

シンクロトロン光照射が輪ギクの花色変異に及ぼす影響

村井かほり*・巢山拓郎・白石和弥・國武利浩¹⁾・井樋昭宏

シンクロトロン光照射による突然変異の誘発が、白輪ギクの作出に利用可能であるかを検討するため、淡赤色輪ギク 2 系統および淡黄色輪ギク 2 系統にシンクロトロン光（白色光，ピーク強度 4keV，吸収線量 11~22Gy）を照射し，花色変異に及ぼす影響を調査した。その結果，淡赤色系統から得られた突然変異個体は，濃色化したものが 7 個体，淡色化したものが 7 個体，白色化したものが 5 個体，淡黄色系統からは濃色化したものが 11 個体であった。得られた花色変異個体は色素組成が変化しており，淡赤色系統の変異個体ではアントシアニンの増減，淡黄色系統の濃色化個体ではカロテノイドの増加が認められた。また，突然変異誘発時に発生するキメラの解消方法として親株摘心法を実施したが，供試した全ての系統でキメラ株が出現し，十分なキメラ解消効果は得られなかった。以上より，シンクロトロン光照射による突然変異誘発は，白輪ギクの作出に利用可能な手法であり，この手法を用いる場合には，淡赤色輪ギクを用いること，キメラ解消のために親株摘心法に加え花卉培養法など他の手法の併用を検討する必要がある。

[キーワード：花色，キク，シンクロトロン光，突然変異]

Effects of Mutation Induction for Flower Color of Chrysanthemum by Synchrotron Radiation. MURAI Kahori, Takuro SUYAMA, Kazuya SHIRAISHI, Toshihiro KUNITAKE and Akihiro IBI (Fukuoka Agriculture and Forest Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. For. Res. Cent.* 8 : 7 -15 (2022)

In order to consider whether mutation induction by synchrotron radiation available for breeding white color chrysanthemum, we researched on the effects of synchrotron radiation for two pale-red and two pale-yellow chrysanthemum lines. As a result, we obtained mutations of chrysanthemum petals. These mutations were seven deep, seven light and five white hue from pale-red chrysanthemum lines, eleven deep hue from pale-yellow chrysanthemum lines. These mutations changed pigment composition. We confirmed mutations of pale-red lines were rise and fall of anthocyanins, pale-yellow lines were rise of carotenoids. We chose "Sucker decapitation" for a method to evaluate escape from chimerism. However, we got chimerism from all chrysanthemum lines, the method was inadequacy effect of escaping. ("Sucker decapitation" is a method that involves pinching of the lateral shoot twice from the parent plant) Therefore, the application of mutation induction by synchrotron radiation to breeding white color chrysanthemum was susceptible, so we selected chrysanthemum petals hue was pale-red, and need to consider using together with "Sucker decapitation" and another methods such as "Floret culture method" for escape from chimerism.

[Key words: chrysanthemum, flower color, mutation, synchrotron radiation]

緒言

福岡県は古くから輪ギクの生産が盛んであり，現在も生産量 72, 100 千本（2019 年度）を誇る全国第 2 位の輪ギク産地である（福岡県フラワーデータブック 2020）。近年，輪ギク生産現場では，労働力不足や生産コストの増加が課題となっており，既存の栽培品種と比較してより生産性の高い新品種開発への要望が高まっている。そのため，福岡県農林業総合試験場では，生産の主力である秋白輪ギクについて 2014 年度より交配による新品種育成に取り組んできた。その結果，草丈伸長性や低温開花性，脇芽の不伸長性等，生産性の向上につながる有用形質を有する系統が複数得られたが，それらの花色は白色ではなかった。一般に，輪ギクの花色は白色が黄色に対して優性であるものの，河瀬・塚本（1974，1977）はキクについて，高次倍数性で遺伝的にヘテロ性が高く交雑後代の花色分離が非常に複雑であると報告している。本試験場内で実施した，黄色を種子親，白色を花粉親とした交配育種においても，交配実生の花色は 16% が白色，18% がクリーム色，55% が黄色，4% が橙色，8%

が赤色を呈している（未発表）。このように，交配育種では交配親の花色から交配実生の花色を推測することが難しく，有用形質を有する白輪ギクを効率よく作出できないことが課題であった。そこで，育種手法として，これまで実施してきた交配育種に加え，花色を有色から白色に変えることを目的とした人為的突然変異の利用について検討した。人為的突然変異により輪ギクの花色を白色に変異させることができれば，有用形質を有する有色の系統も秋白輪ギク新品種の候補となりうると考えたためである。

花きの人為的突然変異の誘発には，古くは X 線やガンマ線，近年ではイオンビームを利用した放射線照射が広く行われてきた（玉木ら 2017）。放射線照射による突然変異誘発法は，放射線を植物の成長点に照射することにより成長点付近の多数の細胞に様々な突然変異が生じることを利用した手法である（浅見ら 2016）。イオンビーム照射による花色突然変異の誘発事例は多数報告されており（新井 2003，伊東ら 2007，飯塚ら 2011，玉木ら 2017），永富ら（2003）は，キクのイオンビーム照射により花色が変異した 6 系統を新品種として選抜してい

