



# 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：1508063L

BL番号：BL07

(様式第5号)

## シンクロトロン光を用いた効率的な突然変異育種法の開発と 実用形質を有するスプレーギクの育成 Development of mutation breeding using synchrotron light and production of spray-type chrysanthemum.

高取 由佳      坂本 健一郎      月足 公男  
Yuka Takatori      Kenichiro Sakamoto      Kimio Tsukiashi

佐賀県農業試験研究センター  
Saga prefectural agriculture research center

- ※1 先端創生利用（長期タイプ、長期トライアルユース、長期産学連携ユース）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。（トライアルユース、及び産学連携ユースを除く）

### 1. 概要（注：結論を含めて下さい）

本試験では、スプレーギクおよびトルコギキョウへの変異誘発を目的に、20keV以上の照射が可能なビームライン 07（以下 BL07）においてスプレーギクの頂芽およびトルコギキョウ種子への照射を行った。

その結果、スプレーギクにおける有効な吸収線量は 40～60Gy と示唆された。一方、トルコギキョウについては、今回試験した線量では、変異誘発に有効な吸収線量は判然としなかった。

現在、照射により得られた個体を栽培中であり、今後、花色等の変異について調査する予定である。

#### (English)

**In this study, to produce mutants in spray-type chrysanthemum and eustoma, the terminal buds of chrysanthemum and the seeds of eustoma were irradiated with synchrotron lights in beam line 07 (BL07) with electron energy of the above 20keV.**

**As a result, we suggested that the suitable dose of synchrotron lights in BL07 in chrysanthemum is 40-60Gy. On the other hand, we could not predict that appropriate irradiation dose for mutations in eustoma.**

**At present, the plantlets obtained are grown and the mutations such as flower color will be investigated later.**

### 2. 背景と目的

花き類では、これまでにキクに、ビームライン BL09 において 11～22Gy のシンクロトロン光を照射することにより、様々な花色変異や、花形が変異した系統を獲得することができた。

本試験では、キクおよびトルコギキョウへの変異誘発を目的に、より高い X 線のエネルギーが利用可能なビームライン BL07 において照射を行い、生存率が 50～80%となる吸収線量および誘発される変異について調査を行う。

### 3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

#### 1) キク

- (1) 照射材料：スプレーギク「佐賀10号」の挿し穂
- (2) 照射部位：頂芽（ $\phi$  3mm×2mmの円柱）
- (3) 吸収線量（新吸収線量）：0Gy（対照区）、2Gy、5Gy、10Gy、20Gy、40Gy、60Gy、80Gy
- (4) 供試数：0Gy→20本、2Gy→60本、5Gy→60本、10Gy→60本、20Gy→60本、40Gy→60本、80Gy→60本
- (5) 調査項目：照射後の生存率、開花時における変異の有無（花色等）
- (6) 実験方法：  
以下の手順で実験を行った。
  - ①キク親株から採穂後、展開葉を除去し、生長点から約6cmの長さに穂を調整
  - ②調整した穂15～20本程度を湿らせた新聞紙でくるみ、円柱形のプラスチックケースに入れる（図1）
  - ③固定台に穂を詰めたプラスチックケースを固定
  - ④処理区ごとに、試料にシンクロトロン光を照射
  - ⑤処理後の穂を挿芽し、本圃へ定植までミスト灌水で管理
  - ⑥発根後、親株床に定植
  - ⑦定植後に伸長した穂を2回程度摘心し、その後伸長した腋芽を採穂後、挿し芽
  - ⑧発根後、本圃へ定植し、変異形質の調査予定



図1 照射したキクの挿穂

#### 2) トルコギキョウ

- (1) 照射材料：トルコギキョウ「Z58」、「Z60」、「Z63」、「Z70」の乾燥種子
- (2) 吸収線量（新吸収線量）：0Gy（対照区）、25Gy、50Gy、100Gy、200Gy、500Gy
- (3) 供試数：約100粒／吸収線量
- (4) 調査項目：照射後の発芽率および生存率、開花時における変異の有無（花色等）
- (5) 実験方法：  
以下の手順で実験を行った。
  - ①固定台に照射材料（トルコギキョウの乾燥種子）を固定
  - ②処理区ごとに、試料にシンクロトロン光を照射
  - ③処理後の種子をセルトレイに播種
  - ④播種から約2ヵ月後に生存率を調査
  - ⑤生存個体は本圃に定植して照射当代における変異形質を調査し、自殖種子を採種予定

