

< 2 > 新規産業開発研究

< 2 - b > 地域産業育成探索 / 実証研究

小テーマ：農業 放射線と効率的育種技術による新品種・新素材開発

研究従事者：静岡県農業試験場 宮田祐二、石田義樹（作物部）  
大須賀隆司、川瀬範毅（園芸部）  
大塚寿夫、山田栄成、稲垣栄洋、青島秀憲（生物工学部）  
外側正之、鈴木幹彦（病害虫部）  
小杉徹、山本光宣（土壌肥料部）  
稲葉善太郎（南伊豆分場）  
中根健（東部園芸分場）  
鈴木基嗣（高冷地分場）  
河田智明（海岸砂地分場）  
静岡県柑橘試験場 澤野郁夫、加々美裕、伏見典晃、神尾章子、  
黒柳栄一、中嶋輝子、鎌田憲昭

研究の概要

本県農産物の市場競争力の強化を図るため、水稻、野菜・花き類、果樹類などについて、食味や機能性成分の向上、病害虫抵抗性の付与、低温伸長性などの強化を図り、付加価値の高い新品種・新素材を開発する。

研究の独自性・新規性

- 1) イオンビームなど新しい線種を用いた変異個体の作出技術の確立
- 2) 偽受精処理や組織培養等を組み合わせた効率的な育種技術の確立

研究の目標

- 1) 水稻において、放射線突然変異の変異幅の拡大と短期間での集積を図るために、世代促進技術や交配技術を導入して短期間の効率的な選抜・固定と遺伝的解析および突然変異の複合・集積技術を開発する。
- 2) 環境ストレス耐性メロンを育成するため、イオンビームの利用技術の確立とDNAマーカー利用による変異遺伝子の特定技術を開発する。種子繁殖用イチゴを育成する基礎的技術としてX線を利用した偽受精胚珠培養法を開発する。
- 3) 本県特産花きで、放射線を利用して交雑不親和性を打破する技術の開発および不定芽誘導法の開発による種属間雑種個体の獲得を行う。
- 4) ウンシュウミカンへのイオンビーム照射条件など利用技術を開発するとともに、ナシにおいてはガンマ線の2回照射など効率的利用技術を開発する。
- 5) 放射線照射による微生物の育成技術を開発するため、照射条件など作出マニュアルの作成および高能率選抜技術を開発する。

各研究項目の詳細は次のとおり。

-----  
研究課題：水稲における放射線突然変異遺伝子の集積と固定に関する研究  
短期間の効率的な突然変異の選抜・固定と遺伝的解析  
「滋賀羽二重糯」M3 突然変異系統の選抜

担当部署：静岡県農業試験場 作物部、高冷地分場

担当者名：宮田祐二・石田義樹・嶋田昭史

研究期間：2004 年度（2002～2006 年）  
-----

## 1. 目的

温室内少面積・省力栽培利用による M1 採種後代で、前年度個体選抜を実施した「滋賀羽二重糯」放射線突然変異 M3 世代の系統選抜（検定）を実施し、遺伝的に安定した突然変異系統を分離し、簡易採種法の有効性を検討するとともに、変異の集積に有効な突然変異系統を選抜・整理する。

## 2. 方法

### (1) 供試作物・品種等

水稲 ‘滋賀羽二重糯’ X 線照射 (300, 400Gy) 第 3 世代 (M3) 296 系統

早生化変異：81 系統、晩生化変異：56 系統、短稈化変異：149 系統、その他 10 系統

### (2) 試験場所 磐田市 三ヶ野 静岡農試三ヶ野圃場

御殿場市 御殿場 静岡農試高冷地分場

### (3) 系統栽培概要

移植 三ヶ野圃場：6 月 2 日 高冷地分場：5 月 12 日

栽植密度：30 × 15 cm 1 株 1 本手植え 1 系統当たり約 60 株供試

施肥、病害虫防除等の管理は慣行による

## 3. 結果の概要

### (前年までの結果)

温室内で野菜育苗用セルトレイを用いた晩播・密植栽培で M1 世代の採種を行い、そこから得られた M2 世代約 2 万個体の突然変異個体選抜を実施して、出穂・成熟期や稈長などが変化した 464 個体を選抜した。

(1) 突然変異と考えられた、早生化 47 系統(固定 29 系統)、晩生化 52 系統(同 27)、短稈化 93 系統(同 50)を選抜・採種した。この他脱粒性が難化した固定 2 系統及び粒大の変異した固定 3 系統とふ先色の発現が見られる分離 1 系統を選抜した。個体選抜供試数に対する突然変異発現率は 0.21～0.64%で放射線照射強度による差は見られなかった。また、早生化、短稈化の変異発現は過去の突然変異育種と同程度であるが、晩生化突然変異の発現は多い傾向であった(第 1 表)。

(2) 得られた早生化突然変異の内訳は「滋賀羽二重糯」より 2～10 日程度出穂が早まった‘中生熟期’が多く、それより早い‘早生熟期’の系統は少なかった。ただし 1 系統のみ、出穂が 40 日以上早まり、同時に茎葉が黄化した系統が得られた(第 2 表)。

(3) 晩生化変異では 2～5 日程度出穂が遅くなった‘中晩生熟期’の系統が最も多く、次いで 6～10 日程度遅くなった‘晩生熟期’の系統が多かった。さらに出穂が遅い系統は、X 線照射強度が 400Gy の後代系統のみであった(第 3 表)。

(4) 短稈化変異では‘滋賀羽二重糯’よりも 11～26 cm 程度稈長が短く、実用性が高いと考えられる系統が多く得られた(第 4 表)。その中には稈質も良好になった系統もあり、収量的な形質と併せてさらに選抜が必要である。

以上の系統選抜の結果、育種上また遺伝学研究上有効な突然変異系統が多数獲得された。これにより温室内密植栽培による少面積・省力採種は、簡便な突然変異獲得に有効な手法であると考えられた。今後、得られた固定突然変異系統は、変異形質集積のための有効な材料として交配に使用し、分離を含む系統は再選抜によって固定化を図る必要があると考えられた。

第1表 「滋賀羽二重糯」突然変異系統の得られた数と発生頻度

変異	X線 照射量	供試 系統数	変異発現系統数			遺伝率 (%)	個体選抜 供試数	突然変異 発現率(%)
			固定	分離	計			
早生化	300Gy	62	17	11	28	45	10356	0.27
	400Gy	19	12	7	19	100	8575	0.22
	計	81	29	18	47	58	18931	0.25
晩生化	300Gy	26	10	12	22	85	10356	0.21
	400Gy	30	17	13	30	100	8575	0.35
	計	56	27	25	52	93	18931	0.27
短稈化	300Gy	60	22	16	38	63	10356	0.37
	400Gy	89	28	27	55	62	8575	0.64
	計	149	50	43	93	62	18931	0.49
その他	300Gy	1	0	1	1	100	-	-
	400Gy	9	5	0	5	56	-	-
	計	10	5	1	6	60	-	-

注) 変異「その他」は脱粒性の難化やふ先色の発現など  
 遺伝率は供試系統数に対する目的形質の発現系統数(分離を含む)の頻度  
 個体選抜供試数はM2(2003年)であり、突然変異発現率は目的形質が発現した系統数の個体選抜供試数に対する頻度

第2表 得られた早生化突然変異の内訳(系統数)

X線 照射量	「滋賀羽二重糯」出穂期対比日数					
	-21以上	-16~-20	-11~-15	-6~-10	-2~-5	
固定 系統	300Gy	1	1	0	5	10
	400Gy	0	1	0	2	9
	計	1	2	0	7	19
分離 系統	300Gy	0	0	2	6	3
	400Gy	0	0	0	5	2
	計	0	0	2	11	5
総計	1	2	2	18	24	

注)「滋賀羽二重糯」の出穂期は8月19日

第3表 得られた晩生化突然変異の内訳(系統数)

X線 照射量	「滋賀羽二重糯」出穂期対比日数				
	+16~+20	+11~+15	+6~+10	+2~+5	
固定 系統	300Gy	0	0	3	7
	400Gy	2	2	5	8
	計	2	2	8	15
分離 系統	300Gy	0	0	1	11
	400Gy	1	0	4	8
	計	1	0	5	19
総計	3	2	13	34	

注)「滋賀羽二重糯」の出穂期は8月19日

第4表 得られた短稈化変異の内訳(系統数)

X線 照射量	「滋賀羽二重糯」との稈長の差(cm)						
	-31以上	-26~-30	-21~-25	-16~-20	-11~-15	-6~-10	
固定 系統	300Gy	0	1	4	4	5	8
	400Gy	0	4	3	2	8	11
	計	0	5	7	6	13	19
分離 系統	300Gy	0	0	1	5	5	5
	400Gy	2	1	3	8	7	6
	計	2	1	4	13	12	11
総計	2	6	11	19	25	30	

注)「滋賀羽二重糯」の稈長は平均95cm

- 4 今後の問題点と次年度以降の計画  
 突然変異形質集積のための交配と分離した系統の再選抜

-----  
研究課題：水稲における放射線突然変異遺伝子の集積と固定に関する研究  
短期間の効率的な突然変異の選抜・固定と遺伝的解析  
タパ<sup>o</sup>ク質含量が低減化した交配母本突然変異系統の選抜

担当部署：静岡県農業試験場 作物部、高冷地分場

担当者名：宮田祐二・石田義樹・嶋田昭史

研究期間：2004年度（2002～2006年）  
-----

## 1. 目的

複数の突然変異形質の簡易な複合・集積技術を開発するために、交配母本となりうる胚乳のタパ<sup>o</sup>ク質含量が低減化した突然変異系統を選抜・固定し、その細かい特性を把握して、今後の変異集積個体選抜技術開発の資料とする。

## 2. 方法

### (1) 供試作物・品種等

水稲 「ひとめぼれ」放射線突然変異4系統

HL500B110、HL500B146、HLGB114、HM297A

### (2) 試験場所

静岡農試三ヶ野圃場（磐田市三ヶ野） 高冷地分場（御殿場市御殿場）

### (3) 試験耕種概要等

HL500B110 三ヶ野圃場 移植：4月20日 6月3日 6月10日 6月18日

栽植密度：30×15cm 1株1本手植え

高冷地分場 移植：5月12日 栽植密度：30×15cm 1株3本手植え

HL500B146、HLGB114、HM297A

三ヶ野圃場 移植：6月3日 栽植密度：30×15cm 1株1本手植え

系統群（6系統）へ展開し、分離の有無と特性の把握

施肥、防除等の管理は慣行 タパ<sup>o</sup>ク質含量は玄米を粉碎後近赤外線分析計で計測

## 3. 結果の概要

### (前年までの結果)

30系統を供試し、施肥条件を変えてもタパ<sup>o</sup>ク質含量が安定して低い「HL500B110」を選抜した。また、タパ<sup>o</sup>ク質含量は低いが出穂期に分離が見られた「HL500B146」と、出穂期が遅い「HLGB114」と「HM297A」についてはさらに選抜と検討を進めれば、交配母本として有効と考えられた。

(1) 「HL500B110」は三ヶ野圃場における4作期及び高冷地分場における栽培で、「ひとめぼれ」よりも安定してタパ<sup>o</sup>ク質含量が低く（0.4～0.9ポ<sup>o</sup>イント）、タパ<sup>o</sup>ク質含量が低減化した突然変異系統であることが確認された。立毛外観ではやや穂数が多い点を除き、「ひとめぼれ」とよく似ており、子実はやや千粒重の値が小さい他は、形状・品質とも酷似していた（第1表）。

(2) 「HL500B110」の穂発芽性及び「いもち病」への抵抗性は「ひとめぼれ」と同じであった。食味官能試験及び炊飯米食味計による評価では、タパ<sup>o</sup>ク質含量の低減による「粘り値」の向上が確認された（第2表）。

(3) 前年度分離が確認された「HL500B146」からは、出穂期の異なる2系統が固定された（「HL500B146A」、「HL500B146B」）。どちらも「ひとめぼれ」よりタパ<sup>o</sup>ク質含量がやや低く、また外観では稈長が低かった。「HLGB114」は「ひとめぼれ」よりわずかに出穂・成熟期が遅い系統で、タパ<sup>o</sup>ク質含量が0.6ポ<sup>o</sup>イント低かった。その他の立毛・外観は「ひとめぼれ」と酷似していた。「HM-297A」は茎葉が黄化した系統で、出穂後異常な枯れ上がりが発生し、本年度は子実のタパ<sup>o</sup>ク質含量が「ひとめぼれ」より高い値であった。

以上の結果、「HL500B110」は異なる栽培環境下でも安定してタパ<sup>o</sup>ク質含量が低減化していることが認められ、低タパ<sup>o</sup>ク交配母本として有効であることが確認された。また、「HL500B146A,B」及び「HLGB114」もタパ<sup>o</sup>ク質含量が低減化し、同時に出穂期や稈長等も変異した系統として、交配母本等に利用が可能と考えられた。一方「HM-297」は栽培環境によってタパ<sup>o</sup>ク質含量が高まる場合があり、低タパ<sup>o</sup>ク質含量の交配母本には適さないと判断された。

第1表 HL500B110の諸特性とタパ<sup>o</sup>ク質含量

試験 場所	品種・ 系統名	植付期 (月・日)	出穂期 (月・日)	成熟期 (月・日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	子実重 (kg/a)	千粒重 (g)	L重 (g)	玄米外 観品質	タパ <sup>o</sup> ク質 含量(%)
三ヶ 野圃 場	HL500B110	4.20	7.12	8.17	82	20.4	406	54.4	21.5	792	6.0	5.9
	ひとめぼれ		7.12	8.17	79	20.6	377	59.2	22.2	790	5.5	6.4
	HL500B110	6.03	8.02	9.08	83	20.3	359	44.5	20.7	778	6.5	6.1
	ひとめぼれ		8.02	9.08	79	19.9	318	49.8	21.8	777	6.0	6.5
	HL500B110	6.10	8.08	9.16	82	20.4	363	61.1	20.4	797	6.0	6.5
	ひとめぼれ		8.08	9.16	80	20.5	336	51.9	21.8	804	6.0	7.1
	HL500B110	6.18	8.13	9.22	87	22.4	362	66.0	22.2	838	5.5	8.2
	ひとめぼれ		8.13	9.22	84	22.6	296	64.0	23.5	834	5.0	9.1
高冷地 分場	HL500B110	5.14	7.30	9.14	83	20.0	382	49.2	22.6	814	5.5	7.1
	ひとめぼれ		7.30	9.14	85	21.1	353	61.7	23.8	810	4.5	7.6

注) 玄米外観品質は1(上上)~9(下下)の9段階評価

第2表 HL500B110の諸障害抵抗性と食味

品種・ 系統名	穂発芽 性	葉いもち 抵抗性	穂いもち 抵抗性	食味官能試験「粘り値」		炊飯米食味計	
				三ヶ野圃場	高冷地分場	粘り	外観
HL500B110	難	弱	弱	0.25	0.38	9.3	8.8
ひとめぼれ	難	弱	弱	0.00	0.00	8.9	8.5

注) 食味官能試験は「ひとめぼれ」を基準とし、-3~+3で評価した。

炊飯米食味計(S社)の値は10点満点

第3表 低タパ<sup>o</sup>ク化の可能性が考えられた4系統の諸特性

品種・ 系統名	出穂期 (月・日)	成熟期 (月・日)	稈長 (cm)	穂長 (cm)	穂数 (本/m <sup>2</sup> )	子実重 (kg/a)	千粒重 (g)	L重 (g)	玄米外 観品質	タパ <sup>o</sup> ク質 含量(%)
HL500B146A	8.14	9.22	72	21.4	284	42.5	22.3	807	5.5	6.6
HL500B146B	8.22	10.02	76	20.5	313	43.3	21.9	807	5.0	6.7
HLGB114	8.05	9.10	82	20.1	298	50.7	22.8	771	6.5	6.5
HM-297A	8.05	8.31	74	21.6	264	27.1	19.2	771	6.5	7.5
ひとめぼれ	8.02	9.08	81	20.5	406	66.2	22.1	779	5.8	7.1

注) 玄米外観品質は1(上上)~9(下下)の9段階評価

#### 4 今後の問題点と次年度以降の計画

タパ<sup>o</sup>ク質含量低減化系統を用いた変異形質集積の検討

-----  
研究課題：水稻における放射線突然変異遺伝子の集積と固定に関する研究  
突然変異の複合・集積技術の開発  
突然変異系統間の交配と雑種の獲得

担当部署：静岡県農業試験場 作物部

担当者名：宮田祐二・石田義樹

研究期間：2004 年度（2002～2006 年）  
-----

## 1. 目的

複数の突然変異形質の簡易な複合・集積技術を開発するために、現在保有し特性を確認した‘ひとめぼれ’及び‘山田錦’の異なる突然変異系統間で交配を行い、その雑種を得る。

## 2. 方法

### (1) 供試交配母本

‘ひとめぼれ’突然変異 12 系統

早生化突然変異 3 系統（HM-2, HM-22, HM-88）

晩生化突然変異 4 系統（HM-104B, HM-112A, HM-115, HM-120B）

短稈化突然変異 4 系統（HM-167, HM-186A, HM-208, HM-211）

タンパク質含量低減化突然変異 1 系統（HL500B110）

‘山田錦’突然変異 6 系統

早生化突然変異 2 系統（YM-172, YM-238）

短稈化突然変異 4 系統（YM-295, YM-310, YM-344, YM-418）

### (2) 試験場所 磐田市 三ヶ野 静岡農試三ヶ野圃場

### (3) 試験方法

交配母本は移植期を 4 段階移動させ出穂時期を調節・同調させた。

移植期：6/3、6/10、6/18、7/5

交配前日に母本株を株上げし、暗室内に静置した。

交配は温室内で温湯除雄法を用いて実施した（交配日：8/5, 8/18, 8/26, 8/27）

## 3. 結果の概要

### (前年までの結果)

‘ひとめぼれ’突然変異間 19 組合せ‘山田錦’突然変異間 18 組合せについて交配を実施し、それぞれ 13 組合せずつから F1 を獲得し、温室内密植世代促進栽培によって F2 世代種子を採種した。

(1) ‘ひとめぼれ’突然変異については、早生化間の 3 組合せ、早生化と短稈化の 1 組合せ、晩生化と短稈化の 7 組合せ、タンパク質含量低減化と早生化の 2 組合せ、タンパク質含量低減化と晩生化の 2 組合せ及びタンパク質含量低減化と短稈化の 4 組合せの合計 19 組合せについて交配を実施した(第 1 表)。晩生化×短稈化の 2 組合せ(HM-115×HM-186A, HM-167)、タンパク質含量低減化×晩生化の 2 組合せ(HL500B110×HM-112A, HM-104B)、タンパク質含量低減化×短稈化の 1 組合せ(HL500B110×HM-167)は雑種の着粒が劣った。これらは、交配時の温度など技術的な要因が原因と考えられた。以上の 5 組合せを除いた 14 組合せについては、必要な F1 種子量が確保できた。

(2) ‘山田錦’突然変異については、短稈・穂芽難化と極早生熟期の早生化の 2 組合せ、同じ短稈化ながらその他に脱粒性の難化や穂芽性の難化などを併せ持った系統間の 3 組合せ、合計 5 組合せについて交配を実施した(第 2 表)。短稈化どうしの 1 組合せ(YM-418×YM-344)で着粒が得られなかった。それ以外の 4 組合せについては必要な F1 種子量が確保できた。

以上の交配の結果、合計 18 組合せについて、突然変異形質の複合・集積が可能な雑種と思われる F1 種子が確保され、温室内に置いて F1 世代の少面積世代促進栽培を実施した。なお、着粒率が低い組合せも同様に世代促進栽培を行ったが、自殖となった可能性もあることから今後の観察で注意が必要である。

第1表 「ひとめぼれ」突然変異系統間の交配結果

組合せの種類	番号	(雌性親)	(花粉親)	交配日	交配 穂数	交配 花数	着粒 数	着粒 率(%)	備考
早生化 × 早生化	1	HM-88	HM-2	8/5	4	38	29	76	
	2	HM-88	HM-22	8/5	4	34	29	85	
	3	HM-22	HM-2	8/5	3	51	41	80	
早生化×短稈化	4	HM-22	HM-211	8/5	2	48	42	88	: 短稈、 : 極短稈
晩生化 × 短稈化	5	HM-115	HM-208	8/27	4	51	34	67	: 中晩生
	6	HM-115	HM-211	8/27	3	33	28	85	: 中晩生
	7	HM-115	HM-186A	8/27	6	41	5	12	: 中晩生
	8	HM-115	HM-167	8/27	6	57	2	4	: 中晩生
	9	HM-120B	HM-167	8/27	4	48	15	31	: 晩生
	10	HM-120B	HM-186A	8/27	4	55	37	67	: 晩生
カバク質含量低減化 × 早生化	12	HL500B110	HM-88	8/5	5	85	33	39	
	13	HL500B110	HM-22	8/5	4	62	7	11	
カバク質含量低減化 × 晩生化	14	HL500B110	HM-112A	8/18	4	52	4	8	
	15	HL500B110	HM-104B	8/18	5	56	3	5	
カバク質含量低減化 × 短稈化	16	HL500B110	HM-228	8/5	4	92	57	62	
	17	HL500B110	HM-211	8/5	5	62	15	24	
	18	HL500B110	HM-167	8/5	5	90	5	6	
	19	HL500B110	HM-186	8/5	4	67	14	21	

第2表 「山田錦」突然変異系統間の交配結果

組合せの種類	番号	(雌性親)	(花粉親)	交配日	交配 穂数	交配 花数	着粒 数	着粒 率(%)	備考
短稈化 × 早生化	1	YM-310	YM-172	8/26	5	75	48	64	: 大粒・穂発芽難化 : 極早生
	2	YM-310	YM-238	8/26	5	62	41	66	: 大粒・穂発芽難化 : 極早生
短稈化+他形質 × 短稈化+他形質	3	YM-418	YM-344	8/26	4	33	0	0	: 止葉直立・短穂 : 極大稈
	4	YM-418	YM-310	8/26	5	38	35	92	: 止葉直立・短穂 : 大粒・穂発芽難化
	5	YM-310	YM-295	8/26	3	34	17	50	: 大粒・穂発芽性難化 : 低カバク化

- 4 今後の問題点と次年度以降の計画  
 F1世代の省力世代促進栽培とF2種子の採種  
 F2世代における分離特性の把握と選抜

-----  
研究課題：水稻における放射線突然変異遺伝子の集積と固定に関する研究

突然変異の複合・集積技術の開発

「ひとめぼれ」変異集積個体の選抜

担当部署：静岡県農業試験場 作物部

担当者名：宮田祐二・石田義樹

研究期間：2004年度（2002～2006年）  
-----

## 1. 目的

複数の突然変異形質の簡易な複合・集積技術を開発するために、「ひとめぼれ」の異なる突然変異系統間で交配を行なった後代（F2）において、複数形質が集積したと考えられる個体を、形質の発現・分離特性から選抜する。

## 2. 方法

(1) 試験場所 磐田市 三ヶ野 静岡農  
試三ヶ野圃場

(2) 供試材料

「ひとめぼれ」突然変異間交配 8 組合せ  
の F2 世代及び F1 (3 組合せのみ) 交配  
親突然変異 10 系統 各 32 個体  
基品種 「ひとめぼれ」 32 個体

(3) 試験方法

基品種、交配親、F1 を系統栽培に展  
開し、系統として出穂期を決定し、稈  
長を個体ごとに調査した。

F2 世代は個体ごとに出穂期及び稈長  
等の形質を調査した。

(4) 耕種概要 移植 6 月 3 日 施肥等栽培管理は慣行

## 3. 結果の概要

(前年までの結果)

「ひとめぼれ」突然変異間の交配を実施し、得られた F1 を密植栽培で世代促進し、F2 用種子粉を得た。

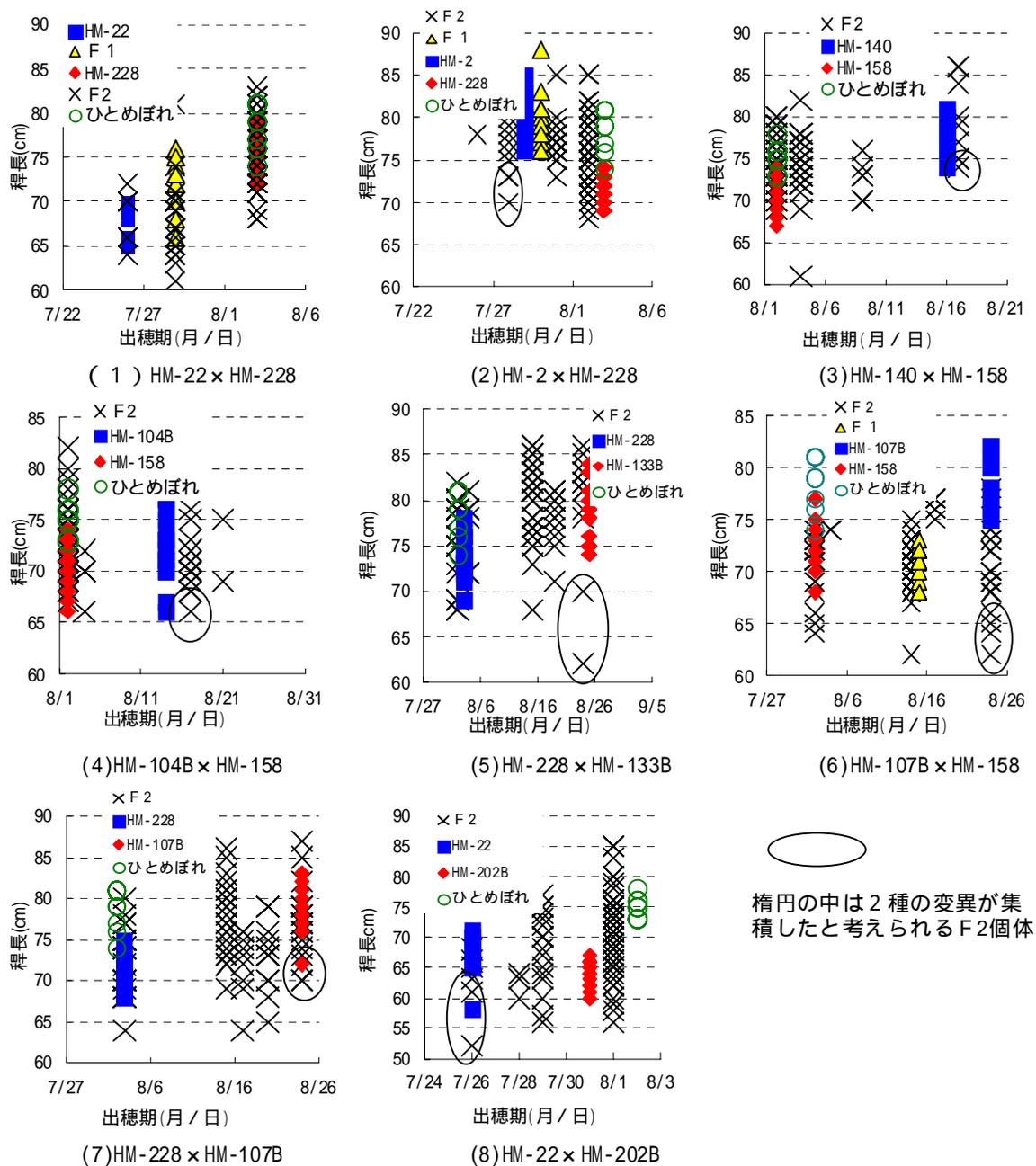
(1) 早生化と短稈化変異の複合を目指した 2 組合せ ( 1,2) の F1 及び F2 個体の分離状況から、早生化因子がヘテロとなった個体の出穂期は、両親の間であった。短稈化因子がヘテロとなった個体の稈長の傾向は交配組合せで異なり、 1 では両親の間で 2 では「ひとめぼれ」と同程度からやや長かった ( 第 1 図(1)(2) )。F2 分離状況から 2 では早生・短稈と推測される 4 個体が選抜できたが、 1 では判然としなかった ( 第 1 表 )。