*連絡責任者（苗木・花き部：murai-k8928@pref.fukuoka.lg.jp）

受付 2021 年 7 月 20 日；受理 2021 年 11 月 10 日

1) 現 福岡県農林水産部経営技術支援課

る。さらに、近年最も新しいX線源として注目されているのがシンクロトロン光である。シンクロトロン光とは、真空中をほぼ光速で直進する電子の進行方向を偏向電磁石が作る磁場で曲げることにより発生する光のことであり①非常に強力な光を発生する（高強度）、②レーザーのような鋭い指向性・平行性を持つ（高指向性）、③赤外線からX線までの広い波長成分を有する（連続スペクトル）といった特徴を有する（竹内 1976, 平井 2007, 阿部ら 2014, 松野ら 2020, 公益財団法人佐賀県産業振興機構九州シンクロトロン光研究センターホームページ）。このため、シンクロトロン光は極めて短い照射時間で、照射したい部分をピンポイントに、かつ分光装置と組み合わせることで波長領域を選んで照射することが可能であり、多くの利点をもつ突然変異源である（松野ら 2020）。シンクロトロン光の花色突然変異源としての利用に関する報告として、宮崎ら（2011）は、桃色輪ギクにシンクロトロン光を照射した結果、濃色化あるいは淡色化した変異株が出現したと報告している。また、坂本（2018）は、スプレーギク 5 品種にシンクロトロン光を照射した結果、3 品種で花色変異株が出現し、淡赤色品種からは濃色化、淡色化および白色化、黄色品種からは濃色化、赤紫色+白覆輪品種からは覆輪幅、覆輪色の黄色化などの変異が誘発されたと報告している。これらの報告は、シンクロトロン光照射することでキク類においてどのような花色変異株が出現したかの確認に留まっており、各変異花色の出現率の調査は未実施である。そのため、本県がシンクロトロン光を利用して効率よく白輪ギクの新品種を作出するために、どのような花色の輪ギクを用いた場合に白色が効率よく誘発されるかは不明である。

そこで本研究では、シンクロトロン光照射が輪ギクの花色変異に及ぼす影響を詳細に調査し、白輪ギクの新品種育成に利用可能な技術であるかを検討した。なお、花色は花卉に含まれる色素が母体となっていることから、稲津ら（1983）は花色変異を色素分布の変異としてとらえることが有効であるとしている。そのため、本試験は色素組成に着目して実施した。

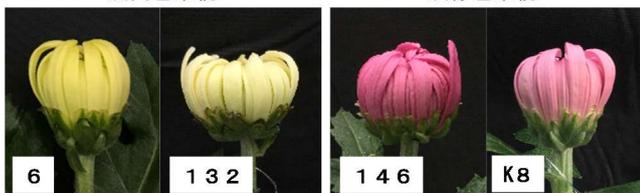
材料および方法

1 シンクロトロン光照射が輪ギクの花色に及ぼす影響

淡黄色 2 系統（6, 132）、淡赤色 2 系統（146, K8）、計 4 系統を供試した（第 1 図）。2017 年 6 月 7 日に親株より長さ 12~13cm の挿し穂を採穂し、ビニル袋に入れて 3℃暗黒条件で 1 週間保管した。6 月 14 日に穂長 10cm

淡黄色系統

淡赤色系統



第 1 図 シンクロトロン光照射に供試した輪ギク 4 系統

に調整後、下位節に展開葉 1~2 枚を残し、未展開葉を含め可能な限り茎頂部の葉を除去して挿し穂とした。調整した挿し穂は 10 本ずつ結束し、外径 5×31×7cm のアクリル容器内に 200 本を配置し、全体をビニル袋に入れて 3℃暗黒条件で 1 日間保管した。6 月 15 日に、佐賀県立九州シンクロトロン光研究センター（The SAGA Light Source）のビームライン 09 において、シンクロトロン光（白色光、ピーク強度 4keV）を照射した。吸収線量（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）は、11~22Gy で花色変異体の獲得率が高くなる傾向があるとの坂本（2018）の報告から、系統 132, 146 については 11Gy および 22Gy, 系統 6, K8 については 11Gy とした。供試本数は各区 200 本とした。照射当日にガラス室内のボラ砂を充填した挿し芽床に挿し芽し、7 時から 18 時までの間 30 分間隔で 1 分間のミスト散水を行った。ハウスの温度条件は成り行きとした。7 月 5 日に発根苗を鉄骨硬質フィルムハウス内に親株として定植し、7 月 7 日に基肥としてロングトータル花き 1 号 100 日タイプ（N:P₂O₅:K₂O=13:14:8）を株あたり 2g 施用した。

変異個体のキメラ解消のため、本試験では親株の頂芽の摘心を 1 回、側枝の摘心を 1 回実施した。具体的には、7 月 13 日から 15 日にかけて頂芽を摘心し、その後伸長した 1 次側枝を 7 月 31 日から 8 月 2 日にかけて摘心した。1 次側枝摘心後、伸長した 2 次側枝を、系統 132, 146, K8 については 9 月 15 日に、系統 6 については 12 月 20 日に採穂し、それぞれ同日にガラス室内のボラ砂を充填した挿し芽床に挿し芽し、7 時から 18 時までの間 30 分間隔で 1 分間のミスト散水を行った。ハウスの温度条件は 9 月 15 日挿し芽については成り行き、12 月 20 日挿し芽については最低夜温 10℃で管理した。系統 132, 146, K8 は、10 月 2 日に鉄骨硬質フィルムハウス内に定植し、10 月 6 日に基肥としてロングトータル花き 1 号 100 日タイプ（N:P₂O₅:K₂O=13:14:8）を株あたり 2g 施用した。定植本数は、系統 132 の 11Gy で 430 本、22Gy で 288 本、系統 146 の 11Gy で 304 本、22Gy で 152 本、系統 K8 の 11Gy で 399 本とした。定植方法は 13.5cm 角 5 目ネットを用いて中央 1 条を除き 1 マス 2 本植えとした。系統 6 は、2018 年 1 月 10 日に鉄骨硬質フィルムハウス内に上記と同様の方法で定植および基肥の施用を行った。定植本数は 235 本とした。対照として全ての系統についてシンクロトロン光無照射苗を各系統 40 本定植した。系統 132, 146, K8 は定植から 11 月 16 日まで、系統 6 は定植から 2 月 7 日まで暗期中断 4 時間（22:00~2:00, アグリランプ FR-MP:消費電力 9W）で管理した。温度条件は全ての系統で最低夜温を定植から消灯まで 12℃, 消灯から消灯 3 週間後まで 15℃, 消灯 3 週間後から収穫まで 12℃とした。日中は全栽培期間中 25℃で換気した。

収穫期にシンクロトロン光照射による可視的花色変異の誘発程度を達観により調査した。花色調査には、系統 132, 146, K8 については 2018 年 2 月 10 日、系統 6 は 4 月 9 日までに収穫期を迎えた株を供試した。なお、輪ギクの頭花は、花床の中心に筒状花、その周囲に舌状花が密集した構造をしており（西尾・岡崎 2001）、一般に蕾の状態で出

