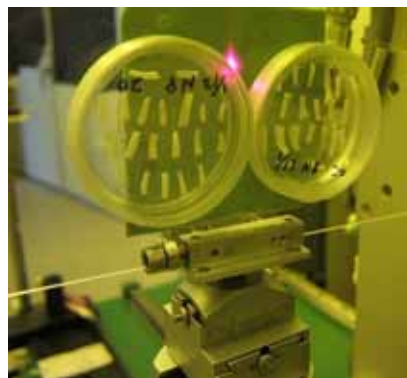


図2 照射のために固定した試料



図3 花卉から誘導されたカルス



図4 花卉(カルス)から再生してきた植物体

4. 実験結果と考察

輪ギク花卉培養における照射3週間後の花卉枯死率と照射7週間後の植物体再生率を表1に示す。花卉枯死率は、対照区では7.5%と低く、放射線量が上がるにつれ、花卉枯死率も高くなり、30Gyでは75.8%の花卉枯死率であった。また、生存した花卉からの植物体再生率は対照区で3.3%と1番高くなり、2、30Gyで0.8%、15Gyで0.7%であった。

以上の結果から、線量反応曲線の肩付近から生存率が半減する線量が、変異誘発の最適線量である

ことを考慮すると、変異誘発に有効な吸収線量は 15～20Gy が有効であると考えられた。ただし、その後の植物体再生まで考慮すると、15～20Gy では得られる植物体が非常に少なくなる可能性が高い。現在は、再生してきた植物体を順化、栽培し変異体を確認するため、植物体を培養庫内で生長させている。この栽培結果を踏まえ最適線量を決定する必要があると考えられた。

表 1 各放射線量における輪ギク花卉培養の花弁枯死率および植物体再生率

放射線量 (Gy)	供試数 (枚)	花弁枯死数 (枚)	花弁枯死率 (%)	植物体再生花弁数 (枚)	植物体再生率 (%)
0	120	9	7.5	4	3.3
2	120	12	10.0	1	0.8
5	122	14	11.5	0	0.0
10	120	27	22.5	0	0.0
15	141	50	35.5	1	0.7
20	140	84	60.0	0	0.0
30	120	91	75.8	1	0.8

5. 今後の課題

今回の植物体再生培地では、再生率が悪かったため再検討を行う必要がある。また、再生してきた植物体については、栽培試験を行い変異体の調査を行う。

6. 参考文献

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)

- ・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。
- ・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。
- ・組織培養: 植物の組織片を脱分化させ、さらに再分化させることにより植物体を再生させる方法

9. 研究成果公開について

研究成果公報の原稿提出

(提出時期: 年 月)