(2) 晩生化と短稈化変異の複合を目指した 5 組合せ ( 3~7) では、晩生化因子がヘテロの場合 4 組合せ ( 3,5~7) で出穂期が両親の間となり、 1 組合せ ( 4) で基品種の「ひとめぼれ」と同時期であった。短稈化因子がヘテロの場合の稈長は、交配した短稈化母本によって異なる傾向で、「HM-158」を用いた組合せ ( 3,4,6) では稈長が「ひとめぼれ」並からやや短く、「HM-228」を用いた組合せ ( 5,7) では「ひとめぼれ」より長いと推測された ( 第 1 図(3)~(7) )。F2 分離状況から、晩生・短稈と推測される個体を、それぞれ 2~6 個体選抜した ( 第 1 表 )。

(3) 早生化と糯化変異の複合を目指した 1 組合せ ( 8) の F2 個体の分離状況から、早生化因子がヘテロとなった場合は出穂期が両親の間になると推測された ( 第 1 図(8) )。早生化変異「HM-22」と同じ出穂期の F2 個体の中から、胚乳が糯質となった 6 個体を選抜した ( 第 1 表 )。これらは「HM-22」よりもやや短稈であった。

以上の結果、8 組合せ中 7 組合せ ( 2~8) から変異が集積したと推測される個体を選抜した。

1 については、F2 個体の中で早生短稈個体を 4 個体仮選抜したが、早生化と短稈化に關与する遺伝子が連鎖している可能性も考えられ、次年度検討を進める ( 第 1 表 )。



第1図 「ひとめぼれ」突然変異交配間F2世代の分離状況

第1表 F2選抜個体数とその特徴

組合せ	選抜目標形質	F2 供試数	選抜個体数	選抜個体の特徴
1 HM-22 × HM-228	早生・短稈化	96	(4)	出穂期7/27以前、稈長66cm以下
2 HM-2 × HM-228	早生・短稈化	95	4	出穂期7/28以前、稈長75cm以下
3 HM-140 × HM-158	晩生・短稈化	91	3	出穂期8/17、稈長75cm以下
4 HM-104B × HM-158	晩生・短稈化	93	6	出穂期8/14以降、稈長69cm以下
5 HM-228 × HM-133B	晩生・短稈化	96	2	出穂期8/23以降、稈長70cm以下
6 HM-107B × HM-158	晩生・短稈化	96	6	出穂期8/25、稈長70cm以下
7 HM-228 × HM-107B	晩生・短稈化	96	6	出穂期8/24、稈長74cm以下
8 HM-22 × HM-202B	早生・糯化	93	6	出穂期7/28以前、胚乳が糯質

4 今後の問題点と次年度以降の計画

選抜個体を系統に展開し、特性と純度を検定して変異の集積を確認する。

-----  
 研究課題：水稻における放射線突然変異遺伝子の集積と固定に関する研究

突然変異の複合・集積技術の開発

「山田錦」変異集積個体の選抜

担当部署：静岡県農業試験場 作物部

担当者名：宮田祐二・石田義樹

研究期間：2004年度（2002～2006年）  
 -----

### 1. 目的

複数の突然変異形質の簡易な複合・集積技術を開発するために、「山田錦」の異なる突然変異系統間で交配を行なった後代（F2）において、複数形質が集積したと考えられる個体を、形質の発現・分離特性から選抜する。

### 2. 方法

(1) 試験場所 磐田市 三ヶ野 静岡農試三ヶ野圃場

(2) 供試材料

「山田錦」突然変異交配7組合せの

F2世代及びF1(5組合せのみ)

交配親突然変異6系統 各31個体

基品種「山田錦」 31個体

(3) 試験方法

基品種、交配親、F1を系統栽培に展開し、系統として出穂期を調査し稈長等の形質を個体ごとに調査した。

F2世代は個体ごとに、出穂期、稈長及び脱粒性等の形質を調査した。

(4) 耕種概要

移植 6月3日 1株1本植

施肥等栽培管理は慣行

組合せ	組合せの特性	F2 供試数	F1 供試数
1 YM-371 × YM-170	短稈・脱粒性難化 × 早生化	59	12
2 YM-310 × YM-170	短稈・大粒・穂発芽性難化 × 早生化	96	24
3 YM-170 × YM-295	早生化 × 短稈・低カバク質化	95	0
4 YM-371 × YM-37	短稈・脱粒性難化 × 早生化	96	29
5 YM-371 × YM-310	短稈・脱粒性難化 × 短稈・大粒・穂発芽性難化	93	31
6 YM-310 × YM-37	短稈・大粒・穂発芽性難化 × 早生化	93	23
7 YM-418 × YM-371	短稈・短穂・止葉直立化 × 短稈・脱粒性難化	93	0

### 3. 結果の概要

(前年までの結果)

「山田錦」突然変異間の交配を実施し、得られたF1を密植栽培で世代促進し、F2用種子粉を得た。

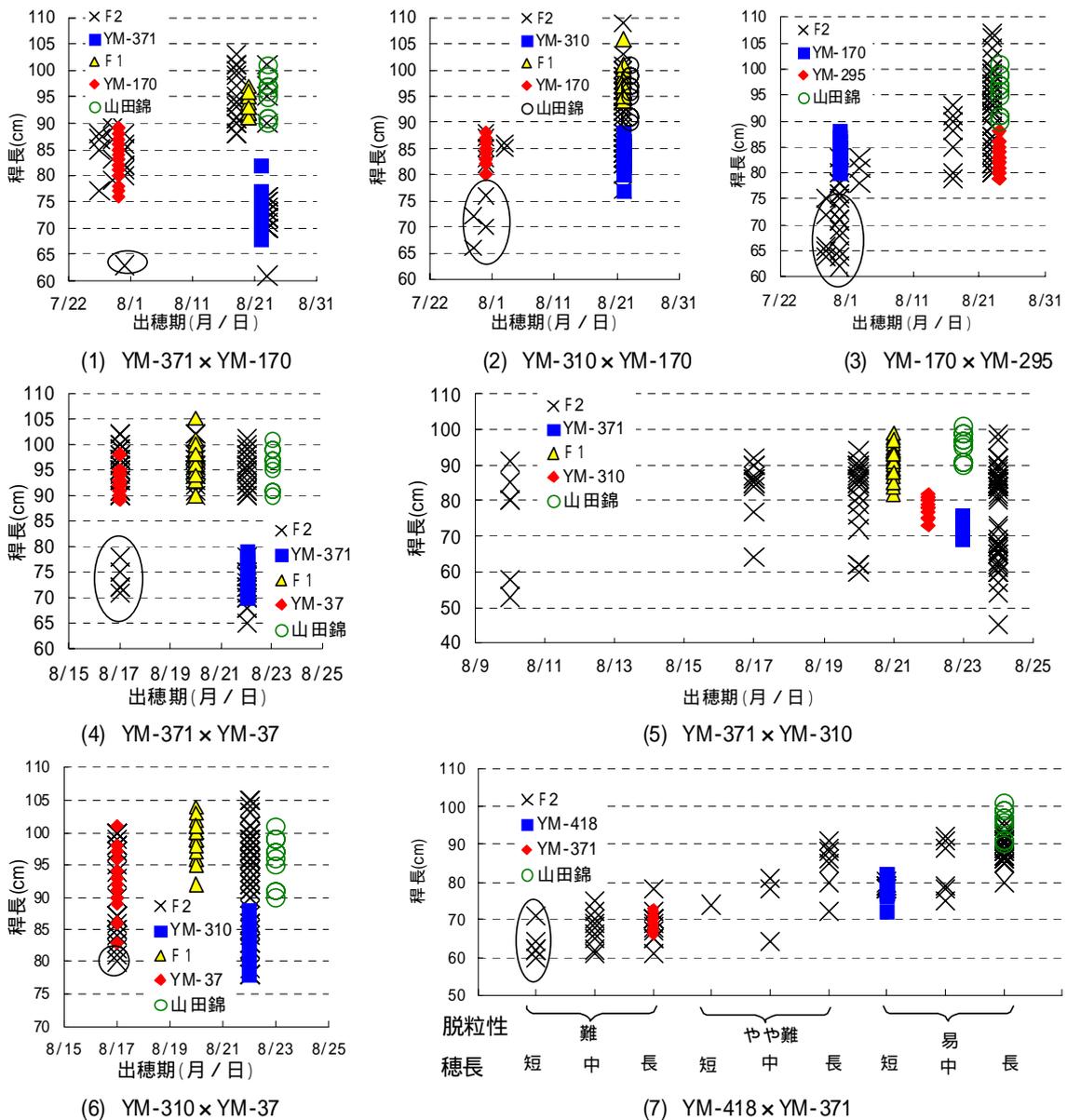
(1) 早生化と短稈化変異の複合を目指した5組合せ(1～4,6)の中で、早生化因子がヘテロとなった個体の出穂期は、交配に用いた早生化母本によって異なる傾向を示した。「YM-170」を交配親に用いた後代(1～3)では、出穂期が基品種(「山田錦」)及び短稈化系統と同じか近い日となった。「YM-37」を交配親に用いた組合せ(4,6)は両親の中間の出穂期であった。短稈化因子がヘテロとなった個体の稈長は5組合せとも基品種と同等からわずかに長い程度であった(第1図(1)～(4)、(6))。F2分離状況から早生・短稈と推測される個体を1～15個体選抜した(第1表)。ただし1では交配に用いた両親及びF1と酷似したF2個体が多く、「YM-371」の短稈化と「YM-170」の早生化に關与する遺伝子が連鎖している可能性が考えられた。

(2) 短稈・脱粒難の「YM-371」と短稈・大粒で穂発芽性が難化した「YM-310」を交配したF1は出穂期が両親及び基品種より早く、稈長は両親より長く基品種並みからわずかに短い特性を示した。また、F2ではF1よりさらに出穂期が早い個体が17個体確認され、稈長も分離した(第1図(5))。突然変異が複合した個体を選抜するため、F2全個体の中から脱粒性が「難」の35個体を1次選抜し、穂発芽検定を実施して、穂発芽性が「難」の6個体を選抜した(第1表 詳細データ略)。

(3) 短稈・短穂で止葉が直立する「YM-418」と短稈・脱粒難の「YM-371」を交配した後代のF2は、出穂期が全て基品種及び両交配親と同日で、稈長、脱粒性及び穂長が分離した。止葉の立ち程度は個体規模では判断が難しかった。そこで脱粒性と穂長の2形質に注目し、脱粒性難・短穂長の5個体を選抜した。選抜個体は両交配親よりも稈長が短い傾向であった(第1図(7)、第1表)。

以上の結果、供試した7組合せから変異が集積したと推測されるF2個体を選抜した(第1表)。

5については交配親の特性から予想されない早生化個体が確認されたため、交配親の「YM-371」と「YM-310」を基品種に戻し交配し、後代検定の実施で遺伝的な解析を進める必要が考えられた。



第1図 「山田錦」突然変異交配間F2世代の分離状況  
 注) 楕円の中は2種の変異が集積したと考えられるF2個体

第1表 F2選抜個体数とその特徴

組合せ	選抜目標形質	F2 供試数	選抜 個体数	選抜個体の特徴
1 YM-371 × YM-170	早生・短稈・脱粒性難	59	1	出穂期7/30、稈長63cm
2 YM-310 × YM-170	早生・短稈・穂発芽性難	96	4	出穂期7/31以前、稈長76cm以下
3 YM-170 × YM-295	早生・短稈(低タパク質)	95	15	出穂期7/31以前、稈長75cm以下
4 YM-371 × YM-37	早生・短稈・脱粒性難	96	5	出穂期8/17、稈長78cm以下
5 YM-371 × YM-310	短稈・脱粒性難・穂発芽性難	93	6	出穂期8/20、脱粒性難・穂発芽性難: 2個体 出穂期8/24、脱粒性難・穂発芽性難: 4個体
6 YM-310 × YM-37	早生・短稈・穂発芽性難	93	4	出穂期8/17、稈長83cm以下
7 YM-418 × YM-371	短稈・脱粒性難・止葉直立	93	5	脱粒性難、短穂長

4 今後の問題点と次年度以降の計画  
 選抜個体を系統に展開し、特性と純度を検定して変異の集積を確認する。

-----  
 研究課題：放射線を利用した本県特産野菜の新しい育種法の開発研究  
           イオンビームを利用した環境ストレス耐性メロンの作出に関する研究  
           イオンビーム照射系統の育苗選抜時における温度処理に適する培土の種類および培土量  
           の検討

担当部署：静岡農試・生物工学部  
 担当者名：前島慎一郎、山田栄成  
 協力分担：原研高崎研究所、静岡県温室農業協同組合  
 研究期間：2002～2006年度  
 -----

### 1. 目的

イオンビームを利用した突然変異育種法により耐低温性等の新たな特性を付与した個体を育成する。ここでは主に、低・高温時の生育・果実肥大特性に優れた突然変異個体を選抜することを目的に、育苗時の低・高温選抜手法における処理培地を検討する。

### 2. 方法

- (1)試験場所 場内 A4 温室及び生物工学研究棟  
 (2)供試材料 ‘アールス・フェボリット 県温冬系 2 号’  
 (3)試験構成

要 因	水	準
培土の種類	ナース豊土、パーミキュライト、パーライト	
培土量	16 穴(140ml)、25 穴(96ml)、49 穴(28ml)	
処理温度	低温(12.5℃)、高温(37.5℃)、対照(25.0℃)	

合計 27 区

- (4)試験規模 16 穴区...1 区 6 株 2 反復、25 穴区...1 区 10 株 2 反復、49 穴区...1 区 7 株 3 反復  
 (5)試験方法 2004 年 8 月 6 日に A4 温室にて鉢上げし、9 日から 19 日まで生物工学棟インキュベーター内において、8 時間日長で終日一定の温度処理を実施した。パーミキュライト区およびパーライト区については、入庫 4 日後の 8 月 13 日に大塚ハウス 1 号液肥(N:P:K=10:8:27)を窒素成分量で 1 株当り 16 穴区 90mg、25 穴区 60mg、49 穴区 30mg を施用した。処理開始・終了時の健全株率と、終了時の健全株の生育状況を調査した。

### 3. 結果の概要

(前年度までの結果)夏季の高温時の作型について、M<sub>2</sub> 世代における低温処理発芽時の根長による選抜方法の有効性は認められず、わずかに果実形質が劣る傾向がみられた。

- (1) 温度処理開始時の健全株率は培土量が少ないほど小さく、特にパーライト区で極端に低かった。パーライト区では、根が培土内に伸長できず浮苗のような状態になったことが、また、49 穴区では培土の乾湿の差が大きかったことが健全株率低下の要因であると考えられる(第 1 表)。  
 (2) 終了時の健全株率はナース豊土区では入庫時とほとんど差は認められなかったが、パーミキュライトとパーライトでは、処理開始時に比べて各温度区ともに低下した。特に低温区(12.5℃)において生育不良株が増加する傾向にあった。また、パーライトの低温区ではどの培土量とも全ての株が生育不良となり、選抜処理の培地として適していなかった(第 1 表)。  
 (3) 終了時の子葉長は、ナース豊土 25 穴区で各温度処理区間の生育差が認められた。(第 2 表)。  
 (4) 同様に第 1 本葉長ではナース豊土 25、49 穴区、パーミキュライト 25 穴区で各温度処理区間の生育差が認められた。(第 2 表)。  
 (5) 胚軸長は、ナース豊土 16、49 穴区、パーミキュライト 25 穴区で、低温処理とその他との間に生育差が認められた(第 3 表)。

以上より、培土ではナース豊土またはパーミキュライト、培土量では 16 穴または 25 穴が適当であると判断された。今後は、低温区および高温区の最適な処理温度の検討を行う。

第1表 温度処理開始・終了時における健全株率(%)

培土の種類	培土量	処理開始時 <sup>1)</sup>	処理終了時 <sup>2)</sup>		
			12.5	25.0	37.5
ナース豊土	16穴	94.4	91.7	100.0	91.7
	25穴	98.3	95.0	100.0	100.0
	49穴	94.0	81.0	100.0	96.4
バーミキュライト	16穴	97.2	41.7	66.7	100.0
	25穴	83.3	40.0	75.0	65.0
	49穴	77.8	4.8	47.6	85.7
パーライト	16穴	63.9	0.0	33.3	66.7
	25穴	40.0	0.0	20.0	25.0
	49穴	17.5	0.0	4.8	23.8

1) 2004年8月9日調査：3処理区の平均値

2) 2004年8月19日調査

第2表 温度処理終了時の葉長<sup>1)</sup>

培土の種類	処理温度	子葉長(mm)			第1本葉長(mm)		
		16穴	25穴	49穴	16穴	25穴	49穴
ナース豊土	12.5	24.0a	24.8bc	23.5c	6.6ab	4.1ab	3.1a
	25.0	37.2d	35.1f	28.2d	35.7c	37.6e	18.1c
	37.5	25.1a	27.2cd	21.8c	27.5c	22.9cd	10.4b
バーミキュライト	12.5	22.2a	22.4ab	21.7c	2.6a	2.6a	2.1a
	25.0	33.3cd	30.7e	28.7d	24.6c	26.0d	20.9c
	37.5	30.1bc	29.0de	22.0bc	22.8bc	18.6c	4.0ab
パーライト	12.5	22.0a	19.7a	17.0ab	2.0a	2.0ab	1.0a
	25.0	25.6ab	22.4ab	14.5a	14.5abc	10.0b	7.0ab
	37.5	- <sup>2)</sup>					
分散分析 <sup>3)</sup>		**	**	**	**	**	**

1) 2004年8月19日に健全株について調査

2) 健全株なし

3) \*\*, 1%水準で有意差あり

4) 同符号間は Tukey の検定 1%水準で有意差なし

第3表 温度処理終了時の胚軸長<sup>1)</sup>

培土の種類	処理温度	胚軸長(mm)		
		16穴	25穴	49穴
ナース豊土	12.5	26.6c	24.7b	12.1ab
	25.0	35.4d	35.0c	24.0cd
	37.5	37.1d	29.0bc	23.1cd
バーミキュライト	12.5	22.3bc	17.5a	20.2c
	25.0	28.0cd	28.6b	28.3d
	37.5	32.2cd	26.6b	24.0bcd
パーライト	12.5	12.6a	10.8a	7.4a
	25.0	14.8ab	12.0a	4.0a
	37.5	- <sup>2)</sup>	- <sup>2)</sup>	- <sup>2)</sup>
分散分析 <sup>3)</sup>		**	**	**

1) 2004年8月19日に健全株について調査

2) 健全株なし

3) \*\*, 1%水準で有意差あり

4) 同符号間は Tukey の検定 1%水準で有意差なし

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画 処理温度・期間の検討および処理培地の決定

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産野菜の新しい育種法の開発研究  
イオンビームを利用した環境ストレス耐性メロンの作出に関する研究  
秋作における照射個体  $M_2 \cdot M_3 \cdot M_4$  世代の優良個体の選抜

担当部署：静岡農試・生物工学部、園芸部  
担当者名：前島慎一郎、大須賀隆司、山田栄成  
協力分担：原研高崎研究所、静岡県温室農業協同組合  
研究期間：2002～2006年度  
-----

### 1. 目的

温室メロンでは、高品質かつ低コストで栽培できる品種・系統の育成が望まれている。このため、イオンビームを利用した突然変異育種法により耐低温性等の新たな特性を付与した個体を育成する。ここでは、主として春秋作用の優良個体として選抜した系統の  $M_4 \cdot M_3$  世代における特性を確認し、優良個体の選抜を行う。

### 2. 方法

- (1) 試験場所 場内温室 (A-5)  
(2) 供試系統 ‘県温冬系2号’にイオンビーム ( $^{12}C^{5+}$ ) を照射し、自殖、採種した  $M_4 \cdot M_3 \cdot M_2$  各系統  
(3) 試験構成 無照射 (対照) 区: 15 個体  
 $M_2$ : イオンビーム 20Gy 照射後代 10 系統、40Gy 照射後代 10 系統 計 20 系統  
 $M_3$ : イオンビーム 20Gy 照射後代 17 系統、40Gy 照射後代 5 系統 計 22 系統  
 $M_4$ : イオンビーム 20Gy 照射後代 9 系統、40Gy 照射後代 8 系統、  
50Gy 照射後代、60Gy 照射後代 各 1 系統 計 19 系統  
(4) 試験規模 無照射: 温室内各列 3 個体、 $M_2$ : 1 系統 1 個体  $M_3$ : 1 系統 3 個体、 $M_4$ : 1 系統 4 個体  
(5) 調査方法 2004 年 8 月 5 日に催芽し、翌日任意の 3 粒の種子を 2.5 号鉢に鉢上げした。定植は 8 月 24 日に行い、鉢上げから収穫終了までの栽培管理は、農試慣行で行った。なお、最低夜温は 23 前後で管理した。交配から約 50 日で収穫し、果重が 1kg あたりに補正した固有振動数 (固有振動値: 卓上型メロン熟度計 MELOC) が 240Hz 未満に達した果実について、その形質を調査した。

### 3. 結果の概要

- (前年度までの結果)イオンビーム照射  $M_2$  世代の果実形質は親系統よりも劣る形質が多かった。この中から、果実肥大性の高いものを中心に 40 個体、糖度・肉質等、果実形質に優れたものを中心に 34 個体、ネット指数等、外観が優れたものを中心に 24 個体の計 98 個体を  $M_3$  世代優良個体として選抜した。
- (1) 今年度 7 月までに、新たに  $M_4$  世代として 44 系統、 $M_3$  世代として 131 系統を選抜した (第 1 表)。
- (2) 各供試系統から、果実の肥大性、あるいは、果実の内容品質や外観の優れた系統を選抜した。 $M_4$  世代は、20Gy 区から 4 系統、40Gy 区から 1 系統を選抜したが、50Gy 区、60Gy 区には優良個体なかった。また、 $M_3$  世代は 20Gy、40Gy 区それぞれ 3 系統を選抜した。 $M_2$  世代からは、40Gy 区 2 系統を選抜した (第 2 表)。
- (3) 選抜系統の特徴的な個体として、 $M_4$  世代では ‘00D322’、‘00D395-C’ (ともに 40Gy) が果実の肥大性が優れており、‘00F590-1’ (20Gy) ‘00D368-L2’ (40Gy) は肉厚および外観に優れていた。また、 $M_3$  世代では ‘00F560-L’、‘00F570’ (ともに 20Gy) が肉厚および外観に優れていた。 $M_2$  世代からは ‘00E504’、‘00E509’ (ともに 40Gy) を有望系統として選抜した (第 3 表)。

以上より、果実肥大期に低日照になりやすい秋作で有望な系統として、 $M_4$  世代では果実肥大性の高いものを 2 系統、主に果実外観形質に優れたもの 4 系統を選抜した。また、 $M_3$  世代では主に外観形質に優れたものを 5 系統を優良系統として選抜した。

第1表 温室メロンイオンビーム照射世代の選抜経過<sup>1)</sup>

世代	選抜年	作期	春秋作向け	夏作向け	冬作向け	世代計
M <sub>3</sub>	2002	冬	16	7	15	38
		春夏	4	13	13	30
	2003	夏秋	9	9	12	30
		秋	7	6	4	17
		冬	3	6	7	16
計		40	41	52	131	
M <sub>4</sub>	2003	秋	14	12	4	30
		冬	5	2	7	14
計		19	14	11	44	

1) 2004年7月現在

第2表 温室メロンイオンビーム照射世代の選抜結果(選抜系統数/供試系統数)<sup>1)</sup>

照射量 Gy	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>
20	0/10	4/17	3/9
40	2/10	1/5	3/8
50	-	-	0/1
60	-	-	0/1
選抜率(%)	10.0	22.7	31.6

1) 系統当り供試個体数: M<sub>2</sub> 1個体、M<sub>3</sub> 3個体、M<sub>4</sub> 3個体

第3表 温室メロンイオンビーム照射世代選抜系統の主特性

世代	系統名 (照射量 Gy)	果重 (g)	肉厚指数 <sup>2)</sup> (%)	糖度 (Brix%)	ネット 指数 <sup>3)</sup>	主な選抜 理由
M <sub>2</sub>	00E504(40)	1,408	52.1	16.6	2.8	肥大・食味
	00E509(40)	1,368	60.6	16.7	3.5	肉厚・食味
	供試系統平均 <sup>1)</sup>	1,311 ± 165	54.8 ± 3.5	14.5 ± 1.4	3.0 ± 0.5	-
M <sub>3</sub> <sup>1)</sup>	00F560-L(20)	1,328 ± 204	60.6 ± 4.7	14.2 ± 0.7	3.4 ± 0.3	肉厚・外観
	00F566-C(20)	1,329 ± 173	53.6 ± 5.0	14.3 ± 0.6	3.4 ± 0.4	外観
	00F570(20)	1,306 ± 166	58.3 ± 2.9	14.4 ± 0.4	3.5 ± 0.5	肉厚・外観
	00F590(20)	1,379 ± 96	55.1 ± 3.1	13.9 ± 0.8	3.7 ± 0.4	外観
	00E456(40)	1,395 ± 85	56.4 ± 0.9	15.7 ± 1.2	3.5 ± 0.5	食味・外観
	供試系統平均	1,266 ± 157	56.1 ± 4.1	14.6 ± 0.9	3.2 ± 0.5	-
M <sub>4</sub> <sup>1)</sup>	00F590-1(20)	1,334 ± 121	57.3 ± 1.2	15.0 ± 0.8	3.5 ± 0.2	肉厚・外観
	00F590-4B(20)	1,345 ± 51	56.8 ± 1.7	14.6 ± 0.7	3.8 ± 0.3	外観
	00F599-B(20)	1,337 ± 85	54.2 ± 3.3	14.8 ± 1.1	3.3 ± 0.5	外観
	00D322(40)	1,537 ± 150	54.8 ± 2.1	15.0 ± 0.5	2.8 ± 0.0	肥大
	00D368-L2(40)	1,322 ± 144	57.6 ± 3.2	14.7 ± 0.3	3.2 ± 0.3	肉厚・外観
	00D395-C(40)	1,488 ± 92	56.4 ± 3.2	15.7 ± 1.0	2.8 ± 0.3	肥大
	供試系統平均	1,353 ± 125	55.4 ± 3.3	14.6 ± 0.9	3.0 ± 0.6	-
対照 <sup>1)</sup>	無照射	1,363 ± 132	54.6 ± 2.8	14.1 ± 1.0	3.0 ± 0.5	-

