

(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・中里一郎

Ryosuke Maeda・Ichiro Nakazato

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
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に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、ウンシュウミカン実生では吸収線量80Gyで生存率が低くなった。また、吸収線量40Gy区および60Gy区で0Gy（無照射）より小さくなった。

カンキツ多胚品種‘麗紅’の種子では、発根率、発芽率および生存率は吸収線量40Gy区で小さくなり、実生丈は吸収線量が高くなるほど生育が抑制される傾向であった。

(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 at an Irradiation dose of 80Gy. In addition, the irradiation doses of 40Gy and 60Gy were smaller than the non-irradiation doses.

In seeds of citrus multi-embryo cultivar 'Reiko', the rooting rate, germination rate and survival rate were low at 40Gy irradiation, and the growth of seedling height tended to be suppressed as the irradiation dose increased.

2. 背景と目的

ウンシュウミカン育種では、主に珠心胚実生から突然変異した個体を選抜したり、成長点の突然変異によって生じる「枝変わり」と呼ばれる変異部分から穂木を採取し、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を行っているが、浮皮しにくい等の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

育成に成功し、佐賀県果樹試験場ではシンクロトロン光の利用によりとげ消失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。

シンクロトロン光のカンキツ育種への利用について、突然変異個体を獲得するにあたり、照射部位や品種ごとで照射後の生存率が高く、かつ最大となる照射線量は明らかになっていない。また照射線量の違いによる照射後の変異個体発生数および発生程度に差があるかなど明らかになっていない。そこで、照射部位および照射線量毎の生存率や照射後の生育を比較し、シンクロトロン光を用いた効果的な突然変異育種法を検討する。

3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

1) 試料（照射品種、部位および吸収線量）：図1

品種	照射部位	吸収線量				
		0Gy	20Gy	40Gy	60Gy	80Gy
青島枝変わり	実生	45	-	45	45	45
麗紅	種子	40	40	40	-	-
中晩柑交配実生 (TK×AK50)	穂木	20	20	20	-	-

※-は照射していないことを示す。

2) 実験方法

- (1) 照射日：2023年1月27日
- (2) 照射線種：白色X線光（BL09）
- (3) 試料作成方法および照射方法

①実生

シンクロトロン光照射8週間前に剥皮したカンキツ種子をシャーレに移し発芽させ、育苗用ポットに移植し実生を育成した。照射1日前に育苗用ポットから掘り上げたのち、プラスチック板に貼り付け、写真1のように作成し、指定の吸収線量となるように照射した。

②種子

照射1日前に剥皮した種子をプラスチック板に固定し照射した（図1）。

③穂木

照射1日前に採取した穂木をプラスチック板に固定し照射した。

実生および種子は、育苗用ポットへ移植し、室温25℃、相対湿度75%の恒温恒湿室で生育させた。穂木は照射後から接ぎ木を行うまでの間、4℃の冷蔵庫で保管した。

3) 調査方法

実生は照射56日後の生存率、伸長率について調査した。

種子は照射56日後の生存率について調査した。

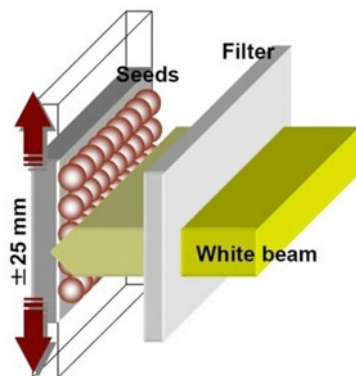


図1 実験レイアウト（種子）



写真1 実験レイアウト（実生）

4. 実験結果と考察

1) ‘青島枝変わり’実生の照射 56 日後の生存率

吸収線量 60Gy までは照射 56 日後も 100%生存し、枯死した個体はなかった。80Gy では 84%の生存率となった。(表 2)。また、40Gy と 80Gy の一部の葉で枯れ症状が生じた (データ略)。

以上のことから、‘青島枝変わり’実生苗に対し照射するシンクロトロン光は、吸収線量 80Gy 以上から生存率に影響し始める。照射個体に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。

表 2 吸収線量(Gy)の違いによる‘青島枝変わり’実生の照射 56 日後の生存率

系統	照射54日後の生存率 (%)			
	0Gy	40Gy	60Gy	80Gy
青島枝変わり	100	100	100	84

2) ‘青島枝変わり’実生の照射 56 日後の伸長率

照射 6 日後の実生丈は 24.3~28.2cm であった。照射 56 日後に実生丈を調査したところ、伸長率は、吸収線量 40Gy 区および 60Gy 区で 0Gy (無照射) より小さくなったが、80Gy では差は見られなかった。

80Gy 区では枯死した個体があり、強勢の個体が残ったため差がなかったと考えられる。また、40Gy 区と 60Gy 区の実生丈を比較すると 60Gy 区の方が短くなっていることから、60Gy 区で影響が大きいと考えられる。

表 3 吸収線量 (Gy) の違いによる‘青島枝変わり’実生の照射 56 日後の生育

系統	調査日 (照射後日数)	実生丈 (mm)			
		0Gy	40Gy	60Gy	80Gy
青島枝変わり	2/1 (6日)	26.1	22.9	24.9	25.4
	3/22 (56日)	28.2	24.3	26.1	27.3
	伸長率 (%)	7.9	5.9	4.9	7.2

3) カンキツ多胚種子 (麗紅) の照射 56 日後の生育

吸収線量 0Gy、20Gy 区で照射 56 日後の発根率、発芽率、生存率に差は見られなかったが、40Gy 区ではすべて低くなった。また、実生丈は吸収線量が高くなるほど短くなる傾向があった。

BL09 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^[1], 2017)。しかし、今回の結果では 40Gy においても影響が確認された。

表 4 吸収線量 (Gy) の違いによるカンキツ多胚種子 (麗紅) の生育

吸収線量	発根率 (%)	発芽率 (%)	生存率 (%)	実生丈 (cm)
0Gy	87.8	70.4	96.5	25.9
20Gy	95.0	68.0	95.8	21.9
40Gy	48.6	34.2	70.4	17.2

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

[1] 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, p22-28 (2017).

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）

シンクロトロン光、カンキツ、育種、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。

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）