第 1 表 花色変異個体の花色の分類条件

系統名	花色	花色の分類 ¹⁾			
		白色	淡色	原花色	濃色
6	淡黄色			1C, 1D, 2C, 2D, 3C, 3D, 4B, 4C 4D	2B, 3A, 3B, 4A, 5A, 5B, 5C, 6A 6B, 6C, 7A, 7B, 7C, 7D, 8A, 9A 9B, 9C
132				1C, 1D, 2D, 4D, 5D, 8D, 158C	
146	淡赤色	1D, 2D, 4C, 4D, 157D	62C, 63D, N66D, 70C, 70D, 73C 75A, 75B, 75C, 75D	70B, 71D	64A, 70A, 71A, 71B, 71C, 72A 72B, N79C
K8		4D, 11D, 155A, 155B, NN155A		62C, 65B, 70D, 75B, 75C	70B, 70C, 72C, 72D, N74C N74D

1) RHS カラーチャートをもとに分類

荷および観賞される。そのため、本研究において花色は収穫時の蕾の状態における舌状花の外側花卉の色で評価した。

2 花色変異個体の花色の固定度

シンクロトロン光照射により花色変異が誘発された個体について、親株を育成し増殖後の変異花色のばらつきを調査した。2018年4月に花色変異個体の切り下株を15cm径ポリポットに鉢上げし、側枝を適宜採穂して順次親株を養成した。親株の生育が旺盛であった個体について、系統6は9個体、系統132は4個体、系統146は11個体、系統K8は8個体を選抜し、9月4日および5日に親株から長さ10cm程度の挿し穂を採穂し、ビニル袋に入れて5℃暗黒条件で保管した。9月17日にガラス室内のボラ砂を充填した挿し芽床に挿し芽し、7時から18時までの間30分間隔で1分間のミスト散水を行った。ハウスの温度条件は成り行きとした。10月10日に1個体あたり16~48本の発根苗を鉄骨硬質フィルムハウス内に定植し、同日、ロングトータル花き1号100日タイプ(N:P₂O₅:K₂O=13:14:8)を株あたり2g施用した。対照としてシンクロトロン光無照射株から採穂した発根苗を1系統あたり40本定植した。定植日から11月27日まで暗期中断4時間(22:00~2:00, アグリランプFR-MP:消費電力9W)で管理した。温度条件は、夜間最低気温を定植から消灯まで12℃、消灯から消灯4週間後まで15℃、消灯4週間後から収穫まで12℃とした。日中は全栽培期間中25℃で換気した。収穫期にRHSカラーチャート(第5版)を用いて系統ごとに開花株の花色を調査し、白色、淡色、シンクロトロン光照射後も照射前の花色と変化が認められなかった花色(以下、原花色)、濃色、キメラにそれぞれ分類した(第1表)。また、花色変異個体ごとに開花数に占める白色、淡色、原花色、濃色、キメラの割合を、花色変異個体の花色のばらつきとして算出した。

3 花色変異個体の色素分析

シンクロトロン光照射により花色変異が誘発された個体について色素組成を調査した。系統146は濃色個体および淡色個体、系統K8は濃色個体、系統6は濃色個体およびシンクロトロン光照射後も照射前の花色と変化が認めら

れなかった個体(以下、原花色個体)、系統132は原花色個体を調査した。対照として、全ての系統についてシンクロトロン光無照射個体(以下、無照射個体)も調査した。2019年1月、収穫期に達した蕾の舌状花(以下、花卉)を採取し、電気定温乾燥器(ヤマト科学株式会社, Drying oven, DS-43)を用い45℃で12~24時間乾燥させた。十分に乾燥した花卉を個体ごとに薬包紙に包み、シリカゲルを敷き詰めた密閉容器に入れ、マイナス90℃で保管した。8月~12月にかけて1個体あたり50mgの乾燥花卉から色素を抽出し、高速液体クロマトグラフ(島津製作所, ポンプ:LC-20AD, 検出器:SPD-10Avp, カラムオーブン:CTO-10Avp, カラム:ナカライテクス製Cosmosil15C18-MS-II(内径4.6mm×250mm), 以下HPLC)を用いた色素組成調査を実施した。また、系統6については乾燥花卉の吸収スペクトルを分光光度計(日立, U-2910)で測定した。調査した色素の種類は、淡黄色系統(6, 132)はカロテノイドおよびフラボン、淡赤色系統(146, K8)はアントシアニンのみとした。フラボン類はアントシアニンとの共存下ではコピグメントとして働き、色調がやや青みを帯びるといふ特徴を持つが、本試験で得られた淡赤色系統の変異花色は青みを帯びていなかったため、フラボンは調査対象外とした。色素抽出および分析方法については、アントシアニンの分析はHuyen *et al.* (2016)、カロテノイドの分析はUreshino *et al.* (2016)の方法により行った。HPLC分析条件は第2表に示す。

結果

1 シンクロトロン光照射が輪ギクの花色に及ぼす影響

結果を第3表に示す。供試した全ての系統について、シンクロトロン光照射により花色変異が誘発された。淡黄色系統(6, 132)では濃色化した変異のみが認められた。一方、淡赤色系統(146, K8)では濃色化した変異に加え、淡色化および白色化した変異も認められた。ただし、得られた白色変異個体は舌状花全体が白色となった個体の他、舌状花の先端がごく薄い赤みを帯びた個体、舌状花の全体にごく薄い赤い斑点がある個体が含まれていた(データ略)。キメラ化した個体は全ての系統で出現した。

