

放射光を用いた突然変異育種法の開発

○西美友紀・伊東寛史・岡和彦

佐賀県農業試験研究センター

1. 背景及び目的

突然変異育種法は、有用な遺伝資源を得るための育種法の1つであり、農作物の品種開発において、一部形質の改良等に利用されている。中でも量子ビームによる突然変異育種法は、誘発される変異の幅が広く、新規の形質も得られやすいことから活発な研究開発が行われている。シンクロトロン光も量子ビームの一種であることから、植物の突然変異育種に利用できる可能性が推測されるものの、変異原として利用された例はない。そのため、佐賀県では、平成20年度よりイネ、ダイズ、イチゴ、キク等の本県主要作物を用いて、シンクロトロン光の突然変異育種への活用を試みてきた。本発表では、主にイチゴを中心として、シンクロトロン光の突然変異誘発の可能性について得られた知見を報告する。

2. 試験方法

- 1) 吸収線量の検討：イチゴ‘さがほのか’の茎頂由来多芽体を用い、吸収線量を段階的に変えたシンクロトロン光を照射した。照射8週間後に多芽体の増殖倍率（重量）を調査し、変異誘発に有効な線量を検討した。
- 2) 変異形質調査：35 または 75Gy のシンクロトロン光を照射した多芽体を増殖培養し、順化を行った後、鉢上げした635株について果皮色の達観調査を行い、果皮色変異体を選抜した。
- 3) 重イオンビームとの変異率比較：イチゴ‘さがほのか’にシンクロトロン光または重イオンビーム照射を行い、達観調査により得られた変異体のうち、1系統あたり3～5株採苗できた59系統を供試した。2011年12月～2012年3月の毎月1回5果ずつ、色彩色差計（CR-300，ミノルタ）を用いて果実の日おもて面を2点計測し、赤色の度合いを調査した。

3. 結果の概要

- 1) 照射8週間後の多芽体増殖倍率は、対照区の23.2倍に対し、35Gy区では18.6倍、75Gy区では13.0倍と吸収線量が高くなるほど低下した。また、230Gy以上の区では、ほとんど増殖しなかった。以上の結果、線量反応曲線の肩付近から増殖倍率が半減する線量までが変異誘発の最適線量であることから推測すると、変異誘発に有効な吸収線量は、35～75Gy付近であると考えられた。
- 2) シンクロトロン光を照射して得られた635株のうち、対照区と比較して果皮色に変異した個体は、濃赤化変異体22株、淡赤化変異体15株の計37株であった。
- 3) 変異原別の果皮色変異における突然変異率を比較すると、濃赤化変異では、シンクロトロン光1.1%、重イオンビーム1.2%、淡赤化変異では、シンクロトロン光1.3%、重イオンビーム1.2%であった。以上の結果から、果皮色変異について、シンクロトロン光は、重イオンビームと同等程度の変異率を有することが明らかになった。

放射光を用いた 突然変異育種法の開発

佐賀県農業試験研究センター

○西美友紀・伊東寛史・岡和彦

[1]

突然変異育種法の特徴

長 所

- 目的形質を既存品種に持たせることができる
- 他の形質はそのままのため、短期間で品種改良ができる
- 遺伝資源を人為的に拡大できる
(分子生物学や遺伝学研究の材料)



短 所

- 大量の個体が必要
- 改良が期待できる形質が限られている
- 遺伝様式として劣性から優性の変異はほとんど得られない
- 倍数性が高い植物では、選抜が難しい



植物の選定と目的とする形質の選定が重要!

[2]

変異原の種類

放射線と化学変異原の2種類に分けられる

* 放射線

- 空間を伝わるエネルギーの流れ
- 電離放射線(ガンマ線、X線など)と粒子線(中性子線、イオンビーム)がある
- 突然変異効率は低い
- 処理が容易



• 化学変異原

- 突然変異誘発性をもつ化学物質
- 発がん性をもつものが多い
- アルキル化合物(EMS, DES, MNU など)が一般的に用いられる
- 突然変異効率が低い
- 大量に処理できない



[3]

シンクロtron光 → 変異原としての利用例がない

シンクロtron光を 突然変異育種に活用するためには？

- 植物にどうやって照射するか？・・・

植物の選定

照射方法の設定

- 本当に変異が起こるのか？・・・

照射植物の形質解析

- 他の変異原の比べてどうなのか？

.....

変異効率の比較

[4]

- 植物にどうやって照射するか？.....