#### 4. 実験結果と考察

##### 1) キク

本試験では、BL07において吸収線量2、5、10、20、40、60および80Gyのシンクロトロン光を照射した。照射後に挿し芽を行い、発根後に圃場へ定植し、キメラ除去を目的に2回程度摘芯した。照射12週間後の生存率については、いずれの吸収線量においても100%であった(表1)。また、2、5、10、20および40Gyでは全個体で照射部位から伸長生長し、摘芯後に分枝が見られた。しかしながら、60Gy以上では生存はしているものの伸長しない生育停滞の個体が多く見られ(図2)、伸長生長率は60Gyで41.7%、80Gyで13.3%となり、40Gy以下の100%よりも大きく低下した。

以上の結果から、伸長生長率を考慮するとBL07におけるキクへのシンクロトロン光照射では、40~60Gy付近が有効な吸収線量であるものと示唆された。

現在、照射後に伸長生長した個体から得られた腋芽を2016年4月上旬開花作型で栽培し、開花時における花色変異等を調査する予定である。

表1. スプレーギク「佐賀10号」におけるシンクロトロン光照射12週間後の生存率および伸長生長率

吸収線量 (Gy)	照射数 (a)	生存数 (b)		生存率 (b/a, %)	伸長生長率 (c/a, %)
		伸長あり <sup>z</sup> (c)	伸長なし <sup>y</sup>		
0	20	20	0	100	100
2	60	60	0	100	100
5	60	60	0	100	100
10	60	60	0	100	100
20	60	60	0	100	100
40	60	60	0	100	100
60	60	25	35	100	41.7
80	60	8	42	100	13.3

<sup>z</sup>照射部位からの伸長および摘芯後の分枝が見られた個体数

<sup>y</sup>生存はしているものも、照射部位から伸長せず生育停滞している個体数



図2. 照射12週間後の各処理区における典型的な穂の様子

##### 2) トルコギキョウ

本試験では、BL07において吸収線量25、50、100、200および500Gyのシンクロトロン光を照射した。照射後に種子をセルトレイに播種し、約2ヵ月後に生存率を調査した結果、無照射の0Gy区においても80~100%の高い生存率を示す系統から40%未満の低い生存率を示す系統と、系統によるバラつきがみられた。すべての系統において、吸収線量が500Gyまで高くなっても、0Gy区と同程度の生存率であり、今回の設定した吸収線量の範囲内では、生存率の低下はみられなかった(図3)。

したがって、一般的に突然変異が効率的に誘発される吸収線量は、LD50(生存率50%)の線量と

されることから、トルコギキョウ乾燥種子における LD50 の吸収線量は、さらに高い線量域にあることが示唆された。

現在、2016 年 5 月開花作型で栽培しており、開花時に照射当代における花色変異等を調査するとともに、次世代における変異の有無を調査するために自殖種子を採種する予定である。

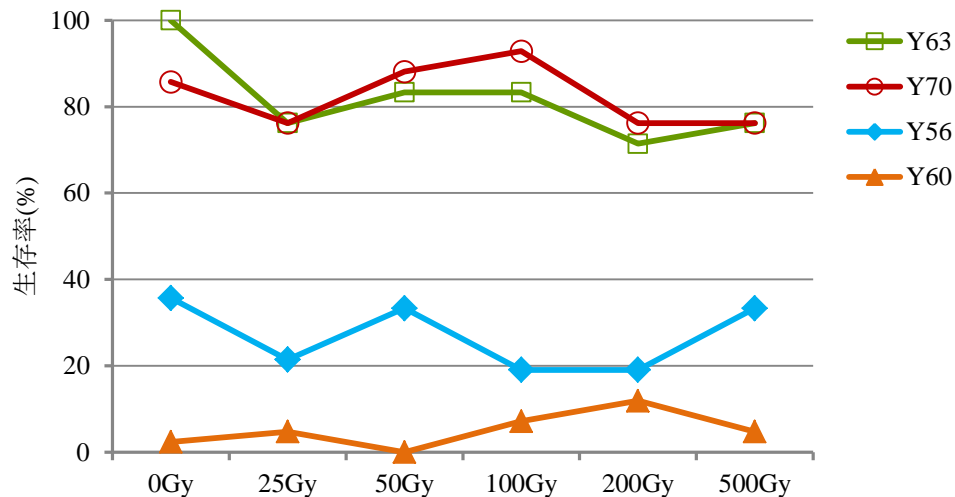


図3. シンクロトロン光照射がトルコギキョウの生存率に及ぼす影響

## 5. 今後の課題

- ・キクについては、2016 年 4 月上旬開花作型で栽培し、花色等における変異の有無を調査する。
- ・トルコギキョウについては、2016 年 5 月開花作型で栽培し、花色等における変異の有無を確認するとともに、自殖種子を採種し、次世代における変異の有無を調査する。

## 6. 参考文献

特になし

## 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)

特になし

## 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)

- ・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。

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(2013年度実施課題は2015年度末が期限となります)。)

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) |