第2表 高速液体クロマトグラフの色素別設定条件

色素	A液	B液	B液濃度の変化 (時間)	流量	検出波長	カラム温度
カロテノイド	90% アセトニトリル	酢酸エチル	0→1%(0-10min), 1→65%(10-35min), 65→70%(35-45min), 70→100%(45-50min)	1.0ml/min	440nm	35°C
フラボン	1.5% リン酸水溶液	リン酸：酢酸：アセトニトリル： 水=1.5:20:25:53.5	20→85%(40min)	1.0ml/min	330nm	40°C
アントシアニン	1.5% リン酸水溶液	リン酸：酢酸：アセトニトリル： 水=1.5:20:25:53.5	20→85%(40min)	1.0ml/min	520nm	40°C

第3表 シンクロトロン光照射が輪ギク系統の花色変異誘発に及ぼす効果

系統名	花色	照射強度 ¹⁾	定植株数 (株)	開花株数 ²⁾ (株)	花色変異			花色変異株率 ³⁾	白色変異株率 ⁴⁾
					変異花色 (変異個体数)			(%)	(%)
6	淡黄色	11Gy	235	220	濃黄 (8) キメラ (2)			4.5	0.0
		0Gy ⁵⁾	40	40				0.0	0.0
132	淡黄色	11Gy	430	377	濃黄 (1) キメラ (1)			0.5	0.0
		22Gy	288	251	濃黄 (2)			0.8	0.0
		0Gy ⁵⁾	40	40				0.0	0.0
146	淡赤色	11Gy	304	291	白 (1) 淡淡赤 (4) 濃赤 (2)			2.4	0.3
		22Gy	152	136	白 (1) 淡淡赤 (2) 濃赤 (2) キメラ (1)			4.4	0.7
		0Gy ⁵⁾	40	40				0.0	0.0
K8	淡赤色	11Gy	399	344	白 (3) 淡淡赤 (1) 濃赤 (3) キメラ (1)			2.3	0.9
		0Gy ⁵⁾	40	40				0.0	0.0

1) シンクロトロン光 (白色光：ピーク強度 4keV) の照射線量

2) 系統 6：2018 年 4 月 9 日, 系統 6 以外：2018 年 2 月 10 日までに収穫期となり花色調査を実施した株数

3) (花色変異株数/開花株数) × 100 にて算出

4) (白色変異株数/開花株数) × 100 にて算出

5) 無照射株では全ての系統で花色変異は確認されず原花色を呈した

系統 6, 146, K8 では原花色と変異個体に出現した花色とのキメラであったが, 系統 132 では原花色と変異個体にはない花色である赤色とのキメラが出現した(第 2 図)。花色変異株率は, シンクロトロン光照射強度および系統間で異なり, 系統 6 は 11Gy で 4.5%, 系統 132 は 11Gy および 22Gy のいずれにおいても 1%未滿, 系統 146 は 11Gy で 2.4%, 22Gy で 4.4%, 系統 K8 は 11Gy で 2.3%であった。白色変異株率は, 淡黄色 2 系統 (6, 132) で 0.0%, 系統 146 は 11Gy で 0.3%, 22Gy で 0.7%, 系統 K8 は 11Gy で 0.9%であった。



第2図 系統 132 の花色変異個体 (原花色と赤色とのキメラ)

2 花色変異個体の花色の固定度

結果を第 4 表および第 5 表に示す。淡黄色 2 系統 (6, 132) では, 系統 6 は, 濃色化した 7 個体のうち 6 個体において 78~ 100%という高い確率で濃色を維持した。ただし, 濃色化程度の低かった (Y: 黄色) 1 個体で 97%が原花色を呈した。一方, 系統 132 は, 濃色化個体において 100%の高い確率で原花色を呈した。キメラ化した個体は, いずれの系統も 55~78%の確率でキメラを維持しており, 残りの 22~45%が原花色を呈した。淡赤色系統 (146, K8) では, 系統 146 は, 白色化した 2 個体でそれぞれ 37%と 60%が白色を呈し, その他はキメラとなった。淡色化した 4 個体で 78~ 100%が淡色を呈し, その他はキメラとなった。濃色化した 4 個体のうち 3 個体で 73~78%が濃色を呈し, その他は原花色と同一となった。残り 1 個体では, 62%が濃色, 24%が原花色を呈し, 14%がキメラとなった。キメラ化した 1 個体は, 85%がキメラを維持し, 15%が白色を呈した。一方, 系統 K8 は, 白色化した 3 個体のうち 2 個体でそれぞれ 75%と 92%が白色を呈し, その他は濃色およびキメラとなった。残り 1 個体は 4%が白色を呈し 96%が原花色を呈した。淡色化した 1 個体は 100%原花色を呈した。濃色化した 3 個体のうち 2 個体は 100%濃色となり, 残り 1 個体は 89%が

第4表 淡黄色系統 (6, 132) における花色変異個体の花色の固定度

系統名	シンクロトロン光照射の有無	変異の種類	変異花色 ¹⁾	開花株数 ²⁾	花色のばらつき ³⁾ (%)		
					原花色	濃色	キメラ
6	有	濃色化	Y	30	97		3
			Y	31	3	78	19
			DY	32		100	
			DY	32		100	
			DY	31		100	
			DY	28	18	82	
			DY	25		100	
		キメラ化	Y+DY	31	45		55
			Y+DY	30	30		70
		無	-	-	40	100	
132	有	濃色化	Y	28	100		
			Y	11	100		
			Y	22	100		
		キメラ化	Y+DP	27	22		78
			-	40	100		

1) Y:黄色, DY:濃黄色, DP:濃赤色

2) 調査時点までに収穫期となり花色調査ができた株数

3) (花色のばらつき) = (花色毎の株数) / (開花株数)

第5表 淡赤色系統 (146, K8) における花色変異個体の花色の固定度

系統名	シンクロトロン光照射の有無	変異の種類	変異花色 ¹⁾	開花株数 ²⁾	花色別のばらつき ³⁾ (%)					
					白色	淡色	原花色	濃色	キメラ	
146	有	白色化	W	30	60				40	
			W	27	37				63	
		淡色化	LP	27		100				
			LP	27		81			19	
			LP	29		93			7	
			LP	27		78			22	
		濃色化	DP	23			22		78	
			DP	22			27		73	
			DP	23			26		74	
			DP	21			24		62	14
		キメラ化	W+DP	13	15					85
		無	-	-	40		100			
		K8	有	白色化	W	27	92			4
W	28				75				25	
W	24				4		96			
淡色化	LP			21		100				
	DP			28					100	
濃色化	DP			27					100	
	DP			27					89	11
キメラ化	DP+LP	27			100					
無	-	-	40		100					