植物の選定

照射方法の設定

[5]

使用する品目の選定



イネ



ダイズ



イチゴ



アスパラガス



キク

[6]

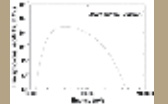
作物、野菜、花きの中で佐賀県主要品目5つを選定

照射方法の設定～照射ライン～

県有ビームライン

名称	用途	光子エネルギー
BL07	バイオ・イメージング	5keV～35keV
BL09A	照射・結晶構造	白色（ビーク4keV）
BL10	ナノサイエンス	40eV～900eV
BL11	局所構造	2.1keV～23keV
BL12	表面界面	40eV～1500eV
BL15	物質科学	3.5keV～23keV

ビームライン09A



[7]

照射方法の設定～効率的にするためには～

無暗に照射しても、変異はでない！



無照射区



突然変異が誘発されると考えられる線量

LD₅₀

照射区



低線量

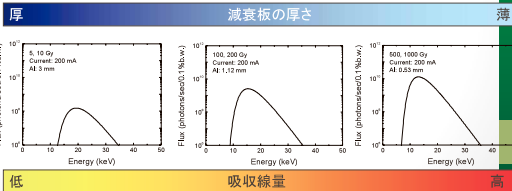
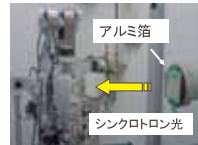
高線量

シンクロトロン光照射

[8]

照射方法の設定～減衰版の利用～

アルミ箔の厚さを変えて、
吸収線量を調節

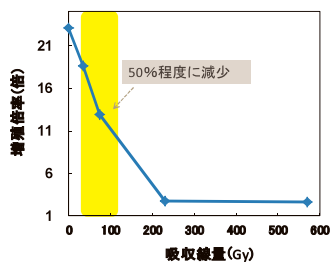


吸収線量の検討方法



[10]

シンクロトロン光の吸収線量とイチゴ多芽体の増殖倍率



変異誘発に有効な吸収線量=35～75Gy付近

[11]

・ 本当に変異が起こるのか？……

照射植物の形質解析

[12]

照射植物の形質解析～変異体の探索方法～

検討した吸収線量を照射した個体を増やす



[13]

変異体の探索



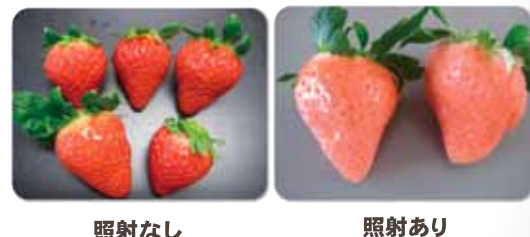
[14]

シンクロトロン光照射により得られた形質別変異株数

線量	供試数	果皮色		葉形	葉色	不稔	変異株合計
		濃赤	淡赤				
35Gy	467	10	12	0	0	2	24
75Gy	168	12	3	3	1	6	23
合計	635	22	15	3	1	8	47

[15]

変異体の探索 ～果皮色変異～



照射なし

照射あり

[16]

変異体の探索 ～葉形変異～



照射なし

照射あり

[17]

・他の変異原の比べてどうか？……

変異効率の比較

[18]

他の変異原？

ガンマ線

放射線育種場 ガンマフィールド
(茨城県水戸市)



重イオンビーム

理化学研究所 仁科加速器センター
(埼玉県和光市)



[19]

重イオンビームとの比較

シンクロtron光照射

重イオンビーム照射



突然変異率の比較

シンクロtron光の変異原としての有用性を検証

[20]

重イオンビームとの比較

- 供試系統：
 - ①シンクロtron光：濃赤19系統、淡赤12系統
 - ②重イオンビーム：濃赤11系統、淡赤11系統
- 供試株数：5株／系統
- 対照区：無照射の「さがほのか」29株
- 調査時期：
 - ①2011年12月～2012年3月
 - ②2010年12月～2011年2月
- 調査果数：毎月1回 5果／系統
- 調査方法：色彩色差計(CR-300,ミノルタ)を用いて、赤色の度合いを算出し、対照区と比較

[21]

果皮色変異における突然変異率の比較

変異原	吸収線量 (Gy)	供試数	果皮色 変異体 数	再現性確認系統 数		果皮色変異率(%)		
				濃赤	淡赤	濃赤	淡赤	合計
シンクロtron光	35	467	21	2	7	0.4	1.5	1.9
	75	168	10	5	1	3.0	0.6	3.6
	合計	635	31	7	8	1.1	1.3	2.4
重イオンビーム	10	236	14	3	5	1.3	2.1	3.4
	20	250	8	3	1	1.2	0.4	1.6
	合計	486	22	6	6	1.2	1.2	2.5

果皮色変異→シンクロtron光は重イオンビームと同等程度

[22]

まとめ ～変異原としてのシンクロtron光～

- 変異誘発に有効と考えられる吸収線量を決定
- 決定した吸収線量でシンクロtron光照射を行い、**変異体を確認**
- 変異発生率は、重イオンビームと比較して**同等程度**



シンクロtron光は、**変異原として活用可能!!**



[23]

輪ギクの花色変異体



[24]

今後の展望

- エネルギー領域の選択による変異発生への影響
次世代での変異発生率、変異の種類の検証
- 遺伝子レベルでの変異検証
- シンクロtron光を利用した実用品種の開発



〔 25 〕

謝 辞

重イオンビーム照射・研究アドバイス

理化学研究所 阿部知子氏 神原 正氏

シンクロtron光照射

九州シンクロtron光研究センター 石地耕太郎氏

イチゴ多芽体培養・増殖

(株)バイオテック富士 貞富氏



〔 26 〕

ご清聴ありがとうございました



〔 27 〕