

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：2111119R

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.

前田良輔・杉安菜穂子
Ryosuke Maeda・Nahoko Sugiyasu

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60日後の生育を調査した結果、‘今村温州’実生では照射線量60～80Gyで生存率が低くなった。また、照射60日後の伸長率は、照射線量の違いによる差がなく、葉の枯れの発生程度は照射線量60～80Gyで大きくなった。カンキツ多胚品種‘せとか’の種子では、照射線量0～40Gy間において、照射60日後の生存率および実生丈に大きな差は見られなかった。

(English)

The X-ray were irradiated to the seedlings, the scions and the seeds of Citrus to examine the optimal irradiation dose for mutagenesis of Citrus by synchrotron radiation. As a result of the investigating the growth 60 days after irradiation, the survival rate of the irradiation seedlings of ‘Imamura Unshyu’ (*Citrus Unshiu* Marcow.) were low in the 60 - 80Gy irradiation group. In addition, the growth rate of the seedlings of ‘Imamura Unshyu’ (*Citrus Unshiu* Marcow.) 60 days after irradiation were not the difference of growth rate by the irradiation, and the degree of leaf withering was high in the 60 - 80Gy irradiation group. When the polyembryony seeds of ‘Setoka’ (hybrid of *Citrus spp.*) were irradiated, there was no significant difference in survival rate and seeding height 60 days after irradiation in the 0 - 40Gy 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、浮皮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、着色の変異や浮皮し

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。

- (1) 照射日：2022年1月27日
- (2) 照射品種：今村温州、あすき、中晩柑交配実生
- (3) 照射部位：種子（あすき、中晩柑交配実生）
実生（今村温州）
- (4) 照射線種：白色X線光（BL9）
- (5) 吸収線量：0Gy、40Gy、60Gy、80Gy
- (6) 照射個体：

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				
		0Gy	20Gy	40Gy	60Gy	80Gy
今村温州	実生	60	—	60	60	60
せとか	種子	40	40	40	—	—
中晩柑交配実生	穂木（芽）	20	20	20	—	—

※ —は照射していないことを示す

(6) 試料作成方法および照射方法

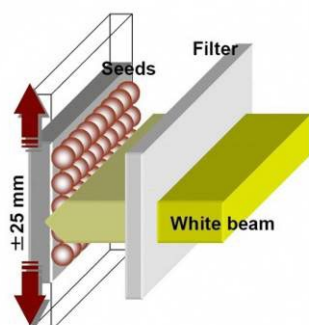
- 実生：ビーム照射8週間前に種子をシャーレに播種し、実生を作出した。試料は右図のように配置させて、ビームを指定した時間照射した。
- 種子：照射1日前にシャーレに播種したものに照射し、照射後発芽を促したのち、培土に移植した。
- 穂木：照射1日前に母樹より採取し、照射した。

実生および種子は、シャーレに播種後ポットへ移植し、室温25℃、相対湿度75%の恒温恒湿室と、室温15℃～25℃（夜間15℃、昼間25℃）、相対湿度60%の人工気象室で生育させた。穂木は照射後から高接ぎまで4℃の冷蔵庫で保管した。

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した。

(7) 調査方法

実生は、照射約60日後の生存率、伸長率および葉の枯れの発生程度について調査した。種子は、照射60日後の生存率について調査した。



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) ウンシュウミカン実生の照射 60 日後の生存率 (表 2)

吸収線量 40Gy の照射では約 60 日後の生育に影響は無く 100% 生存したが、60Gy の照射で生存率は 96.7% となり、80Gy では 86.7% となった。

以上のことから、‘今村温州’ 実生に対し照射するシンクロトロン光は、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) ウンシュウミカン実生の照射 60 日後の伸長率および葉の枯れの発生程度 (表 3、4)

ビーム照射日 (1 月 27 日) の実生丈は、0Gy で平均 29.1mm、40Gy で平均 28.2mm、60Gy で平均 26.4mm、80Gy で平均 27.5mm であった。ビーム照射 60 日後 (3 月 28 日) の実生丈は 0Gy で平均 35.5mm、40Gy で平均 30.5mm、60Gy で平均 29.0mm、80Gy で平均 30.7mm であった。照射 60 日後の伸長率は、0Gy で 1.2%、40Gy で 1.1%、60Gy で 1.1%、80Gy で 1.1% であった。

また、葉の枯れの発生程度は、0Gy で 0.6、40Gy で 3.3、60Gy で 31.1、80Gy で 44.4 となり、60Gy で急激に発生が増加した。

以上のことから、実生に対し照射するシンクロトロン光は、照射 60 日後の伸長率への影響は小さく、吸収線量 60Gy 以上で葉の枯れが多くなる。ただし、葉が枯れた個体に突然変異が生じるかなどの関連が明らかではないため、今後も調査が必要である。

表 2 吸収線量 (Gy) の違いによる ‘今村温州’ 実生の照射 60 日後の生存率

照射線量	照射60日後の生存率 (%)
0Gy	100
40Gy	100
60Gy	96.7
80Gy	86.7

表 3 吸収線量 (Gy) の違いによる ‘今村温州’ 実生の生育

調査日 (照射後日数)	実生丈(mm)			
	0Gy	40Gy	60Gy	80Gy
1/27 (0日)	29.1	28.2	26.4	27.5
3/28 (60日)	35.5	30.5	29.0	30.7
伸長率 (%)	1.2	1.1	1.1	1.1

表 4 吸収線量 (Gy) の違いによる ‘今村温州’ 実生の照射 60 日後の葉の枯れの発生

照射線量	照射60日後の葉の枯れ	
	発生率 (%)	発生程度
0Gy	1.7	0.6
40Gy	10.0	3.3
60Gy	68.3	31.1
80Gy	73.3	44.4

※葉の枯れは、無：発生無し(0)、軽：葉の先端の一部のみ(1)、中：葉の 1/2 程度(2)、甚(3)の 4 段階で調査し、発生程度は $(\sum(\text{発生程度別果数} \times \text{発生程度})) / (3 \times \text{調査果数}) \times 100$ で算出

(3) カンキツ多胚種子の照射後の生育 (表 5)

これまでのカンキツ多胚種子への照射試験により、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することが確認されている。

今回、照射範囲を 0～40Gy としたところ、照射 60 日後の生存率は、0Gy で 64%、20Gy で 60%、40Gy で 46% となり、40Gy でやや低い傾向であったが、0Gy と大きな差は見られなかった。照射 60 日後の実生丈は、0Gy で 20.0 mm、20Gy で 16.5 mm、40Gy で 16.1 mm となり、0Gy と大きな差は見られなかった。

今後も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 10～40Gy 程度で再度照射試験を行う必要がある。

表 5 吸収線量 (Gy) の違いによる ‘せとか’ 種子照射 60 日後の生育

吸収線量	生存率 (%)	実生丈 (mm)
0Gy	64.3	20.0
20Gy	59.4	16.5
40Gy	45.8	16.1

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、照射した穂木については高接ぎを行い、発芽した枝の生育調査を行う。

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)

予定なし

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、突然変異

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: 2024 年 3 月)