1) W:白色, LP:淡赤色, DP:濃赤色

2) 調査時点までに収穫期となり花色調査ができた株数

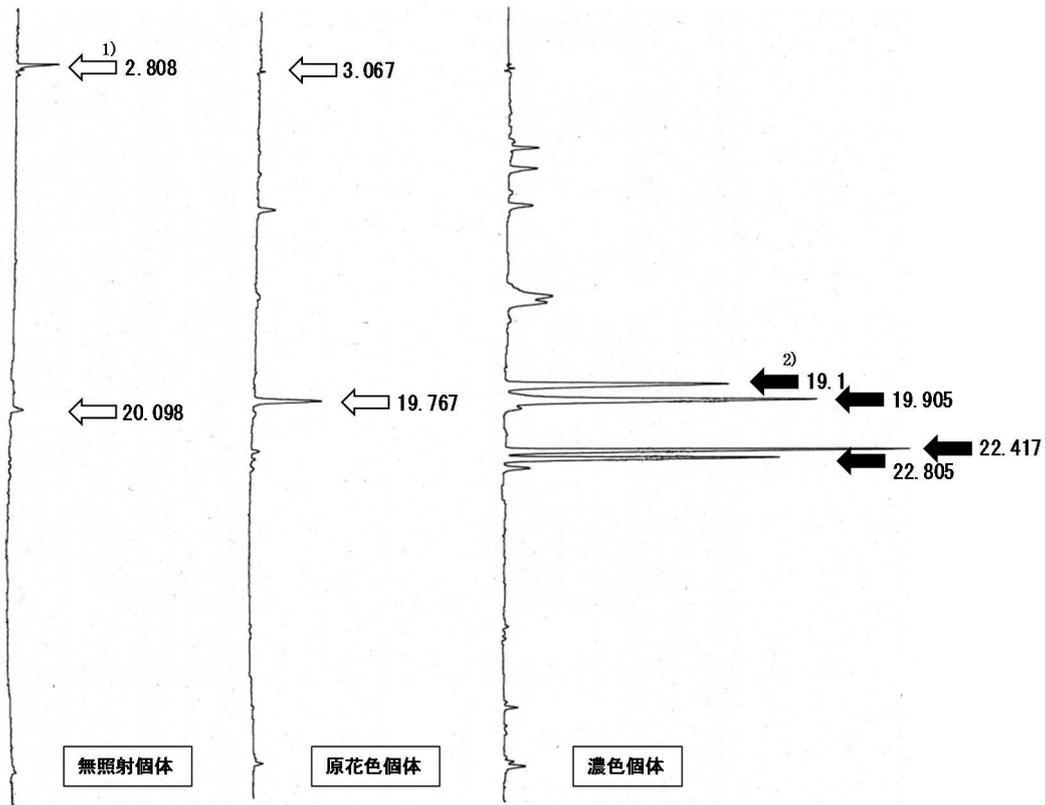
3) (花色のばらつき) = (花色毎の株数) / (開花株数)

濃色, 11%がキメラとなった。キメラ化した1個体は100%原花色を呈した。全ての系統について、シンクロトロン光無照射株は100%が原花色を呈した。

3 花色変異個体の色素分析

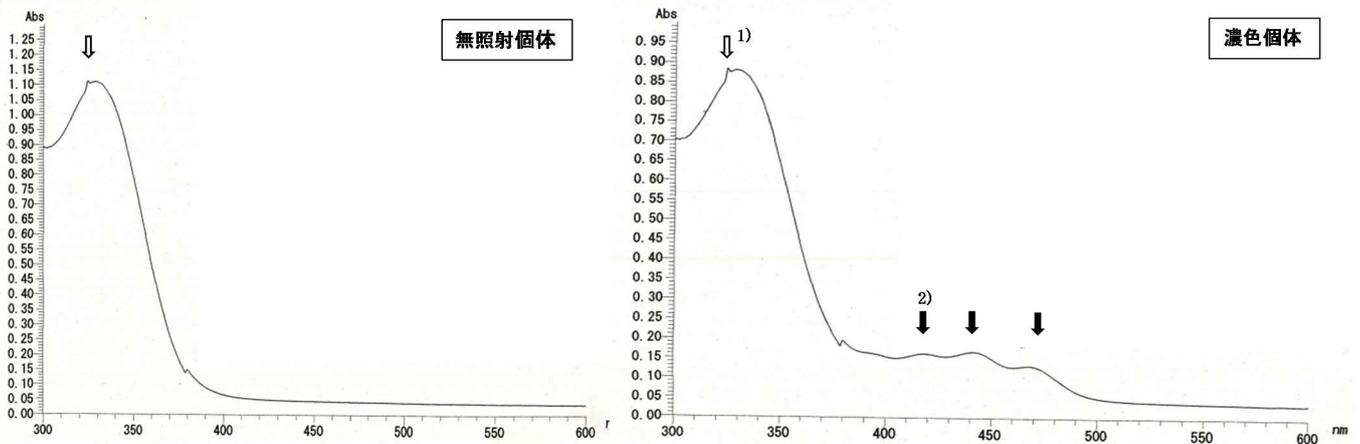
淡黄色系統 (6, 132) について、カロテノイドのHPLCによる分析を行った結果、系統6では無照射個体および

原花色個体で2~3分および19~20分付近で小さなピークが検出されたが、その他の小さなピークは一致しなかった(第3図)。濃色個体では無照射および原花色個体とは一致しない4つの大きなピークが検出された(第3図)。加えて、分光光度計によるスペクトル分析では、濃色個体で400~500nm付近に3つのカロテノイド特有のピークが検出された(第4図)。一方、系統132のHPLCによる



