

# イオンビーム育種による‘ガーデンスター’の新品種育成

中瀬敢介<sup>1</sup>, 斎藤稔<sup>2</sup>, 野村幸雄<sup>3</sup>

## Mutation breeding of new cultivars from ‘Garden star’ by Ion beam

### Irradiation. *Ranunculus japonicas*.

Kansuke NAKASE<sup>1</sup>, Minoru SAITO<sup>2</sup>, Yukio NOMURA<sup>3</sup>

ラナンキュラスの小輪多花性花壇用品種‘ガーデンスター’にイオンビームを照射し、突然変異を誘発した。各種イオンビームの適正照射線量にて照射したところ、複数の変異系統が得られた。そのうち、ネオンイオンビームを3 Gy照射して得られた変異系統No.3 (花冠中央部が緑色化, 周辺部鮮黄色 JHS2507, 中央部濃黄緑 JHS3507), および炭素イオンビームを4 Gy照射して得られた変異系統No.5-1 (花卉の色が浅黄色 JHS2504) は、観賞価値が高いと思われたので、株分けによる形質の固定および増殖を進め、特性評価を行った。

キーワード: イオンビーム, ‘ガーデンスター’, 八重ウマノアシガタ, 花色変異

## I. 緒言

ガーデニング用植物として期待されるラナンキュラスの小輪多花性花壇用品種‘ガーデンスター’は、「福井市安波賀産ウマノアシガタ一重」の偶発実生から花卉が八重の形状を示す変異個体を選抜し育成されたものであり、平成17年にラナンキュラスの新品種として福井県より品種登録出願(登録番号12609号)を行っている。開花期間が4月中旬から5月下旬と長く、病虫害や雑草に比較的強い栽培が容易であり耐寒性が強いといった特性を持つが、花色が野生種ウマノアシガタと同じ鮮黄色(JHS2507)の単色のみであり、新たな花色の新品種育成が期待されている。

しかし、‘ガーデンスター’は雄蕊、雌蕊が花卉に変異した八重咲きであるため種子をほとんど形成せず、交雑育種による品種育成が難しい。また、現有の優良形質を最大限に生かすためにも、突然変異による品種育成が最

適と思われた。従来、突然変異育種の変異原としてガンマ線、軟X線などが利用されてきた。さらに、近年、水素原子や炭素原子等をイオン化して高速で加速させて照射するイオンビームが植物育種にも用いられてきている。イオンビーム照射による変異の誘発は、ガンマ線や軟X線による変異誘発とは異なり、DNA二本鎖切断によってDNA欠失型変異を高率に生じるため、変異発生率が高く、変異スペクトルの幅も広い<sup>1)</sup>。また、数秒のビーム照射により効率よく変異体を得られる特長もある<sup>2)</sup>。花き類においては、カーネーション<sup>3)</sup>、トレニア<sup>4)</sup>、キク<sup>5)</sup>等で花色変異が多数報告されている。

そこで本研究では花色変異等を誘導するために、‘ガーデンスター’における各種イオンビームの適正照射線量を求め、観賞価値の高い新品種を育成することを目的とした。

## II. 試験方法

### 1. 適正照射線量の最適化

#### 1) 供試材料

茎頂培養により作出した無菌植物体の‘ガーデンスター’を、葉数2枚、茎長約1.5 cmに調整し、ホルモンフリーMS培地<sup>6)</sup>(シヨ糖3%, pH5.8, グランガム0.3%)

\* 本稿の一部は第5回イオンビーム育種研究会にて発表した。

1) 福井県農業試験場 園芸・バイオ部

2) 退職

3) 福井県丹南農林総合事務所

8 mlが入った6 cmシャーレに、各個体が重ならないように培地面と平行に10個体を置床した。3日間25℃、1,000 lx、16時間日長に設定した培養室にて培養した後、各種イオンビーム照射を行った。照射した培養体は試験管に移植し、照射前と同条件で培養した。

## 2) 試験区の構成

水素イオンビーム(200 meV)は2002年1月23日に若狭湾エネルギー研究センターで照射した(第1表)。炭素イオンビーム(135 meV)およびネオンイオンビーム(135 meV)は、2002年9月25日に理化学研究所で照射した(第1表)。

