



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：1911102R

BL番号：BL09

(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60～100Gyで生存率が低くなった。また、伸長率は、‘今村温州’実生でビーム照射した個体のほうが無照射（0Gy）より高くなる傾向があった。‘紀州葵’では照射による伸長率の差は見られなかった。カンキツ多胚品種‘麗紅’の種子では、生存率が60～80Gy区で無照射（0Gy）より低かった。

(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 low in the 60～100Gy irradiation group. In addition, the seedlings of ‘Imamura Unshu’ (*Citrus Unshiu* Marcow.) that irradiated were higher in the growth rate than the no irradiation seedlings of that, and there was not the difference of growth rate by the irradiation in the seedlings of ‘Ksyu Aoi’ (*Citrus Unshiu* Marcow.) that irradiated of the irradiation seedlings were higher in the 60～100Gy irradiation group than 0Gy). When the polyembryony seeds of ‘Reikou’ (hybrid of *Citrus spp.*) were irradiated, the survival rate of the irradiation seedlings was lower in the 60～80Gy irradiation group than no 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 50 日後の生存率について調査する。

- (1) 照射品種：今村温州、紀州葵、麗紅、津之望
- (2) 照射部位：種子（麗紅）
穂木（今村温州、津之望）
実生（今村温州、紀州葵）
- (3) 照射線種：白色 X 線光（BL9）
- (4) 吸収線量：0Gy、5Gy、10Gy、20Gy、40Gy、60Gy、80Gy、100Gy
- (5) 照射個体数：各区25～30個体程度

表 1 供試試料と吸収線量ごとの照射個体数

品種	照射部位	吸収線量 (Gy)							
		0	5	10	20	40	60	80	100
今村温州	実生	25	—	25	25	25	25	25	25
	穂木(芽)	30	30	30	30	30	—	30	—
紀州葵	実生	30	—	30	30	30	30	—	—
麗紅	種子	30	—	30	30	30	30	30	—
津之望	穂木(芽)	30	30	30	30	30	—	30	—

注) - 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

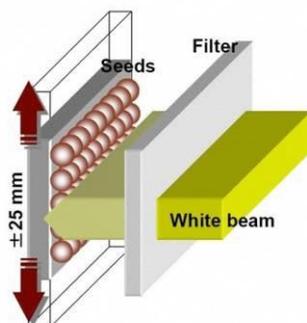
実生：ビーム照射 8～10 週間前に種子をシャーレに播種し、ビーム照射 5～7 週間前にポット（倍土）に移植する。照射はビームが生長点に当たるよう配置する。

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、シャーレ播種以降、室温 25℃、相対湿度 75%の恒温恒湿室で生育させる。穂木は照射後から高接ぎまで 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)

‘今村温州’ 実生では、吸収線量 10~50Gy の照射では約 50 日後の生育に影響は無く 100% 生存した。60Gy で生存率に影響が出始め、80Gy および 100Gy では約 70% の生存率となった。

‘紀州葵’ 実生では、吸収線量 0~40Gy では生存率 100% を維持したが、60Gy では 80% に低下した。

また、両品種ともに 60Gy 以上を照射し生存している個体の葉に斑点が現れるものがあり、吸収線量が多いほど斑点が多かった。

以上のことから、実生苗に対し照射するシンクロトン光は、吸収線量 60Gy 以上から生存率に影響し始める。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 31 日) の実生丈は、‘今村温州’ で 30.5~34.3mm、‘紀州葵’ で 31.3~35.4mm であった。照射後約 50 日後に実生丈を調査したところ、伸長率は、‘今村温州’ 実生でビーム照射した個体のほうが無照射 (0Gy) より高くなる傾向があった。‘紀州葵’ では照射による伸長率の差は見られなかった。

生存率に影響を及ぼす 60Gy 以上の吸収線量を照射した区では、照射約 50 日後に枯死していた個体もあり実生丈の調査は不可能であることと、照射時の生育が悪いほど生存率が低い (枯死した) 傾向があったこともあり、60Gy 以上で伸長率が高くなったと考えられる。

(3) カンキツ多胚種子の照射後の生育 (表 4)

カンキツ多胚種子では、吸収線量 0Gy、10Gy、20Gy 区で、照射 10 日後の生育差および生存率に有意差はなかった。一方、40Gy、60Gy、80Gy 区では、0Gy 区と比べて根長および芽長が抑制され、発根率および発芽率が有意に低下した。照射約 50 日後の生存率は、60Gy、80Gy 区で 0Gy 区と比べて有意に低かった。

BL9 を利用したカンキツ多胚種子への照射試験は、これまで吸収線量が 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することが確認されている (青山. 2017)。今回の試験において、照射線量が 40Gy より高くなると生育が有意に抑制され、さらに、60Gy より高くなると生存率が有意に低下しており、前例と同様な結果が得られた。

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出できる吸収線量を明らかにするために 10Gy 以上 60Gy 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 (2019)

品種	照射約50日後生存率 (%)						
	0Gy	10Gy	20Gy	40Gy	60Gy	80Gy	100Gy
今村温州	100	100	100	100	96	68	72
紀州葵	100	100	100	100	80	—	—

表 3 吸収線量 (Gy) の違いによる温州ミカン実生の生育 (2019)

品種	調査日 (照射後日数)	実生丈 (mm)						
		0Gy	10Gy	20Gy	40Gy	60Gy	80Gy	100Gy
今村温州	1/31 (0日)	33.6	32.3	31.9	31.8	30.5	34.3	30.8
	3/19 (48日)	33.9	36.1	34.4	33.2	32.4	38.0	34.9
	伸長率 (%)	0.9	11.5	8.0	4.2	6.2	10.8	13.3
紀州葵	1/31 (0日)	31.3	31.9	32.9	31.6	35.4	—	—
	3/19 (48日)	32.2	33.2	33.9	32.4	36.6	—	—
	伸長率 (%)	2.9	4.0	3.0	2.6	3.5	—	—

※ 伸長率% = ((照射 48 日実生丈) / (照射 0 日実生丈) × 100) - 100

表4 吸収線量 (Gy) の違いによるカンキツ多胚種子の生育 (2019)

吸収線量	根長 (mm)	発根率 (%)	芽長 (mm)	発芽率 (%)	生存率 (%)
0 Gy	23.6 a ^z	96.8 a	8.7 a	81.1 a	62.1 a
10Gy	18.0 a	78.8 abc	7.9 ab	63.8 ab	63.8 a
20Gy	17.2 a	83.3 ab	8.1 ab	67.9 ab	67.9 a
40Gy	4.7 b	64.6 bcd	3.9 bc	46.3 bc	47.6 a
60Gy	1.3 b	47.7 d	1.5 c	31.8 c	19.3 b
80Gy	0.8 b	55.8 cd	0.1 c	2.6 d	2.6 b

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。提出期限は利用年度終了後2年以内です。例えば2018年度実施課題であれば、2020年度末(2021年3月31日)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。

② 研究成果公報の原稿提出

(提出時期: 2022年 3月)