第3図 系統6の舌状花のカロテノイド色素のHPLC分析結果

- 1) 無照射個体および原花色個体のいずれにおいても3分および20分付近で小さなピークを検出
- 2) 濃色個体では無照射個体および原花色個体とは一致しない4つの大きなピークを検出



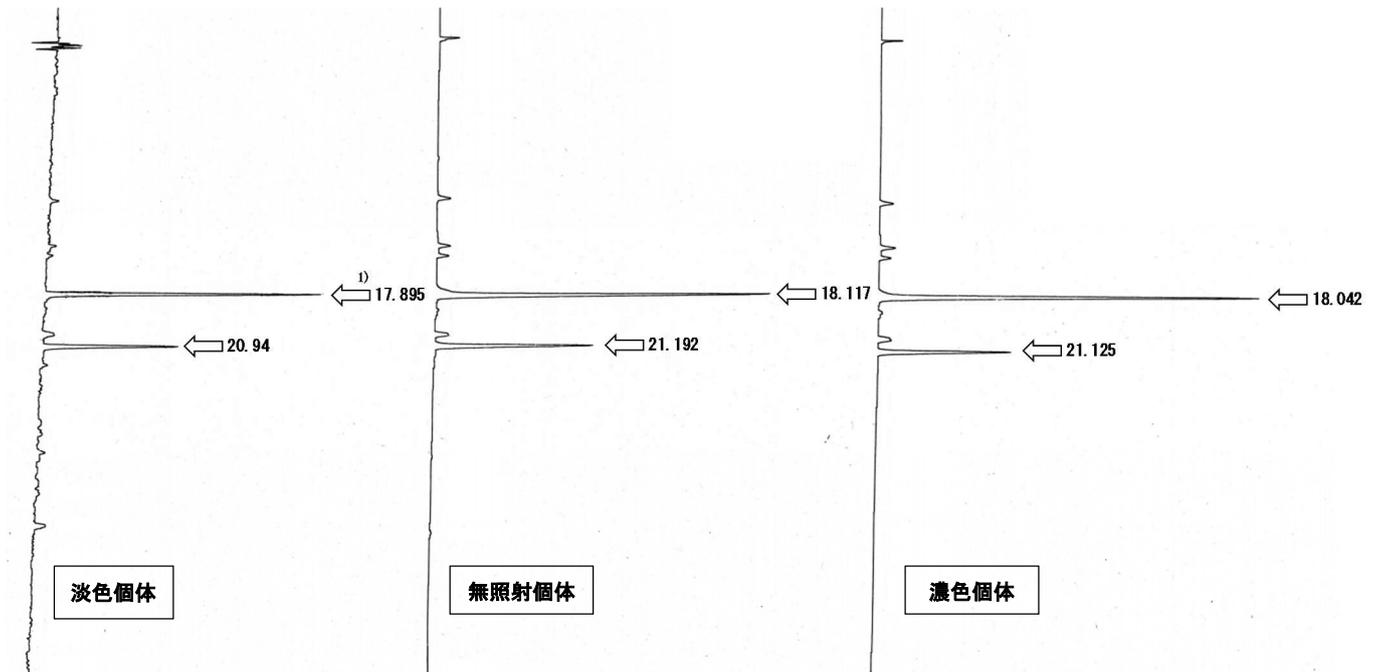
第4図 系統6の分光光度計によるスペクトル分析結果

- 1) 無照射個体および濃色個体のいずれにおいてもピーク波長は329nm
- 2) 濃色個体では400~500nm付近にカロテノイド特有の3つのピーク波長を検出

分析では、無照射個体で3分および20分付近に小さなピークが検出されたが、原花色個体ではピークが全く検出されなかった(データ略)。次に、フラボンのHPLCによる分析を行った結果、系統6では、無照射個体と原花色個体および濃色個体で23分および32分付近にフラボン類と考えられる2つの主要なピークが検出された(データ略)。AREA値は、23分のピークについては、無照射個体で低いのに対し、原花色個体および濃色個体で高くなった

(データ略)。一方、系統132については、無照射個体および原花色個体で10分、23分、26分、32分に大きなピークが検出された(データ略)。26分のピークの含有率が、原花色個体で無照射個体に比べやや高くなったが、AREA値は2個体間に大きな差は認められなかった(データ略)。

淡赤色系統(146, K8)について、アントシアニンのHPLCによる分析を行った結果、系統146では、淡色個体、無照射個体および濃色個体で17~18分および20~21分



第5図 系統146の舌状花のアントシアニン色素のHPLC分析結果

1) 淡色個体, 無照射個体, 濃色個体のいずれにおいても17~18分および20~21分付近でピークを検出

第6表 系統146のアントシアニン色素のHPLC分析結果

淡色個体		無照射個体		濃色個体	
Time ¹⁾	AREA ²⁾	Time	AREA	Time	AREA
		3.092	16117	3.067	29164
				10.150	5342
		12.492	19713	12.425	42954
				14.392	9635
				14.608	8066
		15.208	29287	15.142	58806
		15.800	21348	15.725	43221
				17.008	5466
17.895	42092	18.117	482588	18.042	1037357
		18.925	8337	18.883	30114
		19.200	6340		
				20.350	68757
20.940	20802	20.508	38301		
				21.125	349488
		21.192	213621	21.525	8706
				21.525	8706
AREA値合計	62894		835653		1697076

1) 分析個体における各溶質の溶離までに要する保持時間

2) 分析個体における各溶質の溶離ピーク面積

にピークが検出された(第5図)。また、AREA値の合計は、濃色個体、無照射個体、淡色個体の順に小さくなった(第6表)。系統K8でも同様に、供試した全ての個体において17分および20分にピークが検出され、AREA値の合計は、濃色個体、無照射個体の順に小さくなった(データ略)。

考 察

シンクロトロン光が輪ギクの花色変異に及ぼす影響を明らかにし白輪ギクの育成に利用可能な技術であるかを検討すること目的に、淡黄色2系統および淡赤色2系統にシンクロトロン光を照射した結果、淡黄色系統では花色が濃色化する変異、淡赤色系統では花色が濃色化する変異に加え、淡色化および白色化する変異が確認された。本試験結果は、宮崎ら(2011)および坂本(2018)が報告しているキク類にシンクロトロン光を照射し得られた結果と一致した。