## 3) 調査方法

水素イオンビーム照射個体は照射後48日目に、炭素イオンビームおよびネオンイオンビームは照射後49日後に、培地が褐変せず、発根している生存個体数を調査した。

## 2. 変異系統の作出および選抜

### 1) イオンビームの照射

得られた適正照射線量を参考に、若狭湾エネルギー研究センターで2002年10月23日に水素イオンビーム(200 meV)を4 Gy、6 Gy、8 Gyの線量で各20~40個体照射した。また、水素イオンビームを2 Gy照射した個体に再度2 Gyの水素イオンビームを初回照射の約150日後に照射した。同様に、理化学研究所で2003年1月18日に炭素イオンビーム(135 meV)を4 Gy、6 Gyの線量で各20個体、2003年1月19日にネオンイオンビーム(135 meV)を2 Gy、3 Gy、4 Gyの線量で各20個体照射した。照射方法、培養条件等は、試験1. 適正照射線量の最適化に準じた。

### 2) 1次選抜(2004年)

各種イオンビームを照射した個体を、2003年秋に福井農業試験場内圃場で栽培し、2004年開花期に原品種である‘ガーデンスター’と比較して、花色、花姿、草姿等において明らかに変異が見られる個体を目視で選抜した。

### 3) 2次選抜(2007年)

#### (1) 供試材料

1次選抜で得られた、変異系統No.3、変異系統No.5-1標準区‘ガーデンスター’

1区12株 2反復

## (2) 耕種概要

定植2006年11月1日、畝幅150cm×条間30cm、白黒マルチ2条植え、施肥量 N:1.0 P:0.8 K:1.0 kg/a(全量基肥)

## (3) 調査方法

開花日、草丈、葉高、株幅、花茎数、総花数、花色(日本園芸植物標準色標を使用)について全株調査した。なお、開花日は株内で3花が開花した日とし、開花時における地際から植物体の最高部までの高さを草丈、葉の最高部までの高さを葉高とした。

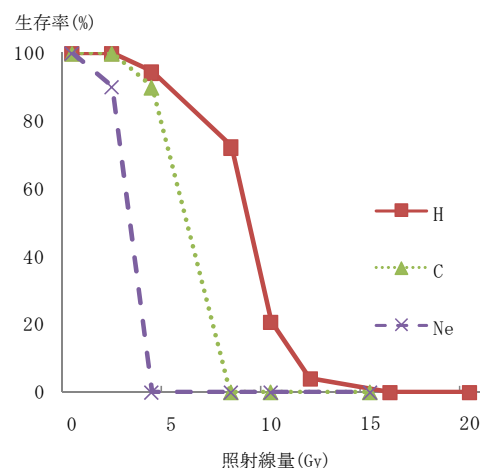
## Ⅲ. 結果

### 1. 適正照射線量の把握

結果を第1図に示した。

水素イオンビームの照射線量と‘ガーデンスター’の生存率の関係をみると、照射線量4 Gyまでは生存率100%であったが6 Gyから減少し16 Gyで生存率0%となった。また、LD<sub>50</sub>(半数致死線量)は9 Gyであった。炭素イオンビームでは、照射線量2 Gyまでは生存率100%であったが、4 Gyから減少し8 Gyで生存率0%となり、LD<sub>50</sub>は7 Gyであった。ネオンイオンビームでは、照射線量2 Gyから生存率が減少し4 Gyで生存率0%となった。LD<sub>50</sub>は3.5 Gy前後であった。

同一照射線量で各核種の生存率を比較すると、水素(H)、炭素(C)、ネオン(Ne)の順で生存率は高くなった。



第1図 ‘ガーデンスター’の生存率と照射線量の関係

第1表 試験区の構成

核種	照射線量(Gy)	試験規模	反復数
H (LET:0.5)	0、2、4、8、10、12、16、20	1区47~83個体	1
C (LET:22.7)	0、2、4、8、10、15	1区10個体	1
Ne (LET:63.7)	0、2、4、8、10、15	1区10個体	1

LET:線エネルギー付与(keV/μm)

Gy:単位質量当たりのエネルギー量

## 2. 変異系統の作出

### 1) 一次選抜(2004年)

イオンビーム照射後、順化した培養苗 303 個体を圃場に定植栽培し、花色、花姿、草姿等の変異個体を目視により選抜した(第2表)。その結果、水素イオンビームを 10 Gy 照射し葉に斑の入ったもの(第2図)、炭素イオンビームを 4 Gy 照射し花卉の色が薄くなったもの(第3図)、ネオンイオンビームを 3 Gy 照射し花冠の中央が緑色化したもの(第3図)、等 6 系統が得られた(第3表)。