1) 各供試個体の平均値 ± 標準誤差

2) 肉厚指数 = (果径 - 胎座部径) / 果径 × 100

3) ネット指数は、5段階評価で5(優る) ~ 3(普通) ~ 1(劣る)

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

冬作向けとして選抜されたM<sub>3</sub>・M<sub>4</sub>世代からの優良個体の選抜

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産野菜の新しい育種法の開発研究  
イオンビームを利用した環境ストレス耐性メロンの作出に関する研究  
冬作における照射個体  $M_2$ ・ $M_3$  世代の優良個体の選抜  
担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究  
担当者名：前島慎一郎、山田栄成  
協力分担：原研高崎研究所、静岡県温室農業協同組合  
研究期間：2002～2006 年度  
-----

### 1. 目的

温室メロンでは、高品質かつ低コストで栽培できる品種・系統の育成が望まれている。このため、イオンビームを利用した突然変異育種法により耐低温性等の新たな特性を付与した個体を育成する。ここでは、主として冬作における  $M_2$ ・ $M_3$  世代の特性を確認し、優良個体の選抜を行う。

### 2. 方法

- (1) 試験場所 場内温室 (A-2)  
(2) 供試系統 ' 県温冬系 2 号 ' にイオンビーム ( $^{12}C^{5+}$ ) を照射し、自殖、採種した  $M_2$ ・ $M_3$  各系統  
(3) 試験構成 無照射 ( 対照 ) 区 : 15 個体  
 $M_2$  : イオンビーム 20Gy 照射後代 30 系統、40Gy 照射後代 30 系統 計 60 系統  
 $M_3$  : イオンビーム 20Gy 照射後代 8 系統、40Gy 照射後代 24 系統、  
50Gy 照射後代 4 系統、60Gy 照射後代 1 系統、70Gy 照射後代 3 系統  
計 40 系統  
(4) 試験規模 無照射 : 温室内各列 3 個体、 $M_2$  : 1 系統当り 1 個体、 $M_3$  : 1 系統当り 2 個体  
(5) 調査方法 2003 年 12 月 16 日に催芽し、翌日任意の 3 粒の種子を 2.5 号鉢に鉢上げした。  
定植は 2004 年 1 月 9 日に行い、鉢上げから収穫終了までの栽培管理は、農試慣行にしたがった。交配から約 50 日で収穫し、果重が 1kg あたりに補正した固有振動数 ( 固有振動値 : 卓上型メロン熟度計 MELOC ) が 240Hz 未満に達した果実について、その形質を調査した。なお、最低夜温は 22 で管理した。

### 3. 結果の概要

( 前年度までの結果 ) イオンビーム照射  $M_2$  世代の果実形質は親系統よりも劣る形質が多かった。この中から、果実肥大性の高いものを中心に 40 個体、糖度・肉質等、果実形質に優れたものを中心に 34 個体、ネット指数等、外観が優れたものを中心に 24 個体の計 98 個体を  $M_3$  世代優良個体として選抜した。

- (1) 各供試系統から、果実の肥大性が良く、肉質や外観の優れた系統を選抜した。 $M_2$  世代は、20Gy 区から 8 個体、40Gy 区から 8 個体を選抜した。選抜率は両区ともに 26.7% であった。また、 $M_3$  世代は 20Gy 区から 2 個体、40Gy 区から 10 個体、50Gy 区から 1 個体を選抜したが、60Gy 区、70Gy 区には優良個体がなかった。 $M_3$  系統の選抜率は 32.5% だった ( 第 1 表 ) 。  
(2)  $M_2$  世代選抜系統の特徴は第 2 表に示すとおりで、20Gy 区では外観に優れた系統、40Gy 区では果実の肥大性に優れた系統が多かった。  
(3)  $M_3$  世代選抜系統の特徴として、' 00A-03-3 '、' 00A-07-2 '、' 00D260-C '、' 00D313-C '、' 00D314-L '、' 00E515-C '、' 00E524-L ' ( いずれも 40Gy )、' 00A-08-3 ' ( 50Gy ) は、果実の肥大性に優れていた。また、' 01A831-C ' ( 20Gy )、' 00D368-L '、' 00D395-C '、' 00D414-C ' ( いずれも 40Gy ) は、果実肥大性はやや劣るものの糖度が高く、また肉質に優れていた。さらに、' 00F658-C ' ( 20Gy ) も果実の肥大性は劣るものの主に外観が優れていた ( 第 3 表 ) 。

以上より、 $M_2$  世代については、果実肥大性、外観などから 16 個体を選抜した。また、 $M_3$  世代では、低温伸長肥大性の高いものを中心に 8 個体を耐低温性有望系統として選抜した。さらに、肉質の良いものを中心に 5 個体、外観が優れたものを中心に 1 個体をその他有望系統として選抜し、合計で  $M_3$  世代 14 個体を選抜した。

第1表 メロンイオンビーム照射 M<sub>2</sub>・M<sub>3</sub> 世代の選抜結果

世代・線量	供試系統数	選抜系統数	選抜率 (%)	選抜個体数
M <sub>2</sub>	20Gy	30	8	26.7
	40Gy	30	8	26.7
	計	60	16	26.7
M <sub>3</sub>	20Gy	8	2	25.0
	40Gy	24	10	41.2
	50Gy	4	1	25.0
	60Gy	1	0	0.0
	70Gy	3	0	0.0
	計	40	13	32.5

第2表 メロンイオンビーム照射 M<sub>2</sub> 世代選抜系統の主特性<sup>1)</sup>

照射量 (Gy)	果重 (g)	果径指数 <sup>2)</sup>	肉厚指数 <sup>3)</sup> (%)	糖度 (Brix%)	肉質 <sup>4)</sup>	花落ち径 (mm)	ネット指数 <sup>5)</sup>	選抜理由 <sup>6)</sup>
20Gy	1,494	0.99	53.9	13.9	6.5	16	4.1	肥大:2、肉質:1、外観:5
40Gy	1,701	0.95	57.7	14.3	6.5	31	3.7	肥大:5、肉質:2、外観:1
無照射	1,643	1.00	55.5	14.3	6.7	24	3.6	-

1) 20Gy、40Gy は選抜した 8 系統の平均値、無照射は 15 株の平均値

2) 果径指数 = 果高 / 果径

3) 肉厚指数 = (果径 - 胎座部径) / 果径 × 100

4) 肉質は、主に溶肉程度で 10 段階評価で 10(優る) ~ 5(普通) ~ 1(劣る)

5) ネット指数は、5 段階評価で 5(優る) ~ 3(普通) ~ 1(劣る)

6) 各選抜理由の右に選抜個体数を併記した

第3表 メロンイオンビーム照射 M<sub>3</sub> 世代選抜系統の主特性

系統名 (照射量 Gy)	果重 (g)	果形指数 <sup>2)</sup>	肉厚指数 <sup>3)</sup> (%)	糖度 (Brix%)	肉質 <sup>4)</sup>	花落ち径 (mm)	ネット指数 <sup>5)</sup>	主な選抜理由
00F658-C(20)	1,462	1.00	47.8	14.3	6.5	16	4.3	外観
01A831-C(20)	1,529	0.97	56.3	15.4	6.5	26	3.3	肉質
00A-03-3(40)	1,865	0.99	61.5	14.5	7.0	20	3.5	肥大
00A-07-2(40)	1,797	0.99	67.4	15.0	7.0	29	4.0	肥大
00D260-C(40)	1,794	0.93	52.1	13.3	7.0	16	3.0	肥大
00D313-C(40)	1,829	0.99	62.7	14.0	7.0	22	3.8	肥大
00D314-L(40)	1,766	0.95	61.4	14.3	7.0	26	3.8	肥大
00D368-L(40)	1,499	0.96	55.2	15.5	7.0	22	3.8	肉質
00D395-C(40)	1,544	0.91	49.7	15.4	7.0	25	3.5	肉質
00D414-C(40)	1,329	0.91	54.0	15.1	7.0	28	3.8	肉質
00E515-C(40)	1,647	0.99	62.0	13.7	7.0	36	4.5	肥大・外観
00E524-L(40) <sup>1)</sup>	1,735	0.97	54.6	14.9	7.0	25	3.8	肥大・肉質
00A-08-3(50)	1,734	0.98	50.6	14.2	6.0	24	2.8	肥大
無照射(対照) <sup>6)</sup>	1,643	1.00	55.5	14.3	6.7	24	3.6	-

1) 2 個体の平均値

2) 果形指数 = 果高 / 果径

3) 肉厚指数 = (果径 - 胎座部径) / 果径 × 100

4) 肉質は、主に溶肉程度で 10 段階評価で 10(優る) ~ 5(普通) ~ 1(劣る)

5) ネット指数は、5 段階評価で 5(優る) ~ 3(普通) ~ 1(劣る)

6) 無照射は 15 株の平均値

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

M<sub>3</sub>・M<sub>4</sub> 世代における優良個体の選抜

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産野菜の新しい育種法の開発研究  
X線による偽受精胚珠培養法を利用したイチゴ育種法の研究  
培養条件下における催芽処理手法の検討

担当部署：静岡農試 生物工学部 品種開発研究、東部園芸分場、海岸砂地分場

担当者名：青島秀憲・竹内 隆

研究期間：2002～2006年度  
-----

## 1. 目的

実生繁殖性のイチゴ品種を作出するため、放射線を利用した偽受精処理によってヘテロ性の高い栽培品種(2n=8x=56)から低次倍数体を効率的に作出し、それを倍加することにより遺伝的に純度の高い育種素材を育成するための手法を開発する。

ここでは、培養条件下で効率的にイチゴ実生個体を獲得するための催芽処理手法について検討し、今後の偽受精処理集団の作出に資する。

## 2. 方法

【試験1】催芽処理手法の検討

(1) 供試材料 ‘紅ほっぺ’の瘦果

(2) 試験構成 催芽処理:種皮を傷つける、種皮を取り除く、濃硫酸処理(濃度 95%、30分浸漬)

(3) 試験方法 自然交配によって得られた‘紅ほっぺ’の完熟果実から瘦果を摘出し、催芽処理を行った。それをMS培地に置床し、発芽個体数および発芽率を調査した。

【試験2】濃硫酸処理時間の検討

(1) 供試材料 試験1に同じ

(2) 試験構成 濃硫酸浸漬時間(分):10、20、30、40、50、60

(3) 試験方法 試験1に同じ

【試験3】交配後経過時間と発芽程度の関係

(1) 供試材料 試験1に同じ

(2) 試験構成 調査時期(交配後週数):1、2、3、4、5、6

(3) 試験方法 交配後、所定の日数を経過した果実から瘦果を摘出して濃硫酸処理(20分浸漬)を行った。それをMS培地に置床し、1ヵ月後に発芽個体数および発芽率を調査した。

(4) 試験時期 交配:2/6から1週間毎 収穫:3/18 培養開始:3/19 発芽調査:4/19

## 3. 結果の概要

(前年度までの結果) なし

(1) 無処理では発芽個体を得られなかったが、催芽処理を行うことで発芽率を高めることができた(第1表、第1図)。特に、種皮を取り除いた場合と濃硫酸処理を行った場合の発芽率が高かったが、作業性については濃硫酸処理の方が優れていた。

(2) 濃硫酸処理は、処理時間を20分とした場合の発芽率が最も高かった(第2表、第2図)。濃硫酸処理は30分以内ならば効果的であるが、40分以上では過剰処理になると考えられた。

(3) 濃硫酸による催芽処理を行った場合、発芽個体を確認できるのは交配4週間後以降であった(第3表)。交配2週間後以前のイチゴ瘦果は、濃硫酸処理により焼失した。

以上の結果より、培養条件下で効率的に実生個体を得るためには、完熟果実から摘出したイチゴ瘦果を、濃硫酸に20分間浸漬してから培養するのが適当であると考えられた。ただし、偽受精処理によって得られた交雑胚が生育途中で座死することを想定した場合、濃硫酸処理の適用は難しいため、徒手により胚珠を摘出して培養する必要があると考えられた。

第1表 催芽処理によるイチゴ瘦果の発芽程度の違い

催芽処理	供試種子数	培養1週間後		培養2週間後	
		発芽個体数	発芽率(%)	発芽個体数	発芽率(%)
種皮を傷つける	75	5	7	38	51
種皮を取り除く	75	43	57	67	89
濃硫酸に浸漬	75	49	65	75	100
無処理	75	0	0	0	0

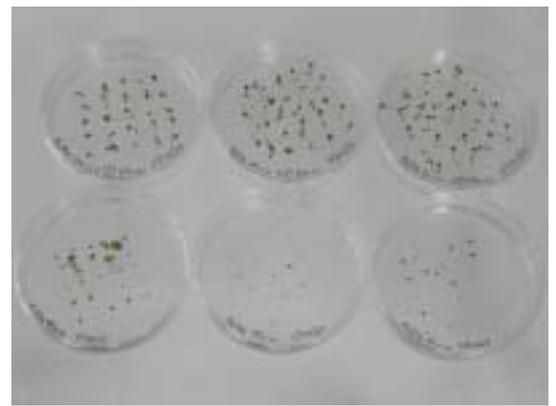
第2表 濃硫酸処理時間とイチゴ瘦果の発芽程度の関係

濃硫酸浸漬時間 (分)	供試種子数	培養1週間後		培養2週間後	
		発芽個体数	発芽率(%)	発芽個体数	発芽率(%)
10	75	7	9	63	84
20	75	49	65	75	100
30	75	65	87	74	99
40	75	13	17	13	17
50	75	0	0	0	0
60	75	3	4	3	4



第1図 催芽処理別の発芽の様子

左上:無処理 右上:種皮を傷つける  
左下:濃硫酸処理 右下:種皮を取り除く



第2図 硫酸処理時間別の発芽の様子

上段:左から処理時間 10、20、30 分  
下段:左から処理時間 40、50、60 分

第3表 交配後週数別の濃硫酸処理<sup>2)</sup>したイチゴ瘦果の発芽個体数

交配後週数	供試種子数	発芽個体数	備考
1	100	0	濃硫酸による催芽処理不可
2	100	0	濃硫酸による催芽処理不可
3	100	0	
4	100	9	
5	100	14	
6	100	80	果実は完熟

2) 処理時間は20分間

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- ・ イチゴ未熟胚の培養条件の検討

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産野菜の新しい育種法の開発研究  
X線による偽受精胚珠培養法を利用したイチゴ育種法の研究  
偽受精処理により作出した個体の倍数性（2004年度）  
担当部署：静岡農試 生物工学部 品種開発研究、東部園芸分場、海岸砂地分場  
担当者名：青島秀憲・竹内 隆  
協力分担：なし  
研究期間：2002～2006年度  
-----

## 1. 目的

実生繁殖性のイチゴ品種を作出するため、放射線を利用した偽受精処理によってヘテロ性の高い栽培品種（ $2n=8x=56$ ）から低次倍数体を効率的に作出し、それを倍加することにより遺伝的に純度の高い育種素材を育成するための手法を開発する。

ここでは、2004年度に偽受精処理を行って作出した個体の倍数性について調査する。

## 2. 方法

- (1) 供試材料 ‘紅ほっぺ’（種子親）、‘けいきわせ’（花粉親）
- (2) 試験構成 軟X線照射線量(Gy):0、125、150、175、200、225、250
- (3) 試験方法 所定の軟X線を照射した花粉を交配し、完熟果実から瘦果（種子）を採取した。充実した瘦果を発芽させて得た実生個体を、3.5号鉢に鉢上げした。これらの個体について、フローサイトメーター（partec社製PA）による倍数性判定を行った。

## 3. 結果の概要

（前年度までの結果）偽受精処理に利用する軟X線照射線量は、125～250Gyの範囲で検討していくことが適当であると考えられた。

- (1) 偽受精処理によって得られた実生 816 個体の中に、目的とする低次倍数体（7 倍体以下）は存在しなかった（第1表）。
- (2) 偽受精処理によって得られた個体のほとんどが 8 倍体であったが、わずかに 11 もしくは 12 倍体と判定される個体が存在した（第1表）。11 倍体については 250Gy 照射区のみで出現したが、12 倍体の出現頻度については一定の傾向が認められなかった。

以上の結果より、本試験における偽受精処理方法では、目的とする低次倍数体の獲得は難しいと考えられた。しかし、処理元品種と倍数性の異なる個体が出現したことから、今回試験した水準での軟X線照射が倍数性に影響を与える可能性が示唆された。今後、低次倍数性個体の作出にあたっては、生育途中に座死する個体の救出を視野に入れて、胚珠もしくは胚培養についても検討する必要がある。

第1表 偽受精処理によって得られたイチゴ実生個体の倍数性 (2004年度)

照射線量 (Gy)	調査個体数	倍数性判定結果 <sup>2)</sup>			
		7倍体以下	8倍体	11倍体	12倍体
0	50	0	50	0	0
125	140	0	138	0	2
150	22	0	22	0	0
175	300	0	297	0	3
200	16	0	16	0	0
225	13	0	13	0	0
250	325	0	315	6	4

2) フローサイトメーターによる倍数性判定結果

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- ・ 胚珠培養を組み合わせた偽受精処理手法の検討

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産野菜の新しい育種法の開発研究  
X線による偽受精胚珠培養法を利用したイチゴ育種法の研究  
偽受精処理における軟X線照射線量の再検討

担当部署：静岡農試 生物工学部 品種開発研究、東部園芸分場、海岸砂地分場

担当者名：青島秀憲・竹内 隆

研究期間：2002～2006年度  
-----

## 1. 目的

実生繁殖性のイチゴ品種を作出するため、放射線を利用した偽受精処理によってヘテロ性の高い栽培品種(2n=8x=56)から低次倍数体を効率的に作出し、それを倍加することにより遺伝的に純度の高い育種素材を育成するための手法を開発する。

ここでは、偽受精処理に利用する軟X線の照射線量について再検討する。

## 2. 方法

【試験1】軟X線照射線量の検討(0～1000Gy)

(1) 供試材料 ‘紅ほっぺ’(種子親)、『けいきわせ’(花粉親)

(2) 試験構成 軟X線照射線量(Gy):0、125、250、500、1000 (対照:自然交配)

(3) 試験方法 所定の軟X線を照射した花粉を交配し、完熟果実を収穫した。果実から瘦果を摘出し、催芽処理(濃硫酸に20分間浸漬)および消毒を行った後、MS培地に置床した。培養2週間後に発芽率および発芽個体数を調査した

(4) 試験時期 交配:11/17 収穫:12/29 培養開始:1/11 発芽調査:1/26

【試験2】軟X線照射線量の検討(125～250Gy)

(1) 供試材料 ‘紅ほっぺ’(種子親)、『けいきわせ’(花粉親)

(2) 試験構成 軟X線照射線量(Gy):0、125、150、175、200、225、250

(3) 試験方法 所定の軟X線を照射した花粉を交配し、完熟果実を収穫した。収穫果実から摘出した瘦果をナース豊土を敷き詰めたトレイに播種し、1ヵ月後に発芽個体数を調査した。

(4) 試験時期 交配:4/25 収穫:5/24 播種:6/4 発芽調査:6/28

## 3. 結果の概要

(前年度までの結果) 偽受精処理における花粉への軟X線照射線量は125Gy程度とし、交配後3週間後の果実を培養に供試するのが適当であると考えられたが、対照である無照射区においても交雑個体がほとんど得られない条件下での検討であったため、再検討の必要があると考えられた。

(1) 250Gy以上の軟X線を照射した花粉を交配した場合、得られた果実の大きさは対照に比べて極端に小さくなった(第1図)。それらの果実から得られた瘦果の発芽率についても同様の傾向がみられた(第1表、第2図)。花粉への軟X線照射線量が500Gy以上の場合には、瘦果の獲得が困難であった。

(2) 125～250Gyの軟X線照射した花粉を交配して得られた発芽個体数は、125Gy照射の場合に対照比8.5%となり、照射線量の増加に伴って減少した(第2表、第3図)。

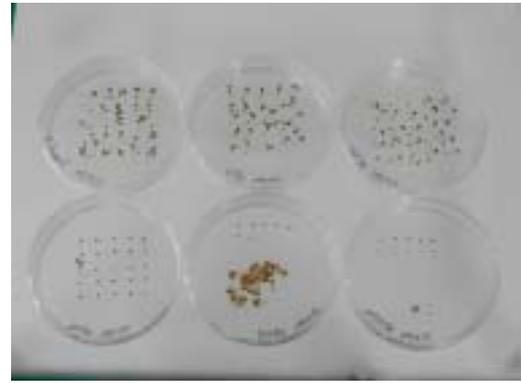
以上の結果より、偽受精処理に利用する軟X線照射線量は125～250Gyの範囲で検討していくのが適当であると考えられた。

第1表 交配花粉への軟X線照射が発芽に及ぼす影響

照射線量(Gy)	供試種子数	発芽個体数	発芽率(%)
0	100	93	93
125	100	81	81
250	100	11	11
500	7	0	0
1000	10	0	0
自然交配	100	80	80



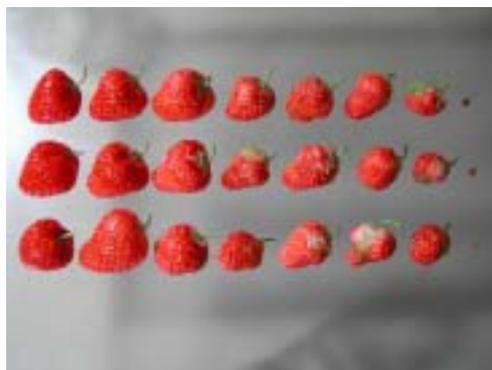
第1図 偽受精処理により得られたイチゴ果実の様子  
左から自然交配、0Gy、125Gy、250Gy、500Gy、1000Gy、無交配



第2図 偽受精処理により得られたイチゴ瘦果の発芽の様子  
上段：左から自然交配、0Gy、125Gy  
下段：左から250Gy、500Gy、1000Gy

第2表 交配花粉への軟X線照射がイチゴ瘦果の発芽に及ぼす影響

照射線量 (Gy)	供試果実数	発芽個体数		
		総数	総数/果数	対照比(%)
0	5	684	136.8	(対照)
125	5	58	11.6	8.5
150	5	15	3.0	2.2
175	5	20	4.0	2.9
200	5	18	3.6	2.6
225	5	13	2.6	1.9
250	5	4	0.8	0.6



第3図 偽受精処理によって得られたイチゴ果実の様子  
(左から0Gy、125Gy、150Gy、175Gy、200Gy、225Gy、250Gy、無交配)

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- ・ イチゴにおける偽受精処理のための軟X線照射条件の検討
- ・ 本試験において得られた偽受精処理個体の倍数性検定

-----

研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術育種技術および効率化技術の開発  
放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究  
LEDによる光照射が培養苗の花芽分化、蕾および葉片の再分化に及ぼす影響

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究  
担当者名：植田陽子、山田栄成  
研究期間：継 2002～2006年度（平成14～18年度）

-----

## 1. 目的

本県特産花きであるマーガレットの栽培品種の多様化を図るため、X線照射と培養系を組み合わせた効率的な育種法を開発する。小型の光源かつ特定の波長域を持つLEDは、作物の生育に様々な影響を与える可能性がある。ここでは、LEDが培養苗の花芽分化、蕾および葉片の再分化に及ぼす影響について調査する。

## 2. 方法

- (1) 供試系統：試験1. マーガレット：‘在来白’  
試験2. マーガレット：‘在来白’、‘サンデーリップル’  
マーガレットとハナワギクの属間雑種：‘クイーンマイル’  
試験3. マーガレット：‘在来白’、‘プリンセスリトルホワイト’  
マーガレットとハナワギクの属間雑種：‘00-154-1’
- (2) 試験構成：試験1～3共通して25、明期16時間、光源から試料までは15cm

要因	水準
波長	青LED(470nm)、赤LED(660nm)、近赤LED(740nm)、蛍光灯(1300lx)

## (3) 試験方法：

試験1. 供試品種を圃場から採穂し、2回継代した無菌培養苗の挿し芽を1穂5葉に調整し、18mm径試験管あたり1穂ずつ挿し芽。培地はMS + IAA0.2mg/l。

試験2. 供試系統の蕾を1蕾につき4等分し、18mm径試験管に4切片ずつ置床。培地はMS + IAA1.0mg/l + BA1.0mg/l。

試験3. 供試系統の葉を60mmシャーレに10切片ずつ置床。培地は試験2と同様。

(4) 調査項目：試験1は4週後の挿し穂の生育量、試験2、3は40日後の再分化率

(5) 試験規模：試験1は1区10本、試験2は1区40切片、試験3は1区30切片、各3反復

## 3. 結果の概要（前年度までの結果）：なし

(1) 試験1の生育では、草丈と節間長は近赤LEDが最も伸長し、次いで青LED、蛍光灯、赤LEDであったが、生体重は赤LED、青LED、蛍光灯の順で重く、近赤LEDが最も軽くなった(第1表)。葉の展開数は赤LED、蛍光灯、青LEDと比較して近赤LEDが少なかった。葉の大きさ、根の重さ、根の長さは、蛍光灯が最も大きい傾向を示した。また、青色LED、赤色LEDで花芽分化する個体が現れた(第1表、第1図)。

(2) 試験2の蕾培養の再分化率は、品種によって異なったが、蛍光灯が高い傾向が認められた(第2図)。「在来白」の再分化茎葉からは花芽分化した1個体が現れた(第3図)。