花色は、色素の含量・相対量、細胞内での物理的あるいは化学的狀態、花卉の内部または表面の構造など、多くの要因が関係して発現する(安田 1993)。キクの花色を構成する主要色素はカロテノイド類とフラボノイド類の 2 グループであり、後者はさらにアントシアニンおよびアントキサンチン(フラボンおよびフラボノール)の 2 つの色素グループに分けられる(水谷 1971, 河瀬・塚本 1974)。河瀬・塚本(1974, 1976)は、キク 68 品種を用いて生花卉の吸収スペクトルおよび花色を構成する主要色素を詳細に調査し、黄色の花にはカロテノイド、白、桃および赤紫色の花にはフラボノイド(アントシアニン、フラボン、フラボノール)を含むと報告している。また、色素は花卉内に均一に分布せず局在しており、一般的に上面表皮細胞に含まれているが、濃色の花卉では、柵状組織や海綿状組織などの下面表皮の細胞にも含まれている場合がある(安田 1993)。これらの前提条件をふまえて、本試験結果を考察する。

ア 淡黄色系統(6, 132)

河瀬・塚本(1974, 1976)の報告から、本試験で供試した淡黄色 2 系統は、カロテノイド色素を主要色素として含むと推察される。

稲津ら(1982, 1983)は、スプレーギクへのガンマ線照射により、カロテノイド未含有の花弁が、表皮もしくは内層のみにカロテノイドを含むようになる変異、および表皮のみにカロテノイドを含む花弁が表皮と内層の両層にカロテノイドを含むようになる変異は極めて高頻度で発現するのに対し、カロテノイドを含む花弁からカロテノイドが消失する変異は極めてまれであると報告している。本試験においても、系統 6 のカロテノイド色素の HPLC および分光光度計による分析の結果、濃色個体においてカロテノイドの発現が確認された(第 3 図, 第 4 図)。また、水谷(1971)は、黄色花品種はカロテノイド含有量によってその濃淡が表現されると報告している。つまり、系統 6 ではシンクロトロン光照射によりカロテノイドを蓄積する突然変異が誘発されたと推察される。一方、系統 6 のフラボン色素の HPLC による分析は、花卉サンプルがやや過乾燥であったため再確認する必要がある。

もうひとつの淡黄色系統 132 のカロテノイド色素の HPLC による分析の結果、無照射個体および原花色個体のいずれにおいてもカロテノイドは含まれていないと考えられた。一方、フラボン色素の HPLC による分析の結果、無照射個体と原花色個体で主要ピークの大きさに違いがあるものの、AREA 値に大きな違いがないことから、花弁に含まれるフラボン量に大きな差はないと考えられた。

淡黄色系統では、2 系統間でシンクロトロン光照射による花色変異の発現の有無に差が生じる結果となった。放射線突然変異誘発においては花色変異誘発率に品種間差があることが多くの品目で報告されており、キクにおいても玉木ら(2017)がイオンビーム照射による花色変異率に品種間差があることを報告している。加えて、玉

木ら(2017)は、キク品種は 6 倍体のヘテロで色素合成遺伝子に品種間差があり、花色変異が起こりにくい品種はより高い線量の照射が必要であると推測している。

本試験で黄色系花から白色花が得られなかった要因の一つとして、白色花弁特異的カロテノイド分解酵素遺伝子ホモログ(以下、CmCCD4a)の作用が考えられる。大宮(2007)は、キクの白色花弁について、黄色花弁と同様にカロテノイドが合成されるものの CmCCD4a により分解されカロテノイドが蓄積しないこと、黄色品種では CmCCD4a の発現が抑制されているのではなく CmCCD4a を持っていないこと、枝変わりや組織培養時の変異により CmCCD4a が欠失する可能性を示唆している。よって、シンクロトロン光照射による白色変異出現率は、CmCCD4a やそれ以外の要因により、淡赤色系統と比較して黄色系統で低い可能性がある。

イ 淡赤色系統(146, K8)

河瀬・塚本(1974, 1976)の報告から、本試験で供試した淡赤色 2 系統は、フラボノイド(アントシアニン、フラボン、フラボノール)を主要色素として含む系統と推察される。

本試験において、淡赤色系統からは濃色化、淡色化、白色化のいずれの変異も確認された。また、系統 146 および K8 のアントシアニン色素の HPLC による分析の結果、花色変異は色素構成に変化はなく色素量が増減したものと考えられた。稲津ら(1982, 1983)は、キクについて、アントシアニン未含有花弁がアントシアニンを含有するようになる変異、逆にアントシアニン含有花弁が未含有になる変異はどちらも生じ得る変異であり、アントシアニンの存否や含量に関する変異はキクでは多様に起こると考察している。玉木ら(2017)も、キク赤系品種でアントシアニン合成系の遺伝子が発現して機能を欠失すると花弁が白色化すると考察しており、これらの報告と本試験結果は一致する。

本試験において、淡黄色系統 132 において原花色と赤色のキメラが確認されたが、このこともアントシアニンを含まない花弁にアントシアニンを含む変異が生じたものと推察できる。

以上より、シンクロトロン光照射が輪ギクの花色変異に及ぼす影響は、淡黄色系統からは濃色化変異、淡赤色系統からは濃色化、淡色化、白色化変異を誘発できるというものであった。よって、白輪ギクの新品種育成にシンクロトロン光による突然変異誘発法は利用可能な技術であり、利用する場合には、淡赤色系統を供試することが望ましいと結論付けられた。ただし、花色変異誘発個体を増殖し、その花色の固定度を確認した結果、個体差はあるものの全ての供試個体で花色のばらつきが確認されている。キク挿し穂への放射線照射による突然変異誘発では成長点付近の多数の細胞に様々な変異が生じるので、成長した個体は変異細胞と正常細胞が混在する区分キメラ、あるいは茎頂分裂組織の各層が異なる遺伝的背景を持つ周縁キメラになることが多い(細川 2014, 浅