変異系統No.3 では花冠の中央が緑色化(花冠の周辺部鮮黄色 JHS2507, 花冠の中央部濃黄緑 JHS3507)し、開花日が三日早くなった。他の形質は原株である‘ガーデンスター’とほぼ同程度であったが、緑色化の程度に系統内、株内でややばらつきが見られた(第4表)。変異系統 No.5-1 では、花卉の色が極薄く(浅黄色 JHS2504)なり一花茎あたりの花数が‘ガーデンスター’と比べ減少したが、他の形質は‘ガーデンスター’とほぼ同程度であった。花卉の色にばらつきは見られなかった(第4表)。

### 2) 二次選抜(2007年)

各系統の増殖、株分けによる形質の固定化を進め、明らかに花色の異なる 2 系統No.3, No.5-1 について 2007 年に特性調査を行った。

第2表 各種イオンビーム照射による‘ガーデンスター’の変異発生率

核種	照射線量(Gy)	順化株数	変異数	変異発生率(%)
H	2	15		
	4	73		
	6	64	1	1.6
	8	37		
	10	12	1	8.3
	12	2		
	2+2*	40	1	2.5
C	2	9		
	4	19	1	5.3
Ne	2	27	1	3.7
	3	5	1	20.0

\*2+2: 2Gy照射個体に約150日後、再度2Gyを照射

第3表 各種イオンビーム照射による‘ガーデンスター’の変異系統

系統番号	核種	照射線量(Gy)	変異の内容
1	H	6	花房数多いが、花梗短く花卉数少ない。
3	Ne	3	花冠の頂部が緑色化。
4	Ne	2	花冠の頂部が緑色化。
5-1	C	4	花卉の色が薄い。
9-2	H	2+2*	花卉数少ない。
10	H	10	斑入り葉。

\*2+2: 2Gy照射個体に約150日後、再度2Gyを照射

第4表 開花特性(2007年)

品種、系統名	開花日	草丈(cm)	葉高(cm)	株幅(cm)	花茎数(本)	一花茎の花数(個)
ガーデンスター	4月11日	33.8	13.6	22.0	11.5	24.2
No.3	4月8日	31.8	13.5	19.4	11.8	22.4
No.5-1	4月11日	29.8	13.4	19.6	10.9	17.9
品種、系統名	花冠の色*					
ガーデンスター	鮮黄(2507)					
No.3	周辺部: 鮮黄(2507)		中央部: 濃黄緑(3507)			
No.5-1	浅黄(2504)					

\*花冠の色は日本園芸植物標準色標を使用



第2図 原品種および葉斑入り変異個体の外観  
 ‘ガーデンスター’ (左), No.10 (右) スケールバーは 5 cm を示す. 2005 年撮影



第3図 原品種および花色変異個体の外観  
 ‘ガーデンスター’ (左), No.3 (中), No.5-1 (右) (上段中影, 下段近影)  
 スケールバーは 5 cm(上段), 1 cm(下段)を示す. 2007. 5. 11 撮影

## IV. 考察

有効な改良技術が未開発だった頃は、自然に起こった突然変異の利用が品種改良の重要手段であった。人為的に突然変異を誘発する X 線装置の普及や化学物質による突然変異誘発の手段が発見されて以来、遺伝子の本質を理解する手段として、変異誘発原の生物学的作用の研究がおこなわれてきた<sup>7)</sup>。その後、新しい変異原としてイオンビームが登場し、その変異スペクトルの広さと変異発生率の高さから、突然変異育種の重要な手法の一つになりつつある。

ガンマ線などでは、照射線量の目安として LD<sub>50</sub> が使われることが多かった<sup>8)</sup>。しかし、ガンマ線と比べ高 LET (線エネルギー付与) を持つイオンビームを変異誘発原に用いた報告によると、パーペナやペチュニアでは、植物体再生率の線量反応曲線の肩で、カーネーションやキクでは肩付近から再生率が半減する線量で最も効率的に変異体が得られた<sup>9)10)</sup>。

本研究において期待される突然変異は、オリジナル品種に比べて花色のみ、あるいは開花期のみ異なる変異等、いわゆるワンポイント変異である。照射線量が強すぎると複数の変異を同時に起こす可能性が高く<sup>10)</sup>、こういった多重変異を防ぐためには生存率が 80 % 付近の比較的弱い線量を利用する必要がある。‘ガーデンスター’の無菌培養体における適正照射線量は、水素イオンでは 7 Gy 前後、炭素イオンでは 5 Gy 前後、さらにネオンイオンでは 3 Gy 前後と判断された。