(3) 試験3の葉片培養の再分化率は、品種間差は認められたが、一定の傾向は無く、光源の影響は明らかではなかった(第4図)。

以上の結果から、in vitroでのLED光源は、蕾と葉片培養の不定芽形成には顕著な効果が認められなかった。しかし、青色LEDによる光源は、培養苗および再分化茎葉の花芽分化を抑制しない可能性が示唆された。

**第1表** LEDによる光照射が‘在来白’の培養苗の生育と花芽分化に及ぼす影響

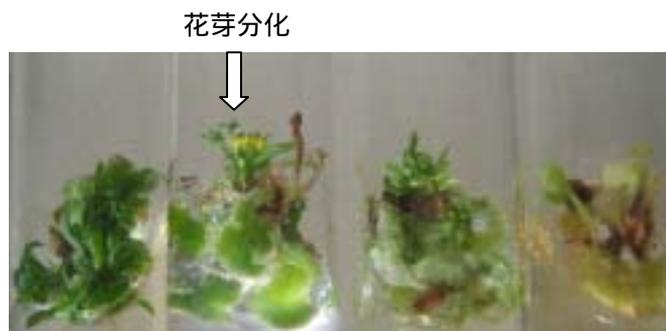
光源	草丈の伸長量 (cm)	草幅の伸長量 (cm)	節間長 (cm) <sup>z)</sup>	生体重 (g)	葉の展開数 (枚)	葉の大きさ(cm) <sup>y)</sup>			根の重さ(g)	根の長さ (cm)	花芽分化 (%)
						葉柄	葉身	葉幅			
蛍光灯	2.40	2.45	0.127	0.754	12.1	1.43	1.68	1.30	0.090	3.22	0.0
青LED	2.91	1.82	0.263	0.819	11.3	1.15	1.14	0.90	0.064	2.81	4.0
赤LED	1.73	1.90	0.098	0.924	12.4	0.99	1.25	1.06	0.037	2.74	0.7
近赤LED	5.55	1.79	0.543	0.574	8.7	1.15	0.97	0.55	0.026	2.59	0.0

z) 展開葉の6~7枚目の節間長を計測した。

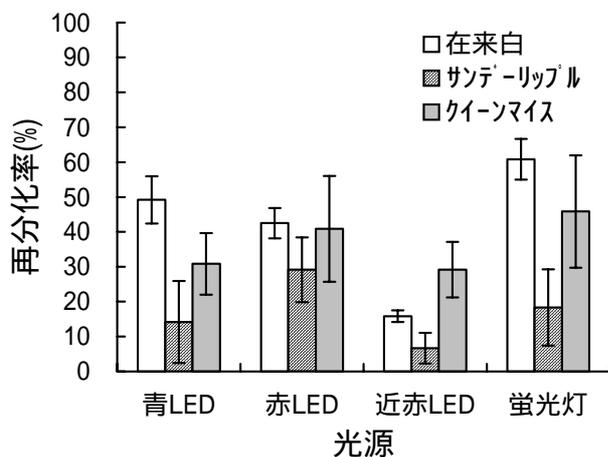
y) 展開葉の6枚目または7枚目を計測した。



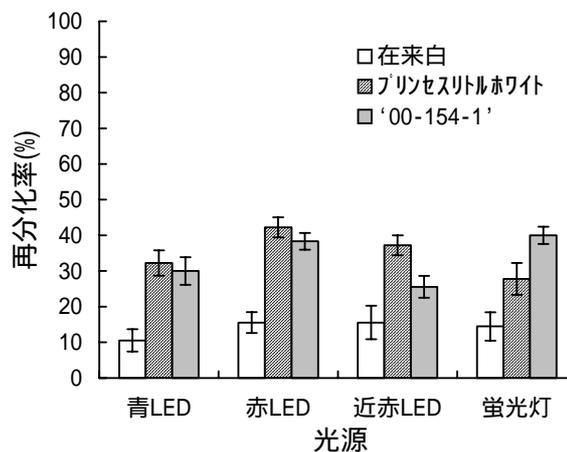
第1図 光源とマーガレット‘在来白’の無菌培養苗の生育  
左から蛍光灯、青LED



第3図 光源とマーガレット‘在来白’の蕾培養の再分化  
左から蛍光灯、青LED、赤LED、近赤LED



第2図 光源とマーガレット蕾培養  
40日後の再分化率<sup>z)</sup>  
z) 平均値 ± 標準誤差



第4図 光源とマーガレット葉片培養  
40日後の再分化率<sup>z)</sup>  
z) 平均値 ± 標準誤差

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術開発および効率化技術の開発に関する研究

放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究  
葉片培養中に X 線照射した再分化個体に出現した変異

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006 年度（平成 14～18 年度）  
-----

### 1. 目的

本県特産花きであるマーガレットの栽培品種の多様化を図るため、放射線を利用した有望系統の効率的な作出法を開発する。ここではマーガレットとハナワギクの属間雑種 '00-154-1' の葉片培養中に 0Gy～40Gy の X 線を照射し、再分化個体に出現した花色変異等の変異率から最適な X 線照射線量を検討する。

### 2. 方法

(1) 試験場所：場内温室 D5

(2) 供試材料：マーガレットとハナワギクの属間雑種 '00-154-1' (花色：浅橙色) の葉  
2003 年 10 月 7、8 日に培養(培地は MS + 5mg/IIAA + 1mg/IBA、60mm 径シャーレ)を開始し、同年 10 月 14 日に X 線照射後、再分化した個体

(3) 試験構成

要因	水準
X線照射量	0、2、5、10、20、40Gy

(4) 試験規模：葉片培養中の切片に X 線を照射し、再分化後鉢上げした個体 0Gy 区 22 株、2Gy 区 39 株、5Gy 区 41 株、10Gy 区 9 株を調査した。対照区は '00-154-1' 4 株。

(4) 栽培方法：2004 年 1 月 9 日～1 月 30 日葉片培養由来の再分化個体を順化、2 号鉢に鉢上げ、対照区 2 月 9 日挿し芽。2 月 19 日摘心、3 月 4 日 3 号鉢に鉢上げた。

(5) 調査項目：開花日、草丈、株張り、花色、葉の形態等

### 3. 結果の概要

(前年度までの結果)：マーガレットとハナワギクの属間雑種 '00-154-1' の葉片培養中に X 線照射する場合の最適線量は、切片の再分化率から 5Gy 程度であることが明らかとなった。

(1) 0～20Gy 照射区では、不定芽が形成されたが、20、40Gy 照射区では再分化個体が得られなかった(第 1 表)。再分化率は、照射線量が増す毎に減少した。切片あたりの再分化株数は、10Gy 以上照射した区で少なかった。

(2) 平均開花日は照射線量による明瞭な差はなかった(第 2 表)。

(3) 花色は、鮮橙、黄橙、鮮桃等に変異し(第 4 表、第 2 図)、10Gy 区までの花色変異率は照射線量が増す毎に高まった(第 3 表)。

(4) その他の形質に生じた変異は、舌状化の一部管弁状化(第 2 図)、全体管弁状化、花粉の発生、葉の細葉化(第 1 図)等があり、様々な劣悪変異形質も発生した。

(5) 100 個の切片から得られる花色変異株の換算値は、0～5 Gy 区で 20 個体以上であったのに対し、10Gy 区では 10 個体程度で最も少なかった(第 5 表)。

以上の結果から、マーガレットとハナワギクの属間雑種 '00-154-1' の葉片培養中に X 線照射し、効率的に花色変異個体を得るための最適線量は、2～5Gy であると考えられた。

**第1表** 属間雑種‘00-154-1’の葉片からの再分化率および再分化株に及ぼすX線照射量の影響

X線照射線量 (Gy)	供試切片数	再分化切片	再分化率 <sup>Z)</sup> (%)	再分化株	切片あたりの再分化株数 <sup>Y)</sup>
0	60	47	78.3	47	0.78
2	70	42	60.0	39	0.56
5	70	36	51.4	41	0.59
10	58	11	18.8	9	0.16
20	60	2	3.3	0	0.00
40	50	0	0.0	0	0.00

Z)供試切片数/再分化切片\*100

Y)再分化株/供試切片数

**第2表** 属間雑種‘00-154-1’の葉片照射量と再分化個体の頂花の開花日

照射線量(Gy)	平均開花日	標準偏差(日)
0	4月28日	5.1
2	5月1日	7.6
5	5月2日	5.8
10	4月29日	4.5
対照 00-154-1	4月30日	7.6



**第1図** 属間雑種‘00-154-1’の葉片培養照射により得られた葉の変異

左から順に‘00-154-1’(対照)、0Gy、2Gy、5Gy照射の変異葉(細葉)

**第3表** 属間雑種‘00-154-1’の葉片培養へのX線照射が再分化個体の頂花および葉の形質に及ぼす変異形質

照射線量 (Gy)	供試(順化)株数	開花株数	花色					変異率 <sup>Z)</sup> (%)	舌状花		花粉		葉の形質	備考
			鮮橙	黄橙	鮮桃	合計	管弁状		一部	全体	有	細葉		
0	23	22	3	3	1	7	31.8	4	4	2	1	花弁にスジ入り個体有		
2	39	38	6	5	3	14	36.8	5	4	1	3	基部の着色幅が減少する個体有		
5	41	41	5	10	1	16	39.0	5	2	5	1	小輪化個体有、花弁にスジ入り個体有		
10	9	7	3	2	0	5	71.4	2	1	0	0	小輪化個体有		
対照 00-154-1	4	4	浅橙		-	-	-	広縁型	無	-	-	-		

Z)変異率=花色変異合計/開花株数\*100

**第4表** 得られた花色変異と色差<sup>Z)</sup>

花色	L*	a*	b*
鮮橙	60.2	60.2	33.4
黄橙	71.9	71.9	45.0
鮮桃	55.4	55.4	16.0
浅橙 <sup>Y)</sup>	63.8	63.8	34.6

Z)各花色の平均値

Y)対照‘00-154-1’

**第5表** 切片あたりの花色変異率

照射線量(Gy)	供試切片数	再分化株	供試(順化)株数	切片あたりの花色変異率 <sup>Z)</sup>
0	60	47	23	24.9
2	70	39	39	20.5
5	70	41	41	22.8
10	58	9	9	10.7

Z)再分化株\*花色変異率/供試切片数\*100



**第2図** 属間雑種‘00-154-1’の葉片培養およびX線照射により得られた花色変異

4. 今後の問題点と次年度以降の計画  
X線照射における優良個体の作出

研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術育種技術および効率化技術の開発  
放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究

蕾、花梗培養中に X 線照射した再分化個体に出現した変異

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006 年度（平成 14～18 年度）

## 1. 目的

本県特産花きであるマーガレットの栽培品種の多様化を図るため、放射線を利用した効率的な変異系統の作出法を開発する。ここではマーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-154-1’、‘00-235-1’、‘クインミス’の蕾および花梗培養中に 0Gy～5Gy の X 線を照射し、再分化個体に出現した花色変異等の変異率から最適な X 線照射線量と培養部位を検討する。

## 2. 方法

(1) 試験場所：場内温室 D5

(2) 供試材料：マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-154-1’（花色：浅橙色）、‘00-235-1’（花色：赤色）、‘クインミス’（花色：桃色）の蕾、破蕾期以前の花梗

(3) 試験構成

要因	水準
X線照射量	0、2、5Gy
培養部位	蕾、花梗

(4) 試験規模：1 区 5 蕾、20 切片（4 切片× 60 mmシャーレ×5 枚）、花梗 20 切片（10 切片× 60 mmシャーレ×2 枚）、‘00-154-1’、‘クインミス’は 3 反復、‘00-235-1’は 4 反復。

(5) 栽培方法：2004 年 3 月～5 月に培養（培地は MS + 1mg/l IAA + 1mg/l BA）を開始し、培養 15 日後放射線照射、再分化した個体を 6 月～7 月順化、4.5 号鉢に鉢上げ、対照区 9 月 27 日挿し芽。

(5) 調査項目：再分化数、順化数、開花日、草丈、株張り、花色、葉の形態等

## 3. 結果の概要

(前年度までの結果)：マーガレットとハナワギクの属間雑種‘クインミス’の蕾の不定芽形成の培養条件は、1mg/l の IAA と 1mg/l の BA を添加した MS 培地が適していることが明らかとなった。

(1) ‘00-154-1’の不定芽形成率は全ての処理区で 50%以上であった（第 1 表）。蕾と花梗培養区の不定芽形成率は、明瞭な差は認められなかったが、花梗培養区の不定芽形成後の不定芽は継代培養後の生育が良好で、順化後の生存株数は花梗培養区の方が多い傾向が認められた。‘クインミス’は、継代培養後の生育が悪く、順化できた株は得られなかった。照射線量と不定芽形成率は、明瞭な差は認められなかったが、0Gy 区で高い傾向であった。

(2) ‘00-154-1’の再分化個体の花色は、橙、鮮桃（赤）に変異し（第 2 表、第 1 図）、照射線量による花色変異株数には差がなかった。草丈、株張り、花径、舌状花数、花数、葉の形質等の変異は見られなかった。

(3) ‘00-235-1’の再分化個体の花色は、蕾培養区のみで濃赤と舌状花の中心が濃赤に変異し（第 3 表、第 2 図）照射線量による花色変異株数には差がなかった。草丈、株張り、花径、舌状花数、花数、葉の形質等の変異は見られなかった。

以上の結果から、マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-154-1’、‘00-235-1’は、蕾、花梗ともに培養、順化できことが明らかとなったが、花梗培養は、蕾培養に比べ再分化した不定芽が順調に生育し、順化できる傾向があった。しかし、花色変異等における培養部位、照射の影響は明確ではなかった。また、品種により培養部位による花色変異率の差が大きいことが明らかになった。

**第1表** マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-154-1’、‘00-235-1’、‘クイーンミス’の蕾、花硬からの再分化率と生存数、開花株数<sup>Z)</sup>

品種	培養部位	照射線量(Gy)	培養切片数	コンタミ除去切片数	不定芽形成切片数	不定芽形成率(%) <sup>Y)</sup>	順化後の生存株数 <sup>X)</sup>	開花株数 <sup>X)</sup>
00-154-1	蕾	0	20	10.0	9.0	90.0	9	5
		2	20	10.3	6.0	58.1	5	2
		5	20	12.7	8.7	68.4	10	3
	花梗	0	20	14.3	13.7	95.3	9	5
		2	20	18.3	17.0	92.7	9	7
		5	20	19.0	16.0	84.2	13	11
00-235-1	蕾	0	20	6.3	4.3	68.0	4	1
		2	20	4.5	4.0	88.9	3	2
		5	20	12.8	3.8	29.4	3	3
	花梗	0	20	8.5	2.8	32.4	3	2
		2	20	9.0	4.8	52.8	7	5
		5	20	14.0	9.3	66.1	13	3
クイーンミス	蕾	0	20	10.7	5.7	53.1	0	-
		2	20	11.0	7.0	63.6	0	-
		5	20	13.0	5.3	41.0	0	-
	花梗	0	20	14.3	12.3	86.0	0	-
		2	20	16.0	10.0	62.5	0	-
		5	20	17.3	10.0	57.7	0	-

Z)1区20切片、‘00-154-1’、‘クイーンミス’は3反復、‘00-235-1’は4反復

Y)コンタミ除去切片数/不定芽形成切片数×100

X)処理区の合計

**第2表** マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-154-1’の蕾、花梗培養へのX線照射が再分化個体の頂花に及ぼす変異形質<sup>Z)</sup>

系統	培養部位	照射線量	開花株数	平均開花日	花色			備考
					橙	鮮桃(赤)	合計	
00-154-1	蕾	0	5	10月20日	0	2	2	舌状花の管弁状
		2	2	10月4日	0	2	2	黄スジ入り花弁あり
		5	3	10月22日	1	0	1	雌雄ずいの減少個体あり
	花梗	0	5	11月13日	0	2	2	花弁の縮れ
		2	7	10月19日	1	2	3	黄スジ、桃スジ入り花弁あり
		5	11	11月3日	3	5	8	舌状花の管弁状
対照 <sup>Y)</sup> 00-154-1	-	4	10月17日	浅橙			-	

Z)1区20切片3反復の合計

Y)2004年9月27日挿芽 . n=4

**第3表** マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-235-1’の蕾、花梗培養へのX線照射が再分化個体の頂花に及ぼす変異形質<sup>Z)</sup>

系統	培養部位	照射線量	開花株数	平均開花日	花色		
					濃赤	中心の赤輪が濃い	合計
00-235-1	蕾	0	1	11月19日	0	0	0
		2	2	10月24日	0	2	2
		5	3	9月22日	1	1	2
	花梗	0	2	10月20日	0	0	0
		2	5	10月14日	0	0	0
		5	3	10月30日	0	0	0
対照 <sup>Y)</sup> 00-235-1	-	4	10月20日	赤			

Z)1区20切片4反復の合計

Y)2004年9月27日挿芽 . n=4



第1図 マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-154-1’の蕾培養照射で得られた花色変異  
左から順に‘00-154-1’(対照、浅橙)、  
2Gy 蕾照射区(管弁状) 5Gy 蕾照射区(鮮赤)



第2図 マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-235-1’の蕾培養照射で得られた花色変異  
左から順に‘00-235-1’(対照、赤、花弁中央黄)、  
2Gy、5Gy 蕾照射区(ともに花弁中央が濃赤)

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術育種技術および効率化技術の開発  
放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究

X線の穂照射で得られたマーガレット突然変異個体の特性と選抜

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

## 1. 目的

本県特産花きであるマーガレットの栽培品種の多様化を図るため、放射線を利用した効率的な有望系統の作出法を開発する。ここではマーガレットを種子親とし、ハナワギクを花粉親として得られた属間雑種の桃色の花色である‘クイーンミス’にX線照射して、花色変異系統の作出を図る。

## 2. 方法

(1) 試験場所：場内温室 D5

(2) 供試系統：マーガレットとハナワギクの属間雑種‘クイーンミス’（桃色、旧系統名‘00-235-2’）

(3) 試験方法：0、10、20、40、80Gyの5水準、各区10穂を挿し芽苗に照射し親株とした。摘心後、挿し芽(VM<sub>2</sub>世代)をして得られた0Gy区30個体、10Gy区23個体、20Gy区9個体を調査した。

(4) 栽培概要：2003年6月9日挿し芽（親株）、6月30日大型X線照射装置により親株に照射、7月3日摘心、9月3日挿し芽（VM<sub>2</sub>世代）、9月21日3号鉢に鉢上げした。

(5) 調査項目：親株の採穂数、生存率、定植苗の開花日、草丈、株張り、花色等

## 3. 結果の概要

(前年度までの結果)：桃色系マーガレット‘00-15-3’に軟X線照射し、鉢物、花壇用に適する‘エンジェルミス’を育成し、品種登録出願した。

(1) X線を照射した親株の40、80Gy照射区では、照射2ヵ月後に全て枯死し、採穂できなかった。また、挿し芽可能な穂の数は、照射線量が増す毎に減少した（第1表）。

(2) VM<sub>2</sub>世代では、10Gy区で花色が桃色と白色のキメラ状の個体、20Gy区で舌状花の中心が白く花粉親のハナワギクによく似た個体、花が帯化した個体が現れた。供試個体中には、顕著に矮化、株張りが小さくなる個体が認められたが、照射線量による草丈、株張りの差は見られなかった（第2表）。

(3) このほかの形質についてみると、10Gy区で管状花の雄ずいが不完全な舌状花弁化を呈し、舌状花数が多くなる1個体（第1図）、管状花部の長さが短くなり、小輪化した1個体を育種素材として選抜した（第2表）。

以上の結果から、マーガレットとハナワギクの雑種系統へのX線照射により、花形や花色の変異個体が獲得できた。このうち、管状花部が小さい‘235-2-10-13’と舌状花弁数が多い‘235-2-10-15’を育種素材として選抜した（選抜率6.3%）。

第1表 属間雑種‘クーンマイス’の穂への照射線量と採穂数

照射線量(Gy)	採穂数 <sup>Z)</sup>	生存株数 <sup>Y)</sup>
0	30	24
10	24	23
20	20	9
40	0	0
80	0	0

Z)1区10個体あたりの挿し芽可能な本数  
Y)2ヶ月後調査



第1図 属間雑種‘クーンマイス’の花の形体変異  
左；‘クーンマイス’（対照）  
右；10Gy照射‘235-2-10-15’（雄ずいの舌状化）

第2表 マーガレットとハナワギクの属間雑種‘クーンマイス’のVM<sub>2</sub>世代の特性

供試個体名	照射量	開花日	花色	舌状花の形	開花時草丈 (cm)	開花時株張り (cm)	花の形質のキメラ性	備考	選抜 <sup>Z)</sup>
235-2-10-1		10月22日	桃	広線形	23	20			
235-2-10-2		10月16日	桃	広線形	15	11			
235-2-10-3		10月26日	桃	広線形	14	14		舌状花の長さが異なる	
235-2-10-4		10月18日	桃	広線形	21	18			
235-2-10-5		10月19日	桃	広線形	22	14	有		
235-2-10-6		10月18日	桃	広線形	16	12			
235-2-10-7		10月16日	桃	広線形	21	12			
235-2-10-8		10月15日	桃	広線形	14	13	有		
235-2-10-9		10月20日	桃	広線形	15	14			
235-2-10-10		10月25日	桃	広線形	23	15			
235-2-10-11	10Gy	10月23日	桃・白	広線形	14	12	有	1花に舌状花が桃、白のキメラ	
235-2-10-12		10月15日	桃	広線形	17	15			
235-2-10-13		10月20日	桃	広線形	20	14		管状花部が小さい	
235-2-10-14		10月15日	桃	広線形	19	13			
235-2-10-15		10月16日	桃	広線形・線形	19	16	有	雄ずいが舌状化、舌状花数36枚	
235-2-10-16		10月15日	桃	広線形	20	18			
235-2-10-17		10月15日	桃	広線形	8	8			
235-2-10-18		10月17日	桃	広線形	24	14			
235-2-10-19		10月20日	桃	広線形	23	20			
235-2-10-20		10月18日	桃	広線形	27	20			
235-2-10-21		10月24日	桃	広線形	22	15			
235-2-10-22		10月26日	桃	広線形	24	12			
235-2-10-23		10月20日	桃	広線形	7	12			
235-2-20-1	20Gy	10月20日	桃	広線形	18	13			
235-2-20-2		10月16日	桃・花弁基部白	広線形	19	12		ハナワギクに似ている	
235-2-20-3		10月18日	桃	広線形	21	14		小輪	
235-2-20-4		10月26日	桃	広線形	21	16	有	蕾が帯化	
235-2-20-5		10月17日	桃	広線形	22	17			
235-2-20-6		10月16日	桃	広線形	21	21			
235-2-20-7		10月20日	桃	広線形	20	20			
235-2-20-8		10月16日	桃	広線形	23	23			
235-2-20-9		10月19日	桃	広線形	16	16			
クーンマイス(対照) <sup>Y)</sup>	0Gy	10月18日	桃	広線形	21.7	15.5		舌状花数21枚	

Z) 育種素材として選抜  
Y)対照区のみ平均値 n=24

4. 今後の問題点と次年度以降の計画  
選抜系統の特性調査

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術開発および効率化技術の開発に関する研究

放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究

X線の苗照射で得られたマーガレット突然変異個体の特性と選抜

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

## 1. 目的

本県特産花きであるマーガレットの栽培品種の多様化を図るため、放射線を利用した有望系統の効率的な作出法を開発する。ここではマーガレットを種子親とし、ハナワギクを花粉親として得られた属間雑種の浅橙色の花色である‘00-154-1’にX線照射して、花色等変異系統の作出を図る。

## 2. 方法

(1) 試験場所：場内温室 D5

(2) 供試系統：マーガレットとハナワギクの属間雑種 ‘00-154-1’ (浅橙色)

(3) 試験構成：0、10、20、40Gy の 4 水準を摘心後の親株に照射し、得られた挿し芽 0Gy 区（対照）9 株、10Gy 区 8 株、20Gy 区 8 株を調査した。

(4) 栽培概要：2003 年 6 月 30 日大型 X 線照射装置により親株に照射、9 月 3 日挿し芽 (VM<sub>2</sub> 世代) 9 月 21 日 3 号鉢に鉢上げした。

(5) 調査項目：親株の採穂数、生存率、定植苗の開花日、草丈、株張り、花色等

## 3. 結果の概要

(前年度までの結果)：桃色系マーガレット ‘00-15-3’ に軟 X 線照射し、鉢物、花壇用に適する ‘エンジェルミス’ を育成し、品種登録出願した。

(1) X 線を照射した親株の草丈は、照射線量が増す毎に減少し、40Gy 照射区では照射 3 ヶ月後に枯死し、挿し芽が得られなかった (データ略)。

(2) 挿し芽 (VM<sub>2</sub> 世代) における開花は、対照の ‘00-154-1’ より早い 4 個体が 10Gy 区で得られたが、20Gy 区はすべて対照の ‘00-154-1’ よりも遅い開花であった。また、開花時の草丈は、対照の ‘00-154-1’ より小さくなる個体が多かった (第 1 表)。

(3) 花色及び花の形態では、10Gy 区で花色が明黄色となる 1 個体 (‘03-154-10-5’)、20Gy 区で舌状花が管弁化した 1 個体 (‘03-154-20-3’) が得られた (第 1 図)。

以上の結果から、マーガレットとハナワギクの雑種系統への 10～20Gy の X 線照射により、花色や花型の変異個体が獲得できた。このうち、花色が明黄色に変異した個体と舌状花が管弁状となった個体を選抜し、それぞれ ‘03-154-10Y’、‘03-154-20F’ として系統名を付与し、選抜した。今後は選抜系統の形態的特性と花色等安定性について調査する。

**第1表** マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-154-1’のVM<sub>2</sub>世代の特性

系統名	照射線量	開花日	花色	舌状花の花色形態	開花時草丈 (cm)	開花時 株張り (cm)	花色の 枝単位の キマ <sup>z)</sup> 性	一次選抜 <sup>z)</sup>
03-154-10-1	10Gy	10月10日	浅橙	広線形	21.0	20.0	有	
03-154-10-2		10月10日	浅橙	広線形	20.0	14.0		
03-154-10-3		10月13日	浅橙	広線形	19.0	20.0		
03-154-10-4		10月23日	浅橙	広線形	25.0	12.0		
03-154-10-5		10月25日	明黄・浅橙	広線形	21.0	17.0		
03-154-10-6		10月17日	浅橙	広線形	17.0	17.0		
03-154-10-7		10月12日	浅橙	広線形	22.0	14.0		
03-154-10-8		10月18日	蜜柑・浅橙	広線形	18.0	15.0		
03-154-20-1	20Gy	10月23日	浅橙	広線形	14.0	14.0	有	
03-154-20-2		10月24日	浅橙	広線形	21.0	16.0		
03-154-20-3		10月23日	浅橙	管弁状・広線形	20.0	20.0		
03-154-20-4		10月25日	浅橙	広線形	17.0	19.0		
03-154-20-5		10月24日	浅橙	広線形	16.0	23.0		
03-154-20-6		10月26日	浅橙	広線形	28.0	20.0		
03-154-20-7		10月23日	浅橙	広線形	24.0	18.0		
03-154-20-8		10月24日	浅橙	広線形	17.0	13.0		
00-154-1(対照) <sup>y)</sup>	0Gy	10月17日	浅橙	広線形	23.7	18.7	-	-