見ら 2016)。浅見ら (2016) は、キメラ解消法の手法のひとつで、本試験でも実施した親株摘心法では、キメラ解消の為に 2 年以上に渡る複数回の栽培が必要であると報告している。つまり、キメラ解消のためには、親株として栽培するシンクロトロン照射株の摘心回数を可能な限り増やすことが望ましい。しかし、親株の摘心回数の増加は育種効率が悪い上、栽培期間の長期化に伴う親株の老化が懸念される。キメラ解消法として、親株摘心法以外に、切り戻し法、不定芽利用法、内部摘芽法、組織培養法などが開発されており(松本・小野沢 1990)、花色に関するキメラの効率的な解消法としては、浅見ら (2016) により親株摘心法と花卉培養法の併用が有効であるとの報告がある。本県でも、突然変異育種に取り組む場合においては、これらのキメラ解消法の利用を検討する必要がある。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、色素抽出および色素分析を実施して頂き、終始適切なご指導を賜った九州大学熱帯農学研究センター長宮島郁夫教授に、厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 阿部知子・風間裕介・西 美友紀・永吉真孝(2014)九州ブランドを世界に！突然変異育種の挑戦. 育種学研究 16:67-71.
- 新井正善(2003)カーネーションへのイオンビーム照射による変異誘発. 東北農業研究 56:235-236.
- 浅見逸夫・辻 孝子・大野 徹(2016)イオンビーム照射によって花の突然変異が生じたキクの花のキメラの解消方法. 愛知県農業総合試験場研究報告 48:9-15.
- 福岡県花あふれるふくおか推進協議会(編)(2021)福岡県フラワーデータブック 2020. 4.
- 平井康晴(2007)九州シンクロトロン光研究センターの現状と利用展開について. 放射光 20(6):375-381.
- 細川宗孝(2014)花の模様形成メカニズム. 京大農場報告 23:7-12.
- Huyen Dao Thi Thanh, Ureshino Kenji, Van Dao Thanh, Miyajima Ikuo(2016)Co-pigmentation of Anthocyanin-flavonol in the Blotch Area of *Rhododendron simsii* Planch. Flowers. The Horticulture Journal. 85(3):232-237.
- 飯塚正英・木村康夫・岡田智行・長谷純宏・田中 淳・関口政行(2011)オステオスペルマム新品種「ヴィエントフラミンゴ」の育成. 群馬県農業技術センター研究報告 8:89-92.
- 稲津厚生・佐野 清(1982)キクの花の色と花色素に関する遺伝・育種学的研究 I. 枝変り品種群 'Dsisy' family と 'Tuneful' family における花色素分布の品種間比較. 玉川大学農学部研究報告 22:14-26.
- 稲津厚生・山内 望・塊原良仁(1983)キクの花の色と花色素に関する遺伝・育種学的研究 II. 枝変り品種群 'Dsisy' family へのガンマー線照射で発現した花色変異とその花色素分布. 玉川大学農学部研究報告 23:36-47.
- 伊東靖之・関 栄一・大越一雄・渡邊 学・斎藤宏之・林 依子・阿部知子(2007)ペゴニア類のイオンビーム照射による変異誘導. 千葉県農業総合研究センター研究報告 6:75-84.
- 河瀬晃四郎・塚本洋太郎(1974)キクの花色に関する研究(第 2 報)生花卉の吸収スペクトルについて. 園学雑 43(2):165-173.
- 河瀬晃四郎・塚本洋太郎(1976)キクの花色に関する研究(第 3 報)花色に対する主要色素の量的効果と花色の測色. 園学雑 45(1):65-75.
- 河瀬晃四郎・塚本洋太郎(1977)キクの育種に関する研究(第 1 報)自家稔実率について. 園学雑 46(1):101-112.
- 公益財団法人佐賀県産業振興機構九州シンクロトロン光研究センター. <http://www.saga-ls.jp/main/#gsc.tab=0>(2021年6月30日閲覧).
- 松本 弘・小野沢芳郎(1990)キクの突然変異育種における管状花培養の利用. 茨城大学農学部学術報告 37:55-61.
- 松野純子・戸田浩子・山元俊輝・山口徳之・新井数俊(2020)カーネーションの突然変異育種に有効なシンクロトロン光の吸収線量及び波長. 愛知県農総試研報 52:73-79.
- 宮崎雄太・西美友紀・石地耕太郎・高取由佳・大藪榮興(2011)シンクロトロン照射によるキク「佐系 1 号」の花色素変異誘発. 九州農業研究発表専門部会発表要旨集. 74:160
- 水谷信雄(1971)キクの育種に関する研究(第 1 報)キクの花色とそれを構成する主要色素およびその量的関係. 近畿大学農学部紀要 4:1-7.
- 永富成紀・渡辺 宏・田中 淳・山口博康・出花幸之介・森下敏和(2003)放射線育種場テクニカルニュース No. 65.
- 西尾 剛・岡崎桂一(2001)花の品種改良入門. 誠文堂新光社, 東京, p. 32, p. 158-164.
- 大宮あけみ(2007)キク花卉における白色形成のメカニズム. 農業および園芸 82(11):1153-1160.
- 坂本健一郎(2018)シンクロトロン光を利用した突然変異育種によるキクの品種開発. 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 18-21.
- 竹内慶夫(1976)新しい X 線源としてのシンクロトロン放射. 鉱物学雑誌 12(5):373-384.
- 玉木克知・山中正仁・林 依子・阿部知子・小山佳彦(2017)キクの品種特性が炭素イオンビーム照射による花色突然変異体の出現に及ぼす影響. 園学研 16(2):117-123.
- Ureshino Kenji, Nakayama Masayoshi, Miyajima Ikuo(2016)Contribution made by the carotenoid cleavage dioxygenase4 gene to yellow colour fade in azalea petals. Euphytica. 207:401-417.
- 安田 齋(1993)花色の生理・生化学増補版. 内田老鶴圃, 東京, p. 2-3, p. 60-127.