また、同一照射線量で各核種の生存率を比較すると、水素、炭素、ネオンの順で生存率は高くなったが、今回の実験では核種ごとに LET の値が異なっており、各核種が生存率に影響を与えたかは判定できなかった。LET が高いほどその生物効果も高くなる<sup>11)</sup>ため今回の結果は LET が大きく影響したものと思われる。

照射個体を順化し、圃場に定植して目視により一次選抜を行ったところ、水素、炭素、ネオンイオンビーム照射個体からそれぞれに花色や葉色変異が得られた。得られた変異スペクトル、変異体数が少ないこともあり、照射核種による変異傾向の判定には至らなかった。なお、変異体数は少ないが得られた変異体は、その大部分が、今回求めた適正照射線量付近から得られており適正照射線量は今後も利用できると思われる。

一次選抜で優良系統と思われる No.3, No.5-1 を株分けにより形質の固定化を進め、特性調査をおこなった。No.3, No.5-1 とともに花色変異が得られたが、No.5-1 では一花茎あたりの花数が‘ガーデンスター’と比べ減少し、花茎数でも変異が起きた可能性も考えられる。しかしながら、定植時の苗サイズ等の栽培条件の影響も考えられ今後の

課題としたい。

本研究において育種目標であった花色変異個体が 2 系統作出された。これら 2 系統については、今後詳細な特性検定を行い、品種登録を目指す予定である。

## 引用文献

- 1) Okamura.M Otsuka.M Yasuno.N Tanaka.A Shikazono.N Hase.Y (2001) “Mutation Generation in Carnation Plants Regenerated from Leaf Cultures Irradiated with Ion Beams” JAERI-Review 039
- 2) 阿部知子, 吉田茂男 (2005) 農業技術体系花卉編 5 追録 “突然変異育種 (重イオンビーム)” 農山漁村文化協会 124-2
- 3) Okamura.M Yasuno.N Otsuka.M Tanaka.A Shikazono.N Hase. Y(2002) “Development of Mutant Varieties “Vital Ion seriee” in Carnation by Ion Beam Breeding” JAERI-Review 035
- 4) Kiyoshi Miyazaki, Ken-ichi Suzuki, Kazunari Iwaki, Takaaki Kusumi, Tomoko Abe, Shigeo Yoshida and Hirokazu Fukui: (2006) “Flower pigment mutations induced by heavy ion beam irradiation in an interspecific hybrid of *Torenia*” Plant Biotechnology Vol.23:163-167
- 5) Nagatomi.S Tanaka.A Watanabe.H Tano.S(1997) “Enlargement of potential chimera on chrysanthemum mutants regenerated from <sup>12</sup>C<sup>6+</sup>ion beam irradiated explants” TIARA Annual Report 1996, 48-50
- 6) Murashige.T Skoog.T (1962) “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture” *Physiol.Planta* 15:473-497
- 7) 山下淳 (1991) 新版植物育種学 遺伝子の突然変異と育種 文永堂出版 39-42
- 8) 田中淳 (2003) イオンビーム照射技術の開発と誘発突然変異の特徴 第1回イオンビーム生物応用ワークショップ 論文集 5-8
- 9) 鈴木賢一, 宮崎潔, 四方康範, 勝元幸久, 浦谷宏, 田中隆治, 久住高章, 福井祐子 (2003) 重イオンビームを利用した花卉新品種育種と実用化 放射線と産業 No.99:40-45
- 10) 長谷純宏 (2004) イオンビーム照射による品種改良の特徴 第2回イオンビーム生物応用ワークショップ論文集 5-8
- 11) 田中淳 (2003) イオンビーム育種技術の開発と特徴 放射線と産業 No.99:4-10

# Mutation breeding of new cultivars from 'Garden star' by Ion beam Irradiation. *Ranunculus japonicas*.

Kansuke NAKASE, Minoru SAITO, Yukio NOMURA

## Summary

The 'Garden Star' is a ringlet flower which has many petals and is commonly used for flower beds. We irradiated 'Garden Star' with various ion beam and caused mutation.

As a result, a few mutated strains were produced. We selected 'No. 3' whose flower color of the central part changed green from yellow (around: vivid yellow JHS2507, center: deep yellow green JHS3507) by irradiation of 3 Gy neon ion beam and 'No. 5-1' whose color of the petal was light yellow (JHS2504) by irradiation of 4 Gy carbon ion beam.