Z) : 優良個体として選抜

Y)対照区のみ平均値 n=9



第1図 属間雑種‘00-154-1’のVM<sub>2</sub>世代に出現した花色変異と形態変異

a) ‘00-154-1’(対照:薄橙色)、b) 10Gy 照射‘03-154-10-5’(明黄色)、c) 20Gy 照射‘03-154-20-3’(管弁状)

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画 選抜系統の特性調査

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術開発および効率化技術の開発に関する研究

放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究

X線の苗照射で得られたマーガレット突然変異個体の形態調査

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

### 1. 目的

本県特産花きであるマーガレットの栽培品種の多様化を図るため、放射線を利用した有望系統の効率的な作出法を開発する。ここではマーガレットを種子親とし、ハナワギクを花粉親として得られた浅橙色の‘00-154-1’にX線照射して得られた系統の形態や有望性について調査する。

### 2. 方法

(1) 試験場所：場内温室 D5

(2) 供試系統：マーガレットとハナワギクの属間雑種 ‘00-154-1’ (対照、浅橙色、広線形) に 10Gy 照射して得られた系統 ‘03-154-10Y’ (明黄色、広線形)、20Gy 照射して得られた ‘03-154-20F’ (浅橙色、管弁状)

(3) 栽培概要：照射した親株から挿し芽して得られた VM<sub>2</sub> 世代 ‘03-154-10Y’ の黄色に花色変異した枝から 2003 年 11 月 17 日挿し芽 (VM<sub>3</sub> 世代)、2004 年 2 月 18 日挿し芽 (VM<sub>4</sub> 世代)、VM<sub>2</sub> 世代 ‘03-154-20F’ から 2004 年 1 月 14 日挿し芽 (VM<sub>3</sub> 世代) を調査した。

(4) 調査項目：開花日、草姿、開花形態、草丈、キメラ性の有無

(5) 試験規模：VM<sub>3</sub> 世代 1 系統 1 株、VM<sub>4</sub> 世代 1 系統 4 株

### 3. 結果の概要

(前年度までの結果)：マーガレットとハナワギクの属間雑種 ‘00-154-1’ に X 線照射し、花色が黄色に変化した ‘03-154-10Y’ と、舌状花が管弁化した ‘03-154-20F’ の 2 系統を選抜した。

(1) ‘03-154-10Y’ の VM<sub>3</sub> 世代は、舌状花の花色は明黄色であったが、一部の舌状花弁にキメラが認められ、元の花色である浅橙色が残っていた(第 1 表、第 1 図)。また、‘03-154-10Y’ の葉色はやや薄くなり、照射元系統 ‘00-154-1’ に花粉が無いのに対し、3 月から 5 月に開花した花の一部の管状花に花粉の形成が観察された(第 2 図)。開花時草丈等の他の形質については明瞭な差は見られなかった。

(2) ‘03-154-10Y’ の VM<sub>4</sub> 世代では、花色のキメラは認められず、他の形質に関しては VM<sub>3</sub> 世代と同様であった(第 2 表)。

(3) ‘03-154-20F’ は、舌状花弁が安定して管弁化しており、花径がやや小さくなり、舌状花が抱え咲きの花容を呈していた(第 3 表、第 3 図)。他の形質に関しては、明瞭な差は見られなかった。

以上の結果から、マーガレットとハナワギクの雑種系統への X 線照射により、既存にはない鮮やかな明黄色の花色の ‘03-154-10Y’ を有望系統として選抜した。‘03-154-20F’ は育種素材として保存する。‘03-154-10Y’ については、花色の安定性等の特性について継続調査する。

第1表 '03-154-10Y' のVM<sub>3</sub>世代の特性調査<sup>Z)</sup>

系統名	開花日 <sup>Y)</sup>	開花時		花色			舌状花の形	花容	花径 (cm)	管状花部の直径 (cm)	舌状花			花数 <sup>X)</sup>	葉色	花粉	花色のキメラ	
		草丈 (cm)	株張り (cm)	舌状花の色	L*	a*					b*	長さ (cm)	幅 (cm)					花弁数
03-154-10Y	2月14日	35.0	30.0	明黄	88.7	-6.9	57.3	広線形	水平	7.5	1.2	2.7	1.2	21	3	淡緑	有	有
00-154-1	2月14日	36.0	30.0	浅橙	61.8	49.3	18.2	広線形	水平	6.4	1.2	2.3	1.0	21	1	緑	無	無

Z)n=1

Y)挿し芽2003年11月21日

X)開花日の破蕾期以降の蕾数

第2表 '03-154-10Y' のVM<sub>4</sub>世代の特性調査<sup>Z)</sup>

系統名	開花日 <sup>Y)</sup>	開花時		花色			舌状花の形	花容	花径 (cm)	管状花部の直径 (cm)	舌状花			花数 <sup>X)</sup>	葉色	花粉	花色のキメラ	
		草丈 (cm)	株張り (cm)	舌状花の色	L*	a*					b*	長さ (cm)	幅 (cm)					花弁数
03-154-10Y	5月1日	34.0	15.3	明黄	85.5	-2.5	53.7	広線形	水平	6.0	1.5	2.0	1.0	18	5.3	淡緑	有	無
00-154-1	5月1日	35.3	24.5	浅橙	63.8	46.1	34.6	広線形	水平	5.5	1.5	1.9	1.0	21	6.0	緑	無	無

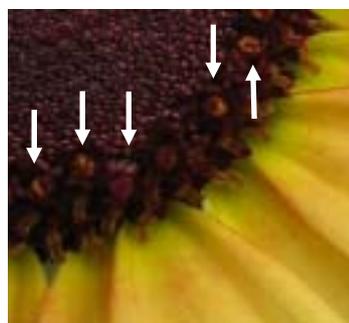
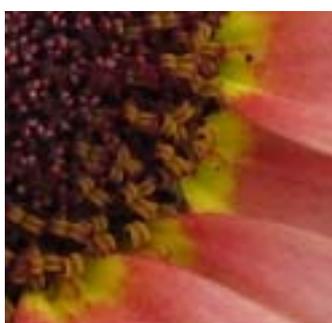
Z)n=4

Y)挿し芽2004年2月18日

X)開花日の破蕾期以降の蕾数



第1図 '03-154-10Y' VM<sub>3</sub>世代  
花色キメラの花



第2図 左 VM<sub>3</sub>世代 '00-154-1' (対照、花粉無)  
右 VM<sub>3</sub>世代 '03-154-10Y' (黄花、花粉有)

第3表 '03-154-20F' のVM<sub>3</sub>世代の特性調査

系統名	開花日 <sup>Y)</sup>	開花時		花色			舌状花の形	花容	花径 (cm)	管状花部の直径 (cm)	舌状花			花数 <sup>X)</sup>	葉色	花粉	花色のキメラ	
		草丈 (cm)	株張り (cm)	舌状花の色	L*	a*					b*	長さ (cm)	幅 (cm)					花弁数
03-154-20F	2月20日	17	11	浅橙	62.4	48.3	18.0	管弁状	斜上	6.2	1.2	2.0	0.3 <sup>Y)</sup>	21	2	緑	無	無
00-154-1	2月20日	19	16	浅橙	62.1	49.2	17.7	広線形	水平	7.5	1.2	2.3	0.9	21	2	緑	無	無

Z)挿し芽2004年1月14日

Y)管弁状のまま計測。舌状花を広げると0.8cm

X)開花日の破蕾期以降の蕾数



第3図 マーガレットとハナワギクの属間雑種 '00-154-1' の苗照射による VM<sub>3</sub> 世代の花の形態変異  
左から '00-154-1' (浅橙、広線形)、'03-154-10Y' (明黄、広線形)、'03-154-20F' (浅橙、管弁状)

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

選抜系統 '03-154-10Y' の VM<sub>5</sub> 世代の特性調査

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術育種技術および効率化技術の開発  
放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究  
X線の苗照射で得られたマーガレット突然変異個体の特性調査と現地適応性

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究、南伊豆分場

担当者名：植田陽子、山田栄成、稲葉善太郎

研究期間：継 2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

### 1. 目的

本県特産花きであるマーガレットの栽培品種の多様化を図るため、放射線を利用した有望系統の効率的な作出法を開発する。ここではマーガレットを種子親とし、ハナワギクを花粉親として得られた浅橙色の‘00-154-1’にX線照射して得られた明黄色の系統‘03-154-10Y’の特性と現地適応性について調査する。

### 2. 方法

(1)試験場所：試験1、2は場内温室D5、試験3は現地(沼津市、韮山町、三島市、富士市、富士宮市)

(2)供試系統：マーガレットとハナワギクの属間雑種‘00-154-1’(対照、浅橙色)に10Gy照射して得られた系統‘03-154-10Y’(明黄色)VM<sub>4</sub>世代

(3)調査方法：

試験1。明黄色系統‘03-154-10Y’(VM<sub>3</sub>世代)2個体と浅橙系統‘00-154-1’(対照)から取った穂を2004年6月25日、7月22日、9月15日にそれぞれ挿し芽し、開花日、草姿、開花形態、草丈、葉の形質、キメラの有無等の調査を行った。‘03-154-10Y’は1回の挿し芽につき15～37個体(3回挿し芽、計92個体)、『00-154-1’は1回の挿し芽につき9～30個体(3回挿し芽、計57個体)。

試験2。2004年6月25日に挿し芽し、2週間毎の花色、1ヶ月毎の開花数、花の形態、連続開花性を10個体反復なしで調査を行った。

試験3。2004年5月17日挿し芽、6月17日に現地に苗を渡し、8名の農家で現地適応性調査を行った。

### 3. 結果の概要

(前年度までの結果)：マーガレットとハナワギクの雑種系統へのX線照射により、既存にはない鮮やかな明黄色の花色の‘03-154-10Y’を有望系統として選抜した。VM<sub>3</sub>世代の‘03-154-10Y’の花色には高い率でキメラが認められた。

(1)試験1の調査株の中でキメラは認められなかった(第1表)。また、挿し芽時期の違いにより平均開花日が異なり、一定の傾向が見られなかった。‘03-154-10Y’のVM<sub>4</sub>世代の形態は、対照の‘00-154-1’と比較して、舌状花の色が明黄、開花時草丈は低く、株張りは小さく、葉の形質は葉身長および葉身幅が小さく、欠刻が深く、葉色が淡緑に変異していた(第2表)。花径、管状花径、舌状花の長さおよび幅、舌状花弁数等に明瞭な差は見られなかった。

(2)試験2では、‘03-154-10Y’(明黄色)のVM<sub>4</sub>世代における草丈は、対照の‘00-154-1’と比較して低く、株張りも小さかった(第1図、第3表)。花数、蕾数は8月下旬～9月下旬にやや減少したが、両品種ともに夏期も連続して開花した。花色は両品種ともに変化した。‘03-154-10Y’は対照の‘00-154-1’よりも夏の高温による退色が少ないことが観察された(第4表)。

(3)現地適応性における試験では、従来にはない花色で、草姿はコンパクトであり、鉢物適性等の点で高く評価された(第5表)。

以上の結果から、マーガレットとハナワギクの雑種系統へのX線照射で得られた‘03-154-10Y’は、花色のキメラは認められず、親品種とは明確に区別できた。また、草丈、株張りが対照よりもコンパクトであり、鉢物として適していると考えられる。‘03-154-10Y’は、鮮やかな明黄色の花色を持ち、コンパクトな草姿であり、夏期の連続開花性等の優れた特性があるので、育成系統候補‘伊豆19号’として鉢物向け品種として品種登録に向けた特性調査を実施する。

第1表 VM<sub>4</sub>世代の‘03-154-10Y’の花色キメラと平均開花日

挿し芽日	キメラ <sup>Z)</sup>	03-154-10Y	00-154-1(対照)
6月24日	0/40	7月31日	8月4日
7月22日	0/37	9月19日	9月18日
9月15日	0/15	11月15日	11月10日

Z)花色キメラが認められた株数/調査株数



第1図 ‘00-154-1’ (対照) と ‘03-154-10Y’ の草姿 (2004年6月25日挿し芽、無摘心、同年11月29日撮影)

第2表 ‘03-154-10Y’の形態調査(2004年7月22日挿し芽区)<sup>Z)</sup>

系統名	開花時		花色 <sup>Y)</sup>			花径 (cm)	管状花部の直径 (cm)	舌状花			花粉 <sup>V)</sup>	葉の形質						
	草丈 (cm)	株張り (cm)	舌状花の色	L*	a*			b*	長さ (cm)	幅 (cm)		花弁数	花数 <sup>W)</sup>	葉片幅 (cm)	葉の欠刻 <sup>U)</sup>	葉身長 (cm)	葉身幅 (cm)	葉色
03-154-10Y	27.5**	16.5**	明黄	86.3**	-7.4**	58.4**	4.0	1.1	1.2	0.8	15.2	3.4	無	0.29	0.87**	3.7**	2.6**	淡緑
00-154-1(対照)	32.9	20.4	浅橙	68.5	24.0	36.2	3.9	1.1	1.2	0.8	14.2	3.7	無	0.31	0.82	4.3	3.7	緑

Z)‘03-154-10Y’はn=37、‘00-154-1’はn=18

Y)キメラが認められた株数/調査株数

X)色彩色差計NR3000で計測、1花(1個体)3花弁ずつ調査

W)頂花開花時における破雷期以降の花数

V)今回の調査時期の花には花粉が認められなかった。

U)特性分類調査表による調査方法、数値が1に近づくほど欠刻が深いことを示す。

T)\*\*: t検定により‘00-154-1’(対照)と1%で有意差あり

第3表 ‘03-154-10Y’の花の形態と花数、蕾数の変化<sup>Z)</sup>

系統名	8/30	9/30	10/30	11/12	
草丈(cm)	03-154-10Y	29.2	30.9	37.1	41.6
	00-154-1	32.2	37.9	46.0	49.3
株張り(cm)	03-154-10Y	20.5	25.8	28.8	33.4
	00-154-1	22.8	30.5	41.9	43.0
花径(cm)	03-154-10Y	3.3	3.6	4.8	5.4
	00-154-1	3.3	3.7	4.7	5.1
管状花部の直径(cm)	03-154-10Y	0.9	0.9	1.2	1.4
	00-154-1	1.0	1.1	1.2	1.3
舌状花の長さ(cm)	03-154-10Y	1.1	1.3	1.8	2.1
	00-154-1	1.1	1.3	1.7	1.9
舌状花の幅(cm)	03-154-10Y	0.6	0.7	0.9	1.0
	00-154-1	0.7	0.7	0.9	1.1
花弁数(枚)	03-154-10Y	13.4	13.8	14.8	14.1
	00-154-1	13.6	13.8	14.3	13.4
花数(個) <sup>Y)</sup>	03-154-10Y	4.5	4.0	7.4	12.8
	00-154-1	4.0	4.3	9.4	11.2
蕾数(個) <sup>X)</sup>	03-154-10Y	5.8	6.9	11.4	15.9
	00-154-1	4.1	8.2	9.8	12.9

Z)挿し芽2004年6月24日、各系統n=10

Y)1株あたりの平均開花数

X)開花数を除いた1株あたりの平均蕾数

第4表 ‘03-154-10Y’の花色の季節変化<sup>Z)</sup>

系統名	8/30	9/16	9/30	10/13	10/30	11/12	
L*	03-154-10Y	93.2	87.3	87.3	88.8	88.6	75.8
	00-154-1(対照)	78.7	72.1	72.3	72.7	68.8	61.6
a*	03-154-10Y	-6.6	-7.3	-7.6	-6.7	-6.1	-5.1
	00-154-1(対照)	16.2	25.6	20.0	24.3	30.2	22.6
b*	03-154-10Y	73.8	65.5	65.1	58.2	56.5	29.8
	00-154-1(対照)	51.1	44.1	42.4	40.1	27.1	16.7

Z)挿し芽2004年6月24日、各系統n=10、1花(1個体)3花弁調査、色彩色差計NR3000で計測。

第5表 ‘03-154-10Y’「伊豆19号」の現地適応性調査の概要<sup>Z), Y)</sup>(平成16年度)

系統名	花色	花型	花径	草丈	開花開始	現地生産者 <sup>X)</sup> の観察状況	評価 <sup>W)</sup>
03-154-10Y(伊豆19号)	黄	一重	中	中	10月下旬	花色が鮮明、草丈がやや短い、鉢物適性高い、連続開花性高い	-
00-154-1(伊豆15号)	浅橙	一重	中	中	10月下旬	対照品種	-
チェルルミス	薄桃	丁字	中	中	11月上旬	参考品種	-
サンデーリップル	白	一重	小	中	10月上旬	参考品種	-
スイートリップル	白	八重	小	中	11月上旬	参考品種	-
ホワイトリップル	白	一重	中	長	10月上旬	参考品種	-

Z)花径、草丈等の特性は特性調査基準に準拠して記載

Y)挿し芽2004年5月17日、苗引き渡し6月17日

X)沼津市(1名)、葦山町(2名)、三島市(2名)、富士市(1名)、富士宮市(1名)

W): 適する、: やや適する、×: 適さない、-: 対照品種、参考品種のため評価なし

V)対照・参考品種は、各生産者のほ場で同一条件下で栽培しているもの

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術育種技術および効率化技術の開発  
放射線を利用した交雑不親和性打破技術の開発研究  
マーガレットとハナワギクの属間雑種判定方法（RAPD 法）

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006 年度（平成 14～18 年度）  
-----

## 1. 目的

マーガレット栽培品種と近縁種属との胚珠培養による種間雑種作出により、新しい花色、花形を持つマーガレットが作出されている。これまで、マーガレットとハナワギクの雑種判定はフローサイトメーターで確認することができることを報告した。ここでは、RAPD 法を用いた判定方法について検討する。

## 2. 方法

### (1) 供試材料：

試験 1. マーガレット(*Argyranthemum flutescens*) '97-31-1' (2n=18) 2 個体、ハナワギク(*Ismeria carinata*) 'パテオミックス' (2n=18) 4 個体、属間雑種 3 系統 'クイーンミス'、'00-154-1'、'00-235-1' 各 1 個体

試験 2. マーガレット(*Argyranthemum flutescens*) '01-157-1' (2n=18) 1 個体、ハナワギク(*Ismeria carinata*) 'パテオミックス' (2n=18) 4 個体、属間雑種 1 系統 '02-44' 1 個体

(2) 調査方法：2004 年 7 月～10 月にマーガレットの葉約 240mg、ハナワギクおよび属間雑種約の葉 300mg を Mixer Mill でホモジナイズした後、改変 CTAB 法で DNA を抽出した。抽出した DNA を 74 種類の Bex Common Primer(A00～A73) を用いて PCR (92 1 分、40 1 分、72 2 分、40 サイクル) で増幅し、電気泳動で多型を確認した。

## 3. 結果の概要

(前年度までの結果)：マーガレットとハナワギクの属間雑種判定には、フローサイトメーターで可能であることが明らかとなった。

(1) 供試した 74 種類のプライマーのうち、61 プライマーで多型が認められたため、種子親であるマーガレット '97-31-1' とハナワギクは比較的遠縁であると考えられた (第 1 表)。

(2) 多型の認められた 61 プライマーのうち、種子親であるマーガレット、花粉親であるハナワギクに特異的で、かつ属間雑種が両親のバンドを持ち、肉眼で多型の判別が容易なプライマーは 7 種類であった。

(3) 7 種類のプライマーのうち、各個体間で安定したバンドが得られるかを確認したところ、第 1 表に示すプライマー 'A34' (CCT GCG GGA GGA) が安定していた。

(4) 種子親に '97-31-1' を用いた場合の電気泳動像を第 1 図、種子親に '01-157-1' を用いた場合の電気泳動像を第 2 図に示した。試験 2 の結果から、種子親であるマーガレット '97-31-1' と '01-157-1' で共通に使える方法であることが明らかとなった。

以上の結果から、マーガレットを種子親とし、ハナワギクを花粉親とした属間雑種を判定するためには、Bex Common Primer の A34 のプライマーを用いて RAPD 法を行えば雑種の判定が可能であることが明らかとなった。

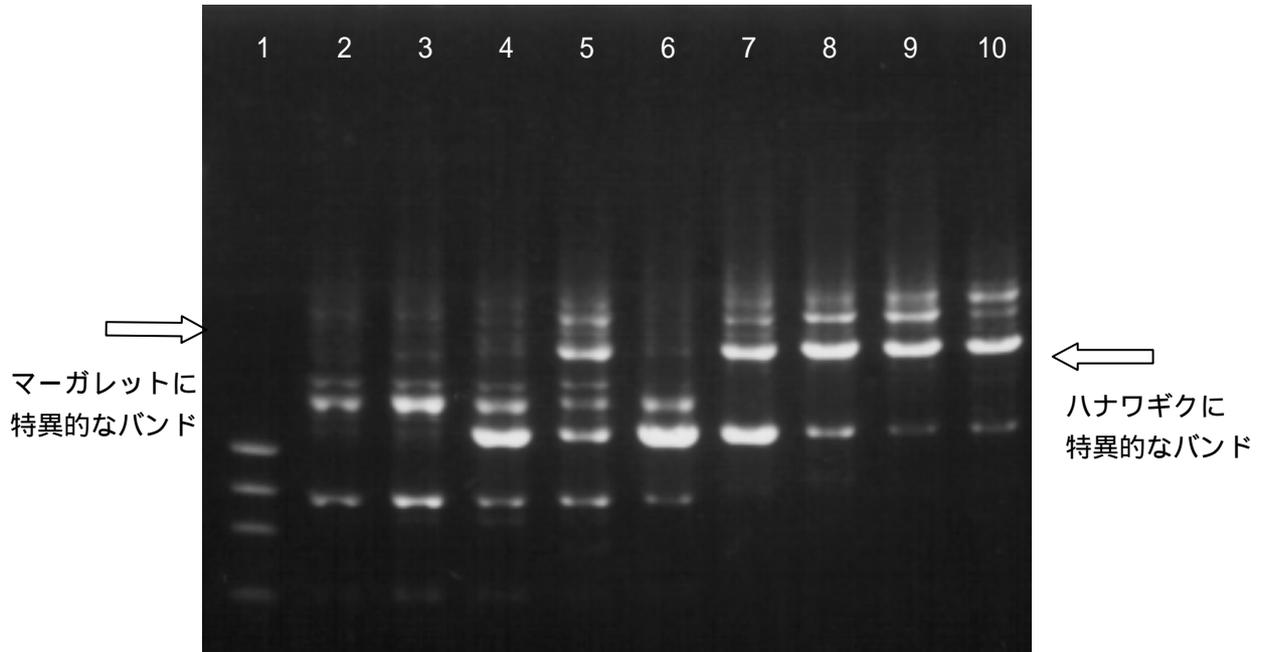
**第1表 供試プライマーの多型等調査結果(マーガレットとハナワギク)**

	プライマー数
供試	74
多型	61
高い視認性 <sup>Z)</sup>	7
安定性 <sup>Y)</sup>	1
安定性のあるプライマー名	A34 <sup>X)</sup>

Z)肉眼で多型の判別が容易なプライマー名

Y)安定した多型が認められたプライマー名

X)A34の塩基配列:CCT GCG GGA GGA



第1図 プライマー-A34 を用いた RAPD 法によるマーガレット '97-31-1'、ハナワギク、属間雑種の多型

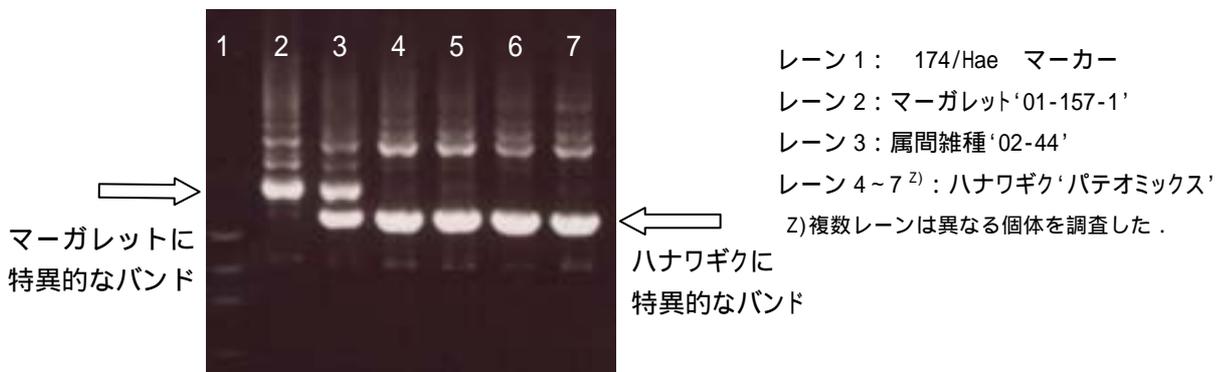
レーン 1: 174/Hae マーカー

レーン 2、3<sup>Z)</sup>: マーガレット '97-31-1'

レーン 4、5、6: 順に属間雑種 '00-154-1'、'00-235-1'、'クイーンマウス'

レーン 7~10<sup>Z)</sup>: ハナワギク 'パテオミックス'

Z)複数レーンは異なる個体を調査した。



第2図 プライマー-A34 を用いた RAPD 法によるマーガレット '01-157-1'、ハナワギク、属間雑種の多型

レーン 1: 174/Hae マーカー

レーン 2: マーガレット '01-157-1'

レーン 3: 属間雑種 '02-44'

レーン 4~7<sup>Z)</sup>: ハナワギク 'パテオミックス'

Z)複数レーンは異なる個体を調査した。

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術育種技術および効率化技術の開発  
放射線を利用した交雑不親和性打破技術の開発研究

マーガレットとシュンギクの属間雑種判定方法 (RAPD 法)

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006 年度 (平成 14～18 年度)  
-----

## 1. 目的

マーガレット栽培品種と近縁属花きとの胚珠培養による種間雑種作出により、新しい花色、花形を持つマーガレットが作出されている。マーガレットとシュンギクの雑種判定は主に形態的特徴で行われてきた。ここでは RAPD 法を用いた判定方法について検討する。

## 2. 方法

- (1) 供試材料：マーガレット (*Argyranthemum flutescens*) '97-30-5'、'97-31-1'、(2n=27) 各 2 個体、中葉シュンギク (*Chrysanthemum coronarium*) (2n=18) '農試実生'、'きわめ'、'さとゆたか' 各 2 個体、属間雑種 16 系統各 1 個体
- (2) 調査方法：2004 年 7 月～9 月にマーガレットの葉約 240mg、シュンギクおよび属間雑種の葉約 300mg を Mixer Mill でホモジナイズした後、改変 CTAB 法で DNA を抽出した。抽出した DNA を 84 種類の Bex Common Primer (A00～A83) を用いて PCR (92 1 分、40 1 分、72 2 分、40 サイクル) で増幅し、電気泳動で多型を確認した。

## 3. 結果の概要

- (前年度までの結果)：マーガレットとシュンギクの属間雑種判定は、フローサイトメーターでは判定できなかった。
- (1) 供試した 84 種類のプライマーのうち、73 プライマーで多型が認められたため、種子親であるマーガレット '97-30-5'、'97-31-1' とシュンギクは比較的遠縁であると考えられた (第 1 表)。
  - (2) 多型の認められた 73 プライマーのうち、花粉親であるシュンギクに特異的なバンドを有し、かつ肉眼で多型の判別が容易なプライマーは 14 種類であった。
  - (3) 選定した 14 種類のプライマーのうち、各個体間で安定したバンドが得られるかを確認したところ、第 1 表に示すプライマー 'A8' (TTC GGA CGA ATA)、'A15' (ATC GCG GAA TAT) が安定していた。
  - (4) マーガレット '97-30-5' とシュンギクの雑種におけるプライマー 'A15' の電気泳動像を第 1 図、マーガレット '97-31-1' とシュンギクの雑種におけるプライマー 'A15' の電気泳動像を第 2 図に示した。

以上の結果から、マーガレットを種子親とし、シュンギクを花粉親とした属間雑種を判定するためには、Bex Common Primer の 'A8'、'A15' のプライマーを用いて RAPD 法を行えば雑種の判定が可能であることが明らかとなった。

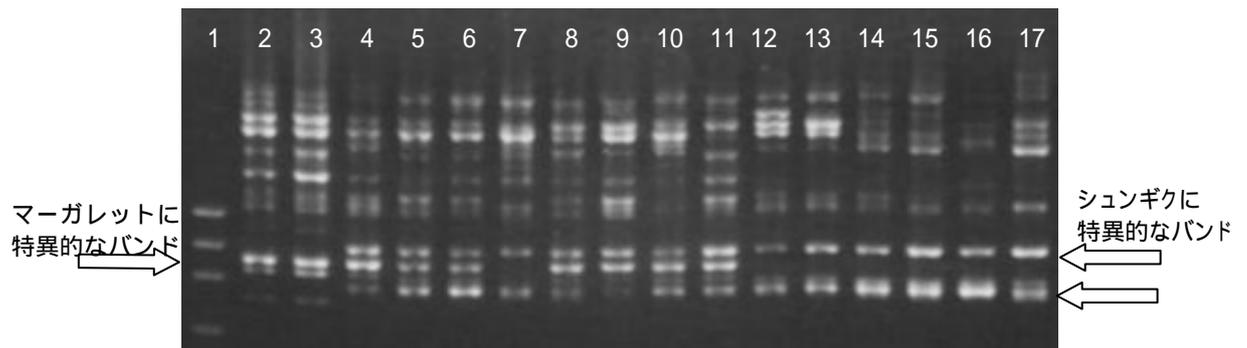
**第1表 供試プライマーの多型等調査結果(マーガレットとシュンギク)**

	プライマー数
供試	84
多型	73
高い視認性 <sup>Z)</sup>	14
安定性 <sup>Y)</sup>	2
安定性のあるプライマー名	A8、A15 <sup>X)</sup>

Z)肉眼で多型の判別が容易なプライマー名

Y)安定した多型が認められたプライマー名

X)A8の塩基配列:TTC GGA CGA ATA、A15の塩基配列:ATC GCG GAA TAT



第1図 プライマーA15を用いたRAPD法によるマーガレット‘97-30-5’、シュンギク、属間雑種の多型

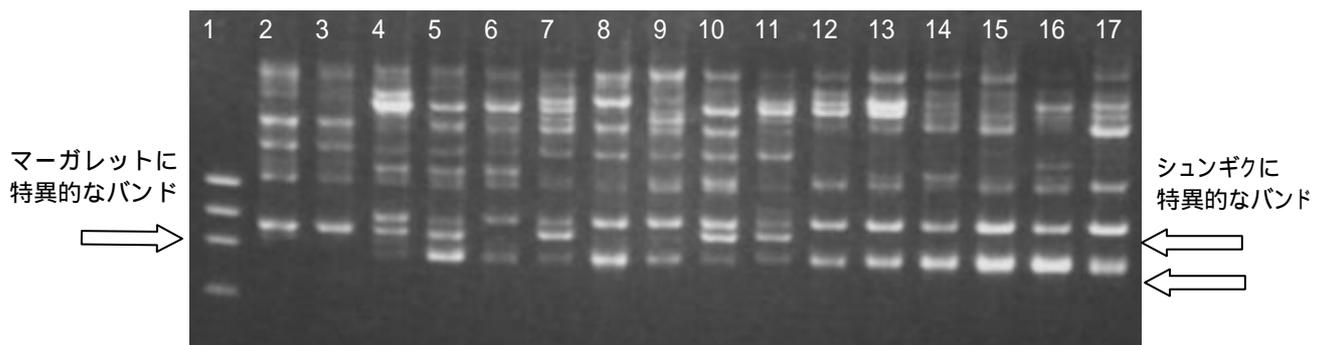
レーン1: 174/Hae マーカー、レーン2、3<sup>Z)</sup>: マーガレット‘97-30-5’

レーン4、5、6、7、8、9、10、11:順に属間雑種‘00-138-1’、‘00-141-1’、‘00-142-1’、‘00-189-1’、  
‘00-190-1’、‘00-191-1’、‘00-199-1’、‘99-124-1’

レーン12、13<sup>Z)</sup>: 中葉シュンギク‘農試実生’、レーン14、15<sup>Z)</sup>: 中葉シュンギク‘きわめ’

レーン16、17<sup>Z)</sup>: 中葉シュンギク‘さとゆたか’

Z)複数レーンは異なる個体を調査した。



第2図 プライマーA15を用いたRAPD法によるマーガレット‘97-31-1’、シュンギク、属間雑種の多型

レーン1: 174/Hae マーカー、レーン2、3<sup>Z)</sup>: マーガレット‘97-31-1’

レーン4、5、6、7、8、9、10、11:順に属間雑種‘00-144-1’、‘00-144-2’、‘00-144-3’、‘00-144-4’、  
‘00-145-1’、‘00-145-2’、‘00-145-3’、‘00-217-1’

レーン12、13<sup>Z)</sup>: 中葉シュンギク‘農試実生’、レーン14、15<sup>Z)</sup>: 中葉シュンギク‘きわめ’

レーン16、17<sup>Z)</sup>: 中葉シュンギク‘さとゆたか’

Z)複数レーンは異なる個体を調査した

研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術育種技術および効率化技術の開発  
放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究  
無菌培養苗の高温ストレスと耐暑性、早期開花性、連続開花性との関係

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006年度（平成14～18年度）

## 1. 目的

マーガレットは夏の高温で花芽分化が抑制されるため夏の高温期にも連続して開花する品種や初秋期に開花する極早生品種が少ない。そこで、耐暑性が高い個体の早期選抜手法として、無菌培養苗を用いて試験管内で高温ストレスを与え、高温ストレスの品種別反応を明らかにし、早期選抜法を開発するための基礎資料を得る。

## 2. 方法

(1) 供試材料：無菌培養苗（MS+0.2mg/IIAA+30g/l ショ糖+2.5g/IG.Gum、18mm径試験管）

試験 1. 在来白系マーガレット：‘在来白’（対照）、‘アーリーホワイト’（早生、対照よりやや耐暑性有、在来白の選抜系統）、‘伊豆マグ 85’（対照よりやや耐暑性有）、‘スターライトリップル’（早生、対照より耐暑性有、在来白のX線育種系統）

試験 2. 桃色系マーガレットとハナワギクの属間雑種：‘00-154-1’（極早生、耐暑性有、夏期連続開花性有）、‘00-235-1’（極早生、耐暑性有、夏期連続開花性有）、‘クインミス’（極早生、耐暑性有、夏期連続開花性有）

桃色系マーガレット：‘97-30-5’（中生）、‘97-31-1’（中生）

近縁属：‘ハナワギク’（中生、耐暑性有）、‘シュンギク’（晩生、耐暑性有）

試験 3. 黄色系マーガレット：在来黄（晩生、耐暑性無）、‘*Argyranthemum maderence*’（極晩生、耐暑性無）

(2) 試験構成：1区10穂、3反復。37.5℃、16時間照明（照度1,600lx）、13日間処理。

(3) 調査方法：2003年8月～10月に圃場から採穂し試験管へ挿し芽し、2回以上継代した。‘ハナワギク’と‘シュンギク’は挿し芽培養が困難なため、無菌播種した培養苗を使用した。温度処理開始時は1穂5葉に調整し、試験管あたり1穂ずつ挿し芽。2004年1月～2月37.5℃の恒温器内で培養管理し、経時的に生存率、高温障害の発生を調査した。

## 3. 結果の概要

（前年度までの結果）：In vitroでの高温耐性個体の選抜では、37.5℃で3日間処理し、生存個体の中から高温障害の軽微な個体を選抜する方法がよいと考えられた。

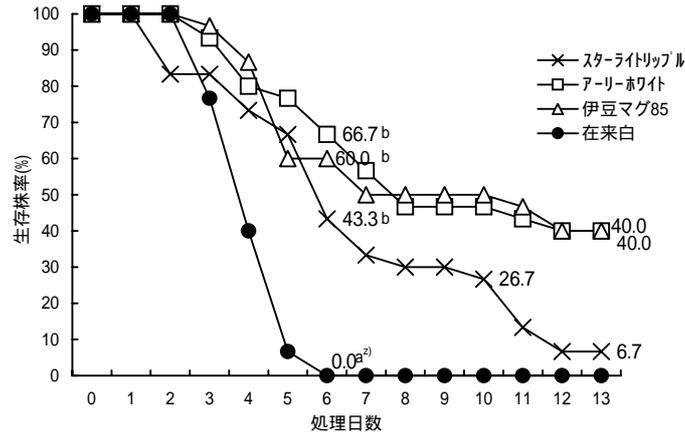
(1) 試験1の在来白系の処理日数と生存株率は、‘在来白’が6日目で全株枯死したのに対し、他の3品種は40%以上の生存率であった（第1図）。‘アーリーホワイト’、‘スターライトリップル’は、‘在来白’からの選抜系統であるため、37.5℃、6日間の温度処理により、耐暑性のある突然変異個体の選抜に利用できる可能性が示唆された。

(2) 試験2のマーガレットとハナワギクの属間雑種、桃色系マーガレットおよび近縁属の処理日数と生存株率は、耐暑性、夏期連続開花性のある属間雑種‘00-154-1’、‘00-235-1’、‘クインミス’が7日目で85%以上の高い生存率であった（第2図）。一方、属間雑種の親品種である‘97-31-1’、‘ハナワギク’は7日目には生存率が10%未満に低下した。近縁属のハナワギク、シュンギクは培養が困難な系統であると考えられ、耐暑性があるにもかかわらず7日目の生存率は低かった。

(3) 試験3のマーガレット黄色系の処理日数と生存株率は、‘在来黄’が11日目で40.0%であり、13日目で16.7%であった。‘*Argyranthemum maderence*’は2日目から急激に生存率が減少し、7日目に全株枯死した（第3図）。

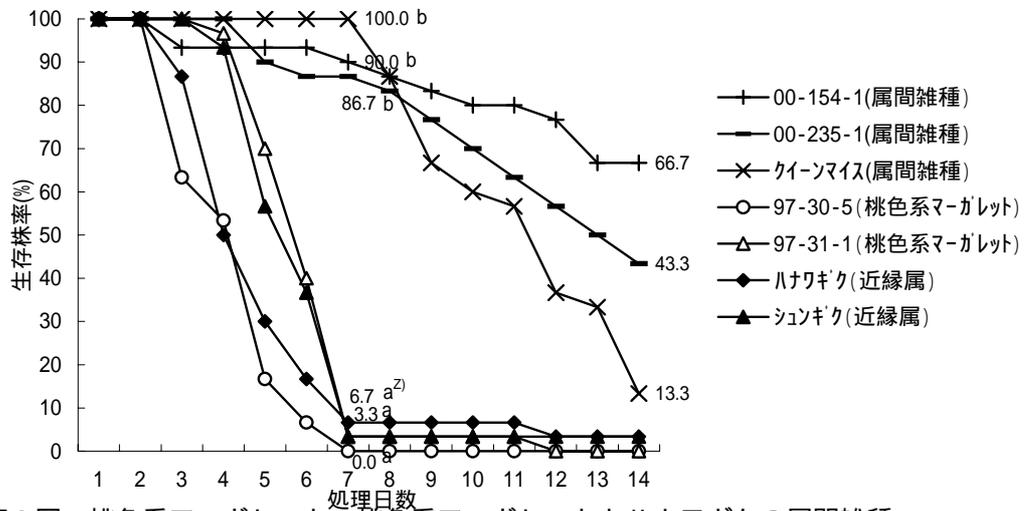
(4) 本試験では、耐暑性があり、早生性で、連続開花性のある品種は高温処理での生存率が高くなる傾向が認められ、中でも処理6～7日目の生存率は、顕著に差の現れる時期と考えられた。

以上の結果から、無菌培養苗の高温ストレスによる品種別反応は異なっており、37.5℃、6～7日間程度の高温処理における生存状況は、実際の栽培条件での耐暑性、早生性、連続開花性との関連が示唆された。



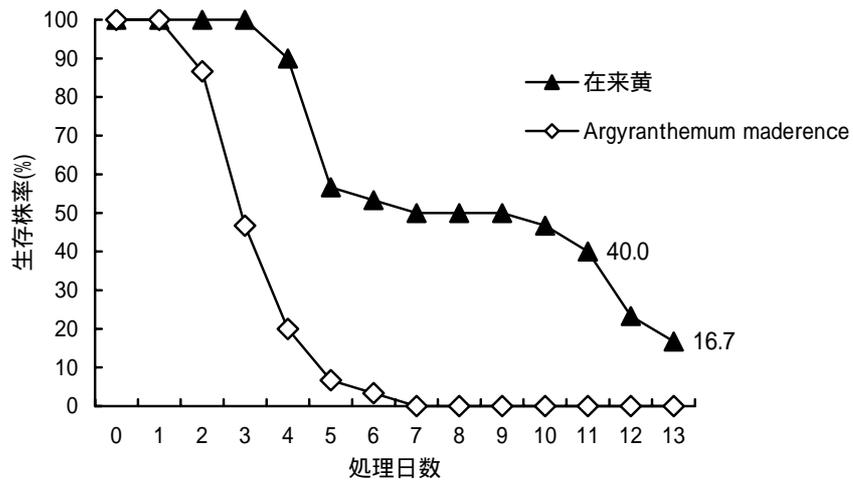
第1図 在来白系マーガレットの無菌培養苗の高温処理と生存株率 (試験1)

Z)同符号間は Tukey の検定 (5%水準) で有意差なし



第2図 桃色系マーガレット、桃色系マーガレットとハナワギクの属間雑種および近縁属の無菌培養苗の温度処理と生存株率 (試験2)

Z)同符号間は Tukey の検定 (5%水準) で有意差なし



第3図 黄色系マーガレット温度処理と生存株率 (試験3)

4. 今後の問題点と次年度以降の計画 育苗期の苗の高温ストレスによる品種別反応

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術育種技術および効率化技術の開発  
放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究

育苗時の高温ストレスと耐高温ストレス要因の検討

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：植田陽子、山田栄成

研究期間：継 2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

## 1. 目的

マーガレットは夏の高温で花芽分化が抑制されるため夏の高温期にも連続して開花する品種や初秋期に開花する極早生品種が少ない。そこで、耐暑性が高い個体の早期選抜手法として、育苗時に高温ストレスを与え、高温ストレスの品種別反応を明らかにし、早期選抜法を開発するための基礎資料を得る。

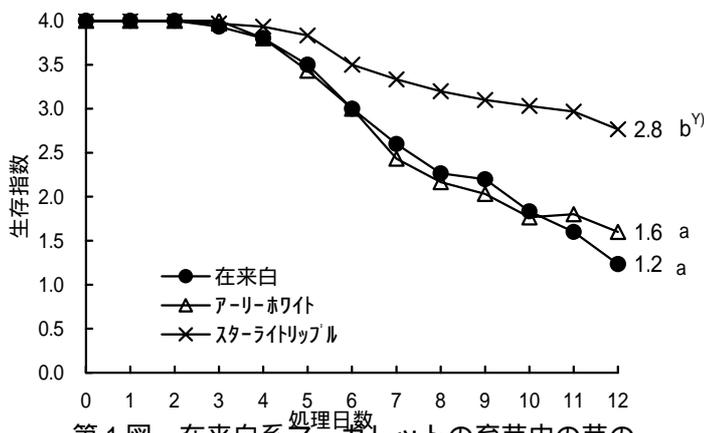
## 2. 方法

- (1) 供試材料：在来白系マーガレット：‘スターライトリップル’（早生、対照より耐暑性有、在来白のX線照射突然変異系統）、‘アーリーホワイト’（早生、対照よりやや耐暑性有、在来白の選抜系統）、‘在来白’（対照）
- (2) 試験構成：37.5℃ 1区10株、3反復。16時間照明（照度1,600lx）、12日間処理。
- (3) 調査方法：2004年9月～10月にバーミキュライトへ挿し芽し、10日後キノポットを詰めた3号鉢に鉢上げ。鉢上げ20日後37.5℃の恒温器内で管理し、経時的に生存指数、高温障害の発生、葉面温度、吸水量（水分減少量を補水し、吸水量とした）を調査した。調査終了後に草丈、株張り、乾物重、根長、気孔数、葉の厚さを調査した。

## 3. 結果の概要

- （前年度までの結果）：In vitro で37.5℃、6日間程度の高温処理における生存率の状況は、実際の栽培条件での耐暑性、早生性、連続開花性との関連が示唆された。
- (1) 処理日数と生存指数は、‘在来白’、‘アーリーホワイト’が処理4日目から徐々に低下し、処理12日目にはそれぞれ1.2、1.6であったのに対し、耐暑性のある‘スターライトリップル’は2.8と高かった（第1図、第2図、第3図）。各品種内の生存指数における個体間差は小さかった。
  - (2) 12日間の吸水量は、‘在来白’が最も多く、‘スターライトリップル’は少なかった（第1表）。
  - (3) 乾物重に差は見られなかったが、葉の乾物重は、‘在来白’が最も重く、次いで‘アーリーホワイト’、‘スターライトリップル’の順に重かった（第2表）。根の乾物重は‘アーリーホワイト’が最も重く、次いで‘在来白’、‘スターライトリップル’の順に重かった。草丈および株張りの減少量、根の長さ、気孔数に差はなかった。
  - (4) 葉面温度は、品種による差は認められなかった（第3表）。
  - (5) 葉の厚さは、品種による差は認められなかった（第4表）。

以上の結果から、育苗期の苗の高温ストレスによる品種別反応は異なっており、37.5℃、12日間程度の高温処理における生存状況は、実際の栽培条件での耐暑性との関連が高いことが示唆された。また、耐暑性のある‘スターライトリップル’は吸水量が少ないことが明らかとなった。



第1図 在来白系マーガレットの育苗中の苗の高温処理と生存指数<sup>Z)</sup>

Z)生存指数は以下のように指標化した  
4:健全, 3:葉先少し枯れ, 2:基だしい枯れ, 1:瀕死, 0:枯死  
(n=10, 3反復、平均値)

Y)同符号間は Tukey の検定(5%水準)で有意差なし



第3図 在来白系マーガレットの育苗中の苗の高温処理と生存状況(処理12日後)

Z)数字は生存指数



第2図 在来白系マーガレットの育苗中の苗の高温処理における生存指数の基準<sup>Z)</sup>

Z)左上から4:健全, 3:葉先少し枯れ  
左下から2:基だしい枯れ, 1:瀕死, 0:株の枯死

第1表 マーガレット育苗中の苗の高温処理<sup>Z)</sup>による1株あたりの吸水量<sup>Y)</sup>

品種	吸水量(ml)
在来白	466 b
アーリーホワイト	456 ab
スターライトトリプル	412 a
分散分析 <sup>X)</sup>	**

Z)挿し芽1ヶ月後に37.5 恒温器で12日間処理した。  
Y)37.5 高温処理1日目~12日目までの吸水量。  
n=10, 3反復の平均値。水分減少量を補水し、吸水量とした。  
X)\*\*:1%で有意差あり。  
同符号間はTukeyの検定(5%水準)で有意差なし。

第2表 マーガレット育苗中の苗の高温処理<sup>Z)</sup>による1株あたりの吸水量、生育、乾物重、気孔数

品種	調査可能株数 <sup>Y)</sup>	草丈の減少量(cm)	株張りの減少量(cm)	根の長さ(cm)	乾物重 <sup>X)</sup> (mg)	葉の乾物重(mg)	根の乾物重(mg)	気孔数 <sup>W)</sup> (個/100um <sup>2</sup> )
在来白	7.3	-2.0	-0.5	3.68	290.4	225.2 b	32.2 ab	49.4
アーリーホワイト	7.7	-1.9	-1.0	3.95	294.0	188.3 ab	49.7 b	53.9
スターライトトリプル	9.3	-0.6	-0.4	3.46	217.6	144.7 a	28.2 a	53.1
分散分析 <sup>V)</sup>		ns	ns	ns	ns	**	*	ns

Z)挿し芽1ヶ月後に37.5 恒温器で12日間処理した。  
Y)高温処理12日後に生存し、調査可能な1系統あたりの平均株数,3反復。  
X)乾物重=葉の乾物重+根の乾物重+茎の乾物重  
W)100um<sup>2</sup>あたりの平均気孔数。  
V)ns:有意差なし, \*, \*\*:それぞれ5%,1%で有意差あり, 同符号間はTukeyの検定(5%水準)で有意差なし。

第3表 マーガレット育苗中の苗の高温処理<sup>Z)</sup>による1株あたりの葉面温度<sup>Y)</sup>

品種	葉面温度( )
在来白	31.4
アーリーホワイト	30.2
スターライトトリプル	30.0
分散分析 <sup>X)</sup>	ns

Z)挿し芽1ヶ月後に37.5 恒温器で12日間処理した。  
Y)37.5 高温処理1日目~12日目までの平均葉面温度。  
n=10, 3反復の平均値。  
X)ns:有意差なし

第4表 マーガレット育苗中の苗の高温処理<sup>Z)</sup>による1株あたりの葉の厚さ<sup>Y)</sup>

品種	調査数	葉の厚さ(mm)
在来白	15	0.50
アーリーホワイト	15	0.50
スターライトトリプル	15	0.44
分散分析 <sup>X)</sup>		ns

Z)挿し芽1ヶ月後に37.5 恒温器で12日間処理した。  
Y)処理12日後の調査, 1系統5株3葉調査。  
X)ns:有意差なし

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画 圃場における品種別の耐暑性調査

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術および効率化技術の開発に関する研究  
放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究

LED がキクの花色変異品種の茎片培養に及ぼす影響と花色変異選抜方法の検討

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：山田栄成、植田陽子

協力分担：JA とびあ浜松スプレーギク部会

研究期間：継 2002～2006 年度（平成 14～18 年度）  
-----

## 1. 目的

放射線を利用した突然変異育種では、効率的な選抜方法の開発が重要である。LED は耐久性が長く特定の波長を発光する光源で、カロチノイド等の花色成分の識別に利用可能である。ここでは、LED 光源がキクの花色変異品種等の茎片培養に及ぼす影響を明らかにし、花色変異個体の選抜に利用可能か検討する。

## 2. 方法

(1) 供試品種 ‘ドリームナース’ (白)、‘黄ドリームナース’ (黄)、‘ドリームピンク’ (桃)

(2) 試験構成 要因 水準

光源：Eyela 社製 青 LED (470nm、LED-B)、赤 LED (660nm、LED-R)、  
近赤外 LED (740nm、LED-FR)、蛍光灯 (対照 1700Lux、距離約 32cm)

供試品種：‘ドリームナース’、‘黄ドリームナース’、‘ドリームピンク’

(3) 試験規模 1 区 16 切片、3 反復

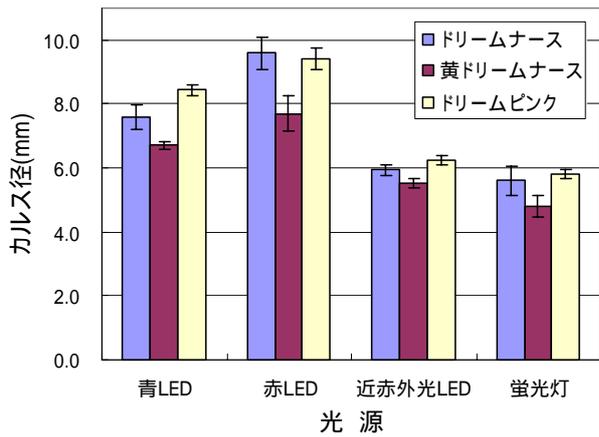
(4) 調査方法 2004 年 5 月 13 日に茎頂培養株の茎片を約 1mm 幅に横断し、1mg/l の NAA と 1mg/l の BA を添加した MS 培地を約 20ml 分注した 90mm シャーレに 16 切片ずつ置床した。置床直後から出力を最大に設定した各 LED をシャーレから 10cm の距離で 16 時間照明し、6 月 28 日にカルス径、アントシアン発現、褐変、再分化切片率を調査した。なお、培養は全期間 25 で行った。

## 3. 結果の概要

(前年度までの結果) なし

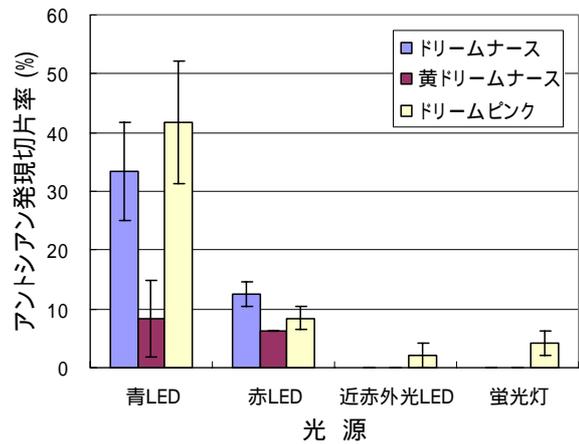
- (1) 全供試品種の切片でカルスを形成した。カルス径は、赤 LED が最も大きくなり、蛍光灯及び近赤外 LED が小さく、全供試品種で同様な傾向が認められた(第 1 図)。
- (2) カルスの色は、近赤外 LED が最も淡くクリーム色であった。続いて赤、青 LED と緑色を呈し、蛍光灯が最も濃い緑色であった(第 5 図)。
- (3) 一部の切片でアントシアンの発現が認められたため、第 2 図にその割合を示した。アントシアンは、‘ドリームナース、ドリームピンク’の切片で多く発現していた。光源では、青 LED と赤 LED で高い傾向が認められた。
- (4) また、切片の褐変化は、アントシアンの発現と同様に、‘ドリームナース、ドリームピンク’の切片で、光源では青 LED と赤 LED を照射した場合に高率で認められた(第 3 図)。一方、‘黄ドリームナース’はアントシアンの発現、褐変化がともに少ない傾向であった。
- (5) 茎葉の再分化率では、蛍光灯が他の光源よりも有意に高かった(第 4 図)。

以上より、本試験で供試した LED 光源は、供試した品種の再分化切片率で蛍光灯に優るものはなかった。しかし、青 LED や赤 LED がカルス肥大や切片のアントシアン発現・褐変に影響を及ぼし、かつ、これらの影響が供試した品種の花色によって異なることが明らかになったことより、得られた花色等の突然変異体の培養条件下での選抜に利用できる可能性が示唆された。



第1図 光源とキク茎片のカルス径

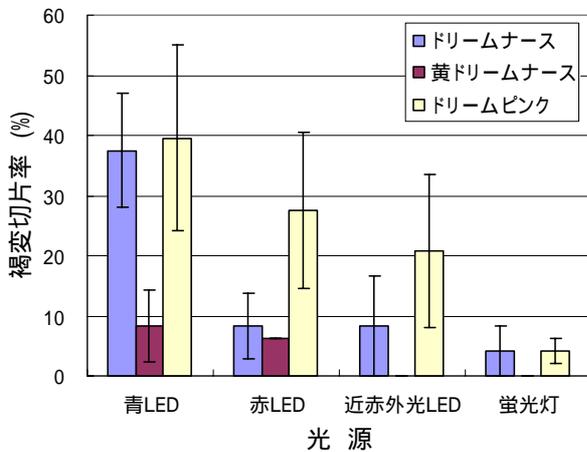
平均値 ± 標準誤差



第2図 光源とキク茎片のアントシアン発現切片率<sup>1)</sup>

1) アントシアン発現切片率:カルス形成切片当たりのアントシアン発現切片数の百分率

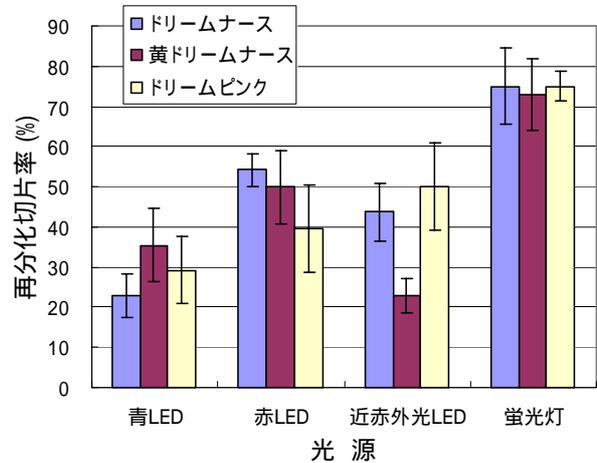
平均値 ± 標準誤差



第3図 光源とキク茎片の褐変切片率<sup>1)</sup>

1) 褐色切片率:カルス形成切片当たりの褐色切片数の百分率

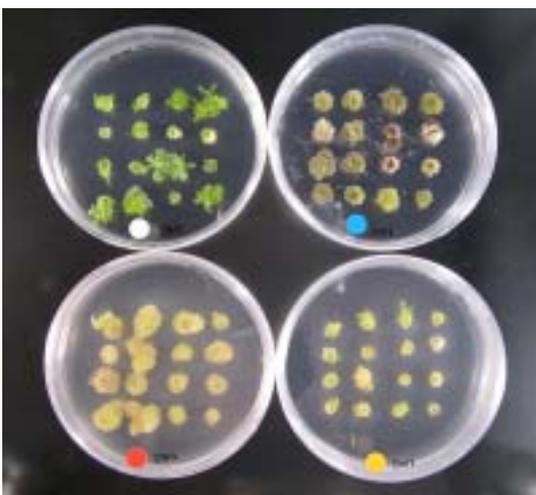
平均値 ± 標準誤差



第4図 光源とキク茎片の再分化切片率<sup>1)</sup>

1) 褐色切片率:カルス形成切片当たりの茎葉再分化切片数の百分率

平均値 ± 標準誤差



第5図 光源とキクの茎片培養 (培養45日後)

上左: 蛍光灯  
 上右: 青LED  
 下左: 赤LED  
 下右: 近赤外LED

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- ・次年度以降の具体的な計画 花色変異等の選抜方法の検討

研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術および効率化技術の開発に関する研究  
放射線と組織培養を利用した効率的突然変異育種法の開発研究  
X線の照射時期と照射量が生育及び突然変異率に及ぼす影響

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究、園芸部・花き研究

担当者名：山田栄成、植田陽子、寺田吉徳

協力分担：JA とぴあ浜松スプレーギク部会

研究期間：継 2002～2006年度（平成14～18年度）

## 1. 目的

放射線を利用した突然変異育種における効率的な育種方法の開発を行う。ここでは、スプレーギク品種の花色変異、少花粉系統を作出するために、X線の照射時期と照射量が生育及び突然変異率に及ぼす影響を検討する。

## 2. 方法

(1) 試験場所 場内温室(A-6)

(2) 供試系統 目標 系統名

花色変異 ‘ドリームナース’、‘01-DS08’（‘ドリームナース’極小輪系統）

少花粉 ‘99SH11’

(3) 試験構成 対照：無照射区（0区）

10+0区	親株 10Gy 照射	20+0区	親株 20Gy 照射
5+5区	親株、定植苗ともに 5Gy 照射	10+10区	親株、定植苗ともに 10Gy 照射
0+10区	定植苗 10Gy 照射	0+20区	定植苗 20Gy 照射

(4) 試験規模 1区 20株、反復なし

(5) 調査方法 2003年4月20日に親株挿し芽、5月9日X線照射、5月10日親株定植した。5月24日と6月17日に2回摘心した後、7月13日に挿し芽、8月4日にX線を照射、8月5日に定植、8月18日に摘心、9月15日に電照を打切った。電照は、挿し芽時から深夜4時間の暗期中断処理。11月19日に開花時草丈、節数、突然変異率を調査した。栽植密度は、株間18cm、条間40cm、2条植え。施肥は、摘心後および摘心1ヶ月後に配合肥料(5:5:5)を窒素分量で30kg/10a行った。

## 3. 結果の概要

（前年度までの結果）ハナイソギクとスプレーギクとの雑種系統への照射線量により花粉の直径等に影響を与えることが明らかになったが、花粉の少ない系統は得られなかった。

(1) ‘ドリームナース’と‘01-DS08’は、20GyのX線を親株へ照射することにより、採穂可能な本数が減少した（第1図）。これは、20Gyの照射により、成長が停止する個体が増加するためと考えられた（第2図）。一方、‘99SH11’は、無照射でも採穂できる本数が少なく、X線照射による減少は小さかった。

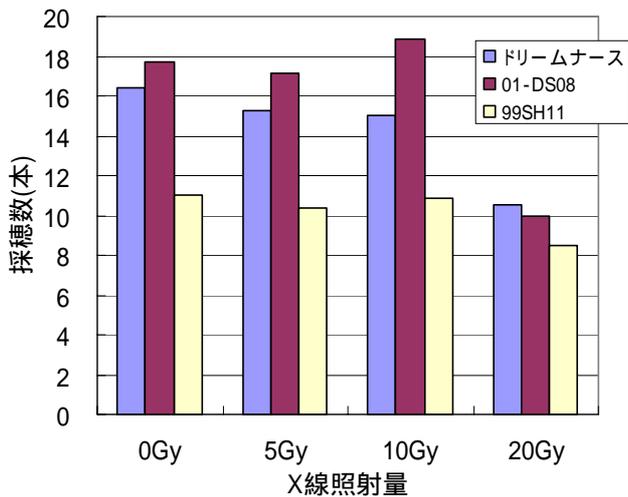
(2) 開花時の草丈は、全ての品種で、定植苗に20GyのX線を照射した区が小さかった（第3図）。

(3) 一方、開花時の節数は、放射線の照射時期や照射量の影響が明らかではなかった（第4図）。これは、X線照射により、草丈が伸びずに節数が増加する個体が出現したことが原因として考えられた。

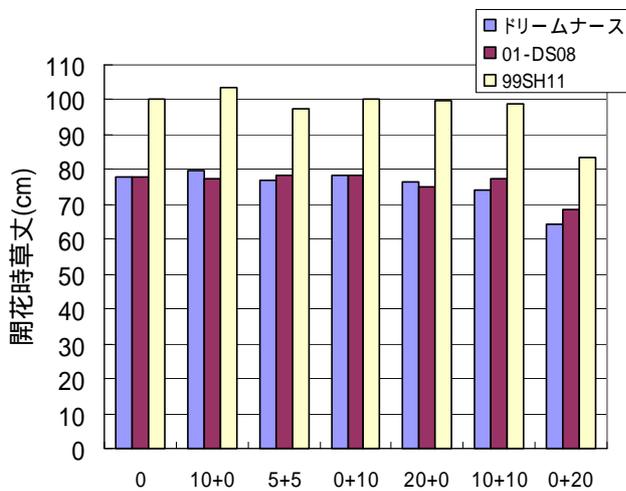
(4) ‘ドリームナース’と‘01-DS08’では、花色が黄色とクリーム色に変異した個体を得られた。X線照射量と花色変異株数には明確な差はなく、定植苗に照射した区で、変異株数が多く、また、変異した部分が小さい傾向が認められた（第5,6図）。

(5) ‘99SH11’では、目的とした少花粉系統は得られず、橙色に変異した花色変異系統が2個体得られた（データ省略）。

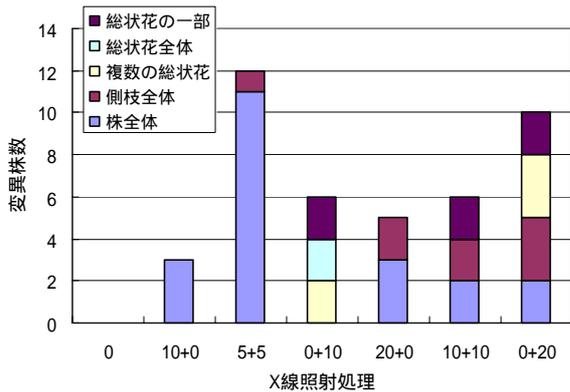
以上より、X線の照射は、一度に当てる照射量が10Gy以下であれば、親株の萌芽性、草丈等の生育に影響を及ぼさないことが明らかになった。また、定植苗に照射した区では、変異株数が多いものの、変異した部分が小さい傾向が認められた。



第1図 親株へのX線照射量と採穂数  
2回摘心後、挿し芽時(7月13日)調査



第3図 X線照射量・時期と開花時草丈  
0:無照射、10+0:親株 10Gy 照射、5+5:親株、定植苗 5Gy 照射、0+10:定植苗 10Gy 照射、20+0:親株 20Gy 照射、

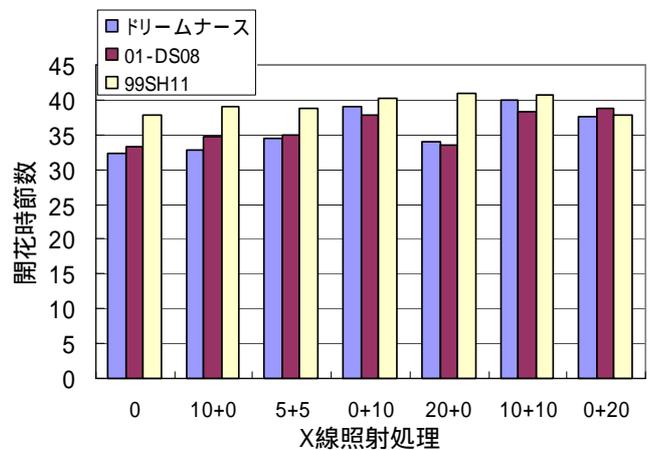


第5図 X線照射量・時期と'Dream Nares'の変異株数(供試株数 20株)

0:無照射、10+0:親株 10Gy 照射、5+5:親株、定植苗 5Gy 照射、0+10:定植苗 10Gy 照射、20+0:親株 20Gy 照射、10+10:親株、定植苗 10Gy 照射、0+20:定植苗 20Gy 照射

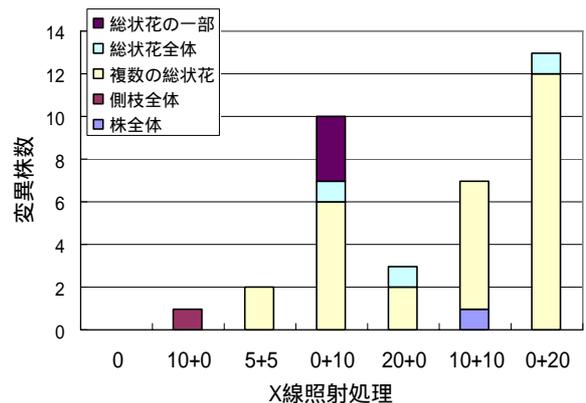


第2図 X線 20Gy を照射した個体の萌芽性  
摘心 20日後(9月6日)撮影



第4図 X線照射量・時期と開花時節数

0:無照射、10+0:親株 10Gy 照射、5+5:親株、定植苗 5Gy 照射、0+10:定植苗 10Gy 照射、20+0:親株 20Gy 照射、10+10:親株、定植苗 10Gy 照射、0+20:定植苗 20Gy 照射



第6図 X線照射量・時期と'01-DS08'の変異株数(供試株数 20株)

0:無照射、10+0:親株 10Gy 照射、5+5:親株、定植苗 5Gy 照射、0+10:定植苗 10Gy 照射、20+0:親株 20Gy 照射、10+10:親株、定植苗 10Gy 照射、0+20:定植苗 20Gy 照射

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

#### 挿し穂への効率的な変異誘起方法の検討

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの育種技術および効率化技術の開発に関する研究  
放射線を利用した交雑不親和性打破技術の開発  
ササユリ×タカサゴユリの雑種判定方法

担当部署：静岡農試・生物工学部・生物工学育種研究

担当者名：山田栄成、植田陽子

研究期間：継 2002～2006 年度（平成 14～18 年度）  
-----

## 1. 目的

至花年数の短いササユリタイプの品種作出を行うためにササユリを母本としてタカサゴユリを交配する。しかし、ササユリを母本とした場合は、稔性が低く雑種作出が困難である。ここでは、交配により得られた胚培養由来・実生個体の雑種判定方法について検討する。

## 2. 方法

### 【試験 1】 フローサイトメーターによる雑種判定方法

(1) 供試材料 タカサゴユリ、ササユリ 各 3 個体の葉片

(2) 調査方法 2004 年 6 月 15 日に、タカサゴユリ約 3cm<sup>2</sup>、ササユリ 1cm<sup>2</sup>を Partec 社製 A 液中で細刻し、5 分後に B 液で染色後、フローサイトメーター（Partech 社製 PA）で蛍光強度を測定した。

### 【試験 2】 RAPD 法による雑種判定方法

(1) 供試材料 タカサゴユリ 6 個体、ササユリ 2 個体の葉片

(2) 調査方法 2004 年 6 月 17、18 日にタカサゴユリ約 120mg、ササユリ約 140mg の葉片を Mixer Mill でホモジナイズした後、改変 CTAB 法で DNA を抽出した。抽出した DNA を 72 種類の Bex Common Primer (A00～A71) を用いて PCR (92 1 分、40 1 分、72 2 分、40 サイクル) で増幅し、電気泳動で多型を確認した。

## 3. 結果の概要

（前年度までの結果）ササユリの花粉に X 線を 50Gy 照射し、タカサゴユリの花粉と混合受粉することにより、蒴花及び胚珠の肥大が確認できた。

(1) タカサゴユリの蛍光強度のピークは約 130 で、ササユリのピークは約 100 であった(第 1 図)。両親種のピークはそれぞれ比較的明瞭であったが、両親から作出した雑種を判別するためには、両者のピークが近いことからフローサイトメーターでは困難であると推定された。

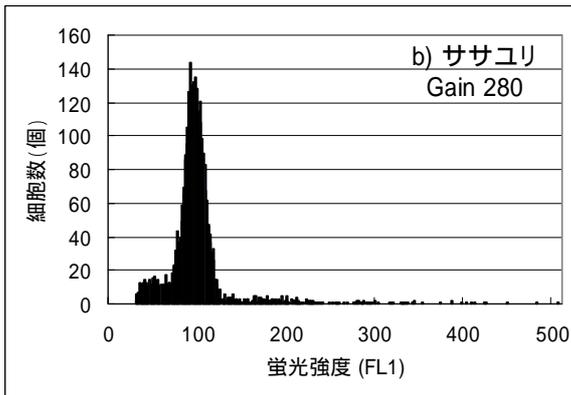
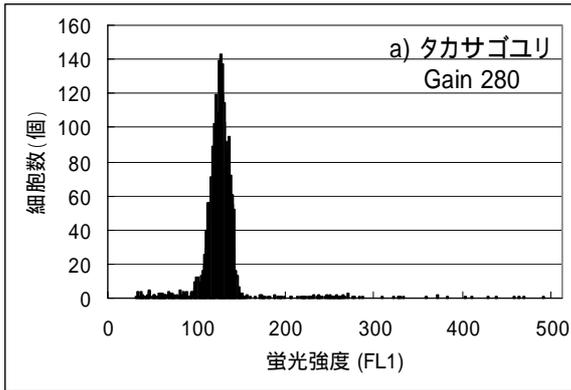
(2) 供試した 72 種類のプライマーの内、71 プライマーで多型が認められたため、両者は比較的遠縁であると考えられた(第 1 表)。

(3) 多型の認められた 71 プライマーの内、花粉親とするタカサゴユリに特異的なバンドを有し、かつ肉眼で多型の判別が容易なプライマーを 13 種類選定した。

(4) 選定した 13 プライマーを、2 回の DNA 抽出及び各個体間で特異的なバンドが安定して出現するかを確認したところ、第 1 表に示す 10 プライマーが安定していた。

(5) 安定して多型の認められた 10 プライマーの中から、2 プライマーを供試した場合の電気泳動像を示した(第 2 図)。

以上より、ササユリを種子親としタカサゴユリを花粉親とした交配雑種を判別するためには、両親の蛍光強度のピークが近いためにフローサイトメーターによる判別は困難であると考えられた。また、Bex Common Primer の A00、A06、A15、A21、A43、A45、A46、A60、A66、A69 の 10 種類のプライマーを用いて RAPD 法を行えば雑種の判別が可能であると考えられた。

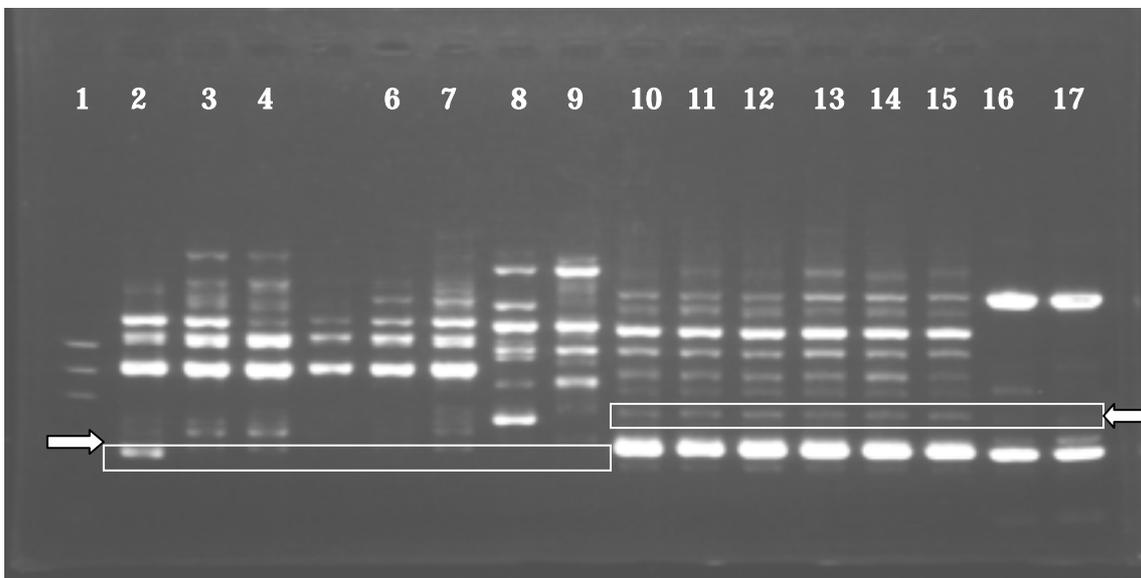


第1図 タカサゴユリ、ササユリの蛍光強度  
a)タカサゴユリ b)ササユリ

第1表 供試プライマーの多型等調査結果

プライマー数	
供試	72
多型	71
高い視認性 <sup>1)</sup>	13
安定性 <sup>2)</sup>	10
プライマー名	A00, A06, A15, A21, A43 A45, A46, A60, A66, A69

- 1)肉眼で多型の判別が容易なプライマー数  
2)2回のDNA抽出及び各個体間で安定した多型が認められたプライマー数



第2図 プライマー-A46 と A60 を用いた RAPD 法によるタカサゴユリ、ササユリの多型

レーン1: 174/Hae マーカー

レーン2~7:primer A46 タカサゴユリ個体1~6 レーン8~9:primer A46 ササユリ個体1~2

レーン10~15:primer A60 タカサゴユリ個体1~6 レーン16~17:primer A60 ササユリ個体1~2

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

- ・次年度以降の具体的な計画 交配数の増加と雑種獲得のための手法検討

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの新育種技術および効率化技術の開発に関する研究  
放射線を利用した有用突然変異個体作出技術の開発研究  
軟X線の急照射によるマーガレット突然変異個体の育成

担当部署：静岡農試・南伊豆分場

担当者名：稲葉善太郎、加藤智恵美

研究期間：新 2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

### 1. 目的

放射線の急照射は、新品種を育成する手法として有効であり、キク等では放射線の急照射により草姿、開花形態などの突然変異を誘発する。マーガレットでは、組織培養時や挿し穂等への軟X線急照射により突然変異誘発により‘スターライトリップル’や‘エンジェルマイルス’等の鉢物向け有望品種を育成した。そこで、切り花用品種育成のために挿し穂への軟X線照射について検討する。

### 2. 方法

- (1)試験場所 南伊豆分場フチュラ温室
- (2)供試品種 マーガレット育成系統‘01-8-9’（白花）
- (3)試験構成 挿し穂19本に軟X線300Gyを穂照射（2002年12月10日）し、12月12日に挿し穂した。育苗中に5本枯死した。2003年1月6日に鉢上げ、4月18日定植し、5月16日、6月19日、7月8日の3回摘心した。7月25日に1株から5～23本（合計189本）採穂して挿し穂し、8月30日に定植した。
- (4)栽培概要 定植間隔：株間25cm×条間50cm、2条植え  
施肥量：N0.8kg/a、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>0.9kg/a、K<sub>2</sub>O0.8kg/a（定植前に施用）
- (5)試験規模 1区17～43株、合計452株を全株調査
- (6)調査項目 草姿、開花形態、草丈等

### 3. 結果の概要

（前年度までの結果） 桃花育成系統‘00-15-3’に軟X線300Gyを穂照射して、鉢物・花壇用マーガレット‘エンジェルマイルス’を育成し、品種登録を出願するとともに現地に普及した。

- (1)軟X線照射により、77の変異個体が得られた。このうち19個体は株全体、58個体が枝単位の変異であり、枝単位の変異が多かった（第1表）。
- (2)草姿では、草丈が無照射よりも20cm以上低くなる矮化が5個体（2.6%）、欠刻が深い細葉が68個体（36.0%）であった（第1表、第5図）。
- (3)照射個体全体では年内開花株率は76.2%であった。花の形質の変異は、花径の小輪化（5個体、2.6%以下同じ）、花弁の奇形（5、2.6）、花弁数少（3、1.6）、無花粉（4、2.1）、花数増加（3、1.6）であった。花径が小輪となったものの中には、花弁数が減少するとともに無花粉となり、花型が全く異なった株もみられた（第1表、第4図）。
- (4)草丈は、無照射よりも低くなる傾向を示した（第1図）。開花日は、早くなるものと遅くなるものがあつた（第2図）。花径は、無照射よりも小さくなる傾向を示した（第3図）。
- (5)これらのうち、開花時期の前進、花数の増加、小輪化による花型の変異等の有用な形質を持つ、8個体を選抜した（第1表）。

以上の結果から、マーガレット育成系統‘01-8-9’への軟X線急照射により、有用な特性を持つ8個体を獲得し、系統名を付与した。育成系統‘01-8-9’では軟X線照射により有用な形質の獲得が可能であることが明らかとなった。しかし、今回の試験では、同様の手法で育成した‘エンジェルマイルス’の育成時よりも有用突然変異の獲得率が低くなる傾向を示した。これは、放射線に対する感受性の系統間差によるものと推察された。選抜した8系統については、切り花用途を目標に生育特性を調査するとともに、現地適応性について検討する。

第1表 軟X線を急照射したマーガレットにおける形態的変異の発生と選抜結果<sup>Z</sup>

個体	変異程度 <sup>Y</sup>				草姿 <sup>X</sup>		年内開花 個体数	年内開花率 (%)	花の形質 <sup>W</sup>						選抜 個体数	系統名
	供試 本数	株全体	枝単位	合計	矮化	細葉			小輪化	花色の変異	花弁奇形	花弁数少	無花粉	花数増加		
0189-1	15	4	3	7	0	5	13	86.7	0	0	0	0	0	2	2	0189-1-1~2
0189-2	18	1	3	4	0	3	17	94.4	0	0	0	0	0	0	0	
0189-3	16	1	8	9	0	15	16	100.0	0	0	1	0	0	0	0	
0189-4	11	0	1	1	0	1	8	72.7	0	0	0	0	0	0	0	
0189-5	8	0	8	8	0	8	8	100.0	0	0	1	0	0	0	0	
0189-6	7	0	0	0	0	0	7	100.0	0	0	0	0	0	0	0	
0189-7	9	0	0	0	0	0	9	100.0	0	0	0	0	0	0	0	
0189-8	14	0	9	9	0	9	10	71.4	0	0	0	0	0	0	0	
0189-9	23	0	23	23	0	23	6	26.1	0	0	1	0	0	0	0	
0189-10	5	1	1	2	0	1	5	100.0	0	0	0	0	0	0	0	
0189-11	16	8	0	8	3	0	11	68.8	3	0	0	3	3	1	5	0189-11-1~5
0189-12	20	3	0	3	2	1	18	90.0	2	0	0	0	1	0	1	0189-12-1
0189-13	12	0	2	2	0	1	7	58.3	0	0	2	0	0	0	0	
0189-14	15	1	0	1	0	1	9	60.0	0	0	0	0	0	0	0	
合計株数	189	19	58	77	5	68	144	76.2	5	0	5	3	4	3	8	
変異株率	-	10.1	30.7	40.7	2.6	36	76.2	-	2.6	0.0	2.6	1.6	2.1	1.6	4.2	

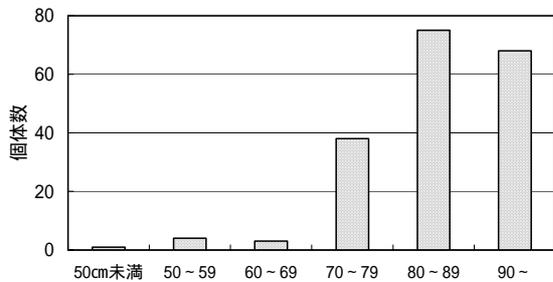
<sup>Z</sup> 供試系統：'01-8-9' (白花)、照射線源：軟X線300Gy (穩照射)

<sup>Y</sup> 株全体：株全体に変異がみられる、枝単位：枝単位で変異がみられる

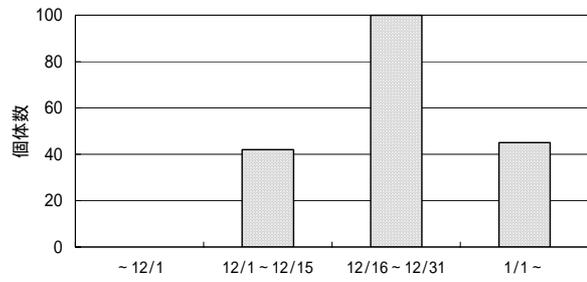
<sup>X</sup> 矮化：草丈がおおむね60cm以下となったもの (無照射の草丈90±6cm、細葉：葉片幅が細く、欠刻が深くなったもの)

<sup>W</sup> 小輪化：元品種の花径10~15mm減少

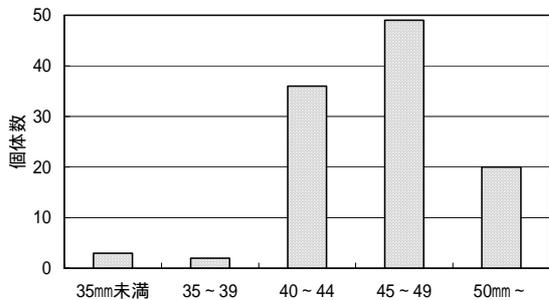
花弁奇形：花弁の奇形、花弁数少：花弁数減少、無花粉：花粉が出ない、花数増加：スプレー性の改善、1花茎あたりの着らい数増加



第1図 照射個体の草丈の分布



第2図 照射個体の開花日の分布



第3図 照射個体の花径の分布

(参考)

01-8-9 (元系統) の同一温室における生育状況

草丈：95 ± 5 cm

開花日：12/17 ± 2

花径：51.5 ± 2.5mm



第4図 軟X線照射が花の形質に及ぼす影響



第5図 軟X線照射が葉の形質に及ぼす影響

4. 今後の問題点と次年度以降の計画  
 試験研究推進上の残された問題点  
 必要な協力関係  
 次年度以降の具体的計画

変異の安定性確認、現地適応性の検討が必要である  
 伊豆農林事務所、J A 伊豆太陽、静岡県花卉連  
 選抜系統の切り花用途における現地適応性を検討する

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの新育種技術および効率化技術の開発に関する研究  
放射線を利用した有用突然変異個体作出技術の開発研究

軟X線の急照射によるマーガレット突然変異有望系統の生育特性と選抜

担当部署：静岡農試・南伊豆分場

担当者名：稲葉善太郎、加藤智恵美

研究期間：新 2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

### 1. 目的

放射線の急照射は、新品種を育成する手法として有効であり、キク等では放射線の急照射により草姿、開花形態などの突然変異を誘発する。マーガレットでは、組織培養時や挿し穂等への軟X線急照射により突然変異誘発により‘スターライトリップル’や‘エンジェルマウス’等の鉢物向け有望品種を育成した。そこで、切り花用品種育成のために挿し穂への軟X線照射により育成した系統の生育特性をを検討する。

### 2. 方法

- (1)試験場所 南伊豆分場フチュラ温室
- (2)供試品種 マーガレット育成系統‘01-8-9’（白花）から育成した8系統  
対照品種は‘在来白’、‘アーリーホワイト’
- (3)栽培概要 挿し芽 2004年7月15日、定植 8月4日、摘心 8月13日。
- (4)栽培概要 定植間隔：株間25cm×条間50cm、2条植え  
施肥量：N0.8kg/a、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>0.9kg/a、K<sub>2</sub>O0.8kg/a（定植前に施用）
- (5)試験規模 1品種14株定植して全株調査
- (6)調査項目 草丈、葉身幅、葉身長、葉柄長、開花日、花径、開花形態等

### 3. 結果の概要

（前年度までの結果） 白花育成系統‘01-8-9’に軟X線300Gyを穂照射し、有用な特性を持つ8個体を獲得し、系統名を付与した。

- (1)獲得系統の形質は安定しており、草姿等の形態的にキメラ性はみられなかった。
- (2)開花時期は、‘0189-1-1’、‘0189-1-2’、‘0189-11-5’が‘01-8-9’より早かった。これは、昨年度の個体選抜の結果とおおむね同等であった。
- (3)花径は、‘0189-1-1’、‘0189-1-2’、‘0189-11-5’が‘01-8-9’と同等か大きめで、‘0189-11-2’、‘0189-11-3’、‘0189-11-4’は‘01-8-9’より10mm程度小さかった。
- (4)草丈は、‘0189-11-2’、‘0189-11-3’、‘0189-11-4’が‘01-8-9’よりも低かったほかは大きな差はみられなかった。
- (5)葉の形質は、‘0189-11-3’、‘0189-11-4’が小さめになった。‘0189-1-1’は、観察では‘01-8-9’より小さめの葉になったが、測定結果では大きな差はみられなかった。
- (6)これ以外の形質では、‘0189-11-2’、‘0189-11-3’、‘0189-11-4’の3系統は花粉の飛散がみられなかった。
- (7)また、変異系統の開花時期は‘アーリーホワイト’より遅いが、‘在来白’と同時期かやや早く開花するものが多かった。特に‘0189-1-1’は花径も供試系統中最も大きく、有望と考えられた。
- (8)これ以外では、開花の早かった‘0189-1-2’、花粉の飛散しない小輪系の‘0189-11-3’、‘0189-11-4’が今後の育種素材等として利用できる可能性がある。

以上の結果から、マーガレット育成系統‘01-8-9’への軟X線急照射により得られた、8系統から開花が‘在来白’より早く、花径の大きい‘0189-1-1’を有望系統として選抜した。本系統は、切り花用として有望と考えられるので、育成系統候補‘伊豆21号’として品種登録に向けた特性調査を実施する。

第1表 マーガレットの軟X線照射による変異個体の生育特性<sup>z</sup>

系統名	開花日	花径	草丈	葉身幅	葉身長	葉柄長	選抜 <sup>y</sup>
0189-1-1	11月11日 ± 11	49.4 ± 1.5	59.8 ± 3.3	78.6 ± 6.7	73.9 ± 5.5	43.1 ± 7.6	
0189-1-2	11月10日 ± 8	46.2 ± 1.8	60.7 ± 5.0	82.1 ± 5.7	84.2 ± 13.3	47.4 ± 4.8	
0189-11-1	11月20日 ± 1	41.2 ± 2.7	60.6 ± 2.7	81.3 ± 10.5	80.2 ± 13.3	45.0 ± 5.5	×
0189-11-2	11月30日 ± 1	30.5 ± 2.1	48.3 ± 5.9	75.9 ± 7.9	72.9 ± 6.7	45.0 ± 5.5	×
0189-11-3	11月17日 ± 8	32.8 ± 1.7	55.1 ± 5.6	69.7 ± 5.5	67.9 ± 8.3	43.1 ± 9.0	
0189-11-4	11月21日 ± 3	35.0 ± 1.4	46.1 ± 9.7	73.5 ± 7.7	65.9 ± 10.0	44.9 ± 9.5	
0189-11-5	11月8日 ± 16	45.0 ± 1.6	64.6 ± 6.6	84.7 ± 5.5	70.8 ± 5.3	46.9 ± 3.5	×
0189-12-1	11月18日 ± 4	40.9 ± 1.9	63.9 ± 4.3	76.5 ± 5.3	71.9 ± 5.7	39.4 ± 7.5	×
01-8-9	11月21日 ± 7	44.9 ± 1.3	60.6 ± 3.9	85.9 ± 5.6	79.3 ± 8.9	46.4 ± 7.5	-
ア-リ-初作	10月30日 ± 9	52.2 ± 2.3	49.8 ± 5.6	61.8 ± 10.5	85.7 ± 9.3	48.9 ± 6.8	-
在来白	11月15日 ± 5	47.9 ± 2.3	54.1 ± 3.0	77.5 ± 8.9	97.1 ± 9.5	48.0 ± 10.0	-

<sup>z</sup> 挿し芽 2004年7月15日、定植 8月4日、摘心 8月13日

<sup>y</sup> 選抜結果、 : 有望、 : 育種素材等として利用可能



第1図 選抜系統と元系統および対照品種との比較

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

試験研究推進上の残された問題点  
 必要な協力関係  
 次年度以降の具体的計画

品種登録のための特性調査が必要。  
 伊豆農林事務所、J A 伊豆太陽、静岡県花卉連。  
 育成を継続する。

-----  
研究課題：放射線を利用した本県特産花きの新育種技術および効率化技術の開発に関する研究  
放射線を利用した有用突然変異個体作出技術の開発研究

軟X線の急照射によるマーガレット突然変異有望系統の現地適応性

担当部署：静岡農試・南伊豆分場

担当者名：稲葉善太郎、加藤智恵美

協力分担：なし

予算区分：国交（放射線）

研究期間：新 2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

### 1. 目的

放射線の急照射は、新品種を育成する手法として有効であり、キク等では放射線の急照射により草姿、開花形態などの突然変異を誘発する。マーガレットでは、組織培養時や挿し穂等への軟X線急照射により突然変異誘発により‘スターライトリップル’や‘エンジェルマイル’等の鉢物向け有望品種を育成した。そこで、切り花用品種育成のために挿し穂への軟X線照射により育成した系統の現地適応性を検討する。

### 2. 方法

(1)試験場所 河津町、南伊豆町伊浜（2か所）、賀茂村（委託試験）

(2)供試品種 マーガレット育成系統‘01-8-9’（白花）から育成した8系統

同一圃場における栽培品種は‘アーリーホワイト’、‘プリンセスリトルホワイト’

(3)試験構成 挿し芽 2004年7月8日、定植 7月27日(河津)、29日(南伊豆、賀茂村)

(4)調査項目 草姿、草丈、開花時期等の観察調査

現地試験における摘心等の栽培管理は現地生産者の慣行による

### 3. 結果の概要

（前年度までの結果） 白花育成系統‘01-8-9’に軟X線 300Gy を穂照射し、有用な特性を持つ8個体を獲得し、系統名を付与した。

(1)獲得系統の形質は安定しており、草姿等の形態的にキメラ性はみられなかった。

(2)開花時期は、‘0189-1-1’、‘0189-1-2’が‘01-8-9’より早かった。しかし、現地で栽培している‘アーリーホワイト’や‘プリンセスリトルホワイト’より遅かった。

(3)花径は、‘0189-1-1’が‘01-8-9’と同等か大きめで、この系統は開花時の草姿が良かった。

(4)草丈は、‘0189-11-2’、‘0189-11-3’、‘0189-11-4’が‘01-8-9’よりも低かったほかは大きな差はみられなかった。

(5)葉の形質についての観察では、‘0189-1-1’が‘01-8-9’より小さめの葉であった。

(6)これ以外の形質では、‘0189-11-2’、‘0189-11-3’、‘0189-11-4’の3系統は花粉の飛散がみられなかった。しかし、小輪系で花粉の出ない‘プリンセスリトルホワイト’と比較すると開花時期が遅いために実用性は低いと判断された。

(7)供試系統の中では、‘0189-1-1’が11月上旬と最も早くから開花するため実用上は問題なく、花径も供試系統中最も大きく、切り花のバランスも良かった。

以上の結果から、マーガレット育成系統‘01-8-9’への軟X線急照射により得られた、8系統から、元系統より開花が早く、花径の大きい‘0189-1-1’を有望系統として選抜した。担当した生産者の評価としては‘在来白’、‘伊豆マ’85’に代わりうる特性を持つと評価された。

第1表 軟X線の急照射によるマーガレット突然変異有望系統の現地適応性（委託試験）<sup>z</sup>

系統名	花色	花型	花径	草丈	開花開始	現地生産者 <sup>y</sup> の観察状況	評価 <sup>x</sup>
0189-1-1	白	一重	中	長	10月下～11月上	草姿・花型良い(A、B、D、E)、供試系統中最も草姿が良い(A、B)、高温に強い(B、D)	
0189-1-2	白	一重	中	長	11月中	生育良い(A、B、C、D)、花型良い(A、B、C、D)、元系統より少し開花早い(A)	
0189-11-1	白	一重	中～小	長	11月中	生育良い(A、B、C、D)、開花やや遅い(A、B、C、D)	×
0189-11-2	白	一重	小	中	11月中下	開花やや遅い(A、B、C、D)、花粉出ない(A、B、C、D)	×
0189-11-3	白	一重	小	中	11月中下	開花やや遅い(A、B、C)、花粉出ない(A、B、C、D)	×
0189-11-4	白	一重	小	中	11月中下	開花やや遅い(A、B、C)、花粉出ない(A、B、C、D)	×
0189-11-5	白	一重	中～小	長	11月中	やや花径が小さい(A、B、C、D)	×
0189-12-1	白	一重	小	中	11月中	花弁が暴れる(A、B、C、D)	×
01-8-9(元系統)	白	一重	中	長	11月中	高温時の生育良い(A、B、C、D)、花型良い(A、B、C、D)	-
アーリーホワイト	白	一重	中	長	10月中	対照品種	-
プリンセスリトルホワイト	白	二重	極小輪	長	10月上	対照品種	-

<sup>z</sup> 花径、草丈等の特性は特性調査基準に準拠して記載

<sup>y</sup> 河津町(A)、南伊豆町(B、C)、賀茂村(D)

<sup>x</sup> 評価、×：適さない、：やや適する、：有望



生育・開花状況

‘0189-1-1’

第1図 現地試験の実施状況の一例（賀茂村宇久須）

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

試験研究推進上の残された問題点

必要な協力関係

次年度以降の具体的計画

品種登録のための特性調査が必要。

伊豆農林事務所、JA伊豆太陽、静岡県花卉連。

育成を継続する。

-----  
研究課題：新しい放射線利用技術による果樹の優良形質発現に関する研究  
          イオンビーム照射によるウンシュウミカンの新しい優良形質獲得に関する研究  
          イオンビームを照射した苗木の葉形

担当部署：静岡柑橘試 栽培育種研究室

担当者名：神尾章子

協力分担：理化学研究所 植物機能研究室

研究期間：2002～2006 年度  
-----

### 1．目的

早熟でわい性のウンシュウミカンを育成するため、‘青島温州’の珠心胚実生系統である S1152 にイオンビーム照射を行ったところ、葉形が変化した個体を得られた。そこで接ぎ木後 2 年目まで葉形に変化のみられた個体について、3 年目の葉形と 2 代目を育成して得られた個体の葉形について調査した。

### 2．方法

試験 1．葉形に変化のみられた個体について 3 年目の葉形調査

- (1) 供試材料：S1152 葉形に変化のみられた 3 個体 3 年生
- (2) 照射時期：平成 13 年 3 月、9 月
- (3) 照射イオンと線量：炭素 20Gy およびネオン 10Gy、20Gy
- (4) 調査項目：葉形の変化と変異葉の出現率について、本年度春に発生した新葉と旧葉別に 1 樹ごと調べた。判断しにくいものは判別不能とした。

試験 2．葉形に変化のみられた個体について 2 代目の葉形調査

- (1) 供試材料：S1152 葉形に変化のみられる 3 個体の 2 代目 1 年生 1～5 本
- (2) 調査項目：葉形の変化と変異葉の出現率について、本年度発生した春葉について調べた。判断しにくいものは判別不能とした。

### 3．結果の概要

(前年度までの要約)

イオンビーム照射後、1 年目に葉形に変化のみられた個体について、2 年目にも同様の変化がみられる個体と変化のみられない個体を得られた。

(本年度の結果・要約)

- (1) 3 年目新葉の葉形について、個体 No.1 および 2 は全て正常葉であり、No.3 は全て変異葉であった(第 1 表、第 1 図、第 2 図、第 3 図)。
- (2) No.1 および 2 は 2 代目に変異葉がみられなかったが、No.3 の 2 代目は展葉した葉の全てが変異葉であった(第 2 表、第 4 図)。

以上のことから、イオンビーム照射後 3 年目に変異葉出現が解除された個体については放射線障害の影響があったと考えられる。また、接ぎ木した 2 代目に同様の形態変化が認められた個体についてはイオンビーム照射による変異が生じていると考えられる。

第1表 変異葉の出現に及ぼす影響(3年目)

個体 No.	照射イソトプ	線量 (Gy)	全葉数 (枚)	正常葉数 (枚)	変異葉数 (枚)	判別不能 (枚)	変異葉出現率 (%)
1	C	20	193	185	0	8	0.0
2	Ne	20	109	86	0	23	0.0
3	Ne	10	225	0	180	45	80.0

第2表 変異葉の出現した個体における2代目の葉形<sup>z</sup>

変異個体 No.	変異葉	正常葉	判別不能	全葉数	変異葉出現率 (%)
1	0	30	31	61	0.0
2	0	1	10	11	0.0
3	21	0	9	30	70.0

<sup>z</sup> : 葉数はNo.1(5個体)No.2(1個体)No.3(4個体)の総計とした。



第1図 正常葉(上)と変異葉(下)



第2図 No.3(左)と対照



第3図 変異葉解除



第4図 No.3の2代目

4. 今後の問題と次年度以降の計画  
 変異のみられた個体について生育と果実の調査を行う。

研究課題：新しい放射線利用技術による果樹の優良形質発現に関する研究  
ナシの高レベル黒斑病耐病性突然変異体の誘発方法の研究  
ガンマ線照射による黒斑病耐病性突然変異形質の安定性

担当部署：静岡柑橘試 栽培育種研究室・落葉果樹分場

担当者名：中嶋輝子・種石始弘

協力分担：農業生物資源研究所 放射線育種場

研究期間：2002～2006 年度

## 1. 目的

2000 年に選抜したナシ‘喜水’の黒斑病耐病性樹と育成選抜した二代目、三代目について耐病性程度を再検定し、耐病性形質の安定性を検討する。

## 2. 方法

柑橘試験場落葉果樹分場（浜松市）のほ場に栽植したナシ‘喜水’の黒斑病耐病性樹を用いた。2000 年に選抜した親木 3 樹（6 年生）、親木から育成し 2001 年に選抜した二代目 8 樹（5 年生）、さらに二代目から育成し 2002 年に選抜した三代目 10 樹（4 年生）と対象として‘喜水’（12 年生）、‘豊水’（12 年生）、‘ゴールド二十世紀’（9 年生）の各 1 樹を調査した。本年度に発生した新梢の先端から第 2 葉または第 3 葉を、4 月下旬から 6 月上旬に 3 回採取し、黒斑病耐病性の判定を行った。耐病性の判定は葉表の 2 か所の AK トキシンによる有傷接種により 72 時間後に調査した。AK トキシンは、黒斑病菌 O-276 株（鳥取大学所有）をリチャーズ液体培地で培養後、ろ液を濃縮し、500 倍に希釈して使用した。

耐病性度は壊死斑形成の程度（+：壊死斑を形成、±：わずかに褐変、-：壊死斑を形成せず）から、+（0）、±（1）、-（2）として調査葉数の平均値を算出した。

## 3. 結果の概要

（前年度までの要約）

AK トキシンによる選抜個体の耐病性程度は年次変動がみられ、安定して耐病性程度が高い個体を選抜するためには継続調査が必要である。

（本年度の結果・要約）

（1）親木の耐病性度は、391-3 が 1.7 と高い傾向にあり（第 1 表）、昨年一昨年とも同じ傾向を示した。

（2）二代目の耐病性度は、1.0～1.3 の間にあり、昨年同様、個体間での耐病性度の差は小さかった。また、全て‘ゴールド二十世紀’より高い値を示した（第 1 表）。

（3）三代目の耐病性度も 0.9～1.2 の間にあり、個体間での差は小さく、全て‘ゴールド二十世紀’より高い値を示した。

（4）耐病性は、親木の 391-5 や 445-3、三代目の 344-5-11-13、391-2-9-4 で昨年の結果と異なり、年次変動がみられた。

以上の結果から、耐病性度では親木の 391-3 が高く、その他の個体も全て‘ゴールド二十世紀’より高い数値を示した。耐病性度は二代目三代目については概ねどの個体も 0.9～1.3 の範囲に位置し、大きな違いはなかった。また、耐病性の年次変動が見られた個体は、親木も含めて 4 個体であった。

第1表 選抜個体の耐病性

樹 No.	枝 No.	二代目 No.	三代目 No.	調査新梢 数	壊死斑形成の判定 <sup>z</sup> (葉数)			耐病性度 <sup>z</sup>
					+	±	-	
(親木)								
344	3			168	21	104	43	1.1
	4			160	12	98	50	1.2
	5			164	0	90	55	1.2
391	1			84	10	51	23	1.2
	2			228	13	102	113	1.4
	3			76	0	20	56	1.7
	4			76	0	40	36	1.5
	5			64	4	32	28	1.4
445	1			248	20	129	99	1.3
	3			80	7	35	38	1.4
	5			168	8	110	50	1.3
(二代目)								
344	3	8		303	19	255	29	1.0
		20		236	14	136	86	1.3
	4	2		264	10	171	89	1.3
		13		224	10	167	47	1.2
	5	2		348	24	233	91	1.2
		6		188	29	109	50	1.1
		11		248	12	169	67	1.2
			12		370	38	240	92
(三代目)								
344	5	2	3	232	47	148	37	1.0
		11	11	198	31	107	60	1.1
			13	184	52	93	39	0.9
		12	5	224	33	163	28	1.0
391	2	2	3	196	9	141	46	1.2
		9	3	220	9	151	60	1.2
			4	180	10	125	45	1.2
喜水				70	41	28	1	0.4
ゴールド二十世紀				75	18	56	1	0.8
豊水				56	0	21	35	1.6

<sup>z</sup> + (0) : 壊死斑を形成、± (1) : わずかに褐変、- (2) : 壊死斑を形成せず

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

継続調査が必要で、次年度以降も同様の調査を実施する。

研究課題：新しい放射線利用技術による果樹の優良形質発現に関する研究  
ナシの高レベル黒斑病耐病性突然変異体の誘発方法の研究  
ガンマ線照射による選抜個体ごとにみた変異の安定性

担当部署：静岡柑橘試 栽培育種研究室・落葉果樹分場

担当者名：中嶋輝子・種石始弘

協力分担：農業生物資源研究所 放射線育種場

研究期間：2002～2006 年度

## 1. 目的

2000 年に選抜したナシ‘喜水’の黒斑病耐病性樹と育成選抜した二代目、三代目について枝別に耐病性程度を検定し、樹内での耐病性程度におけるキメラ性を確認する。

## 2. 方法

柑橘試験場落葉果樹分場（浜松市）のほ場に栽植したナシ‘喜水’の黒斑病耐病性樹を用いた。2000 年に選抜した親木 3 樹（6 年生）、親木から育成し 2001 年に選抜した二代目 8 樹（5 年生）、さらに二代目から育成し 2002 年に選抜した三代目 10 樹（4 年生）、2 回照射個体（2 年生）を対象として‘喜水’（12 年生）、‘豊水’（12 年生）、‘ゴールド二十世紀’（9 年生）の各 1 樹を調査した。本年度に発生した新梢の先端から第 2 葉または第 3 葉を、4 月下旬から 6 月上旬に 3 回採取し、各々計 42 枚の葉について黒斑病の発病度を調査した。発病度は 1.5 cm 四方の切片の葉表 2 か所に A K トキシンを有傷接種し 7 2 時間後に発病度を 5 段階で調査した。A K トキシンは、黒斑病菌 O-276 株（鳥取大学所有）をリチャーズ液体培地で培養後、ろ液を濃縮し、500 倍に希釈して使用した。

A K トキシンによる発病度 0：発病しない 1：わずかに発病した

2：やや発病した 3：発病面積が葉切片の 1/2 以下 4：葉切片全面に発病

## 3. 結果の概要

（前年度までの要約）

A K トキシンによる選抜個体の耐病性程度は年次変動がみられ、安定して耐病性程度が高い個体を選抜するためには継続調査が必要である。

（本年度の結果・要約）

- （1）A K トキシン接種による親木の発病度は検定した樹 344 と 445 については、枝番号ごとに 3 本ずつ調査した各枝間の結果に、有意な差は見られなかったが、391-2 については、発病度に違いがみられた（第 1 表）。
- （2）二代目の個体については、344-5-11 と 344-5-12 以外は調査枝間の結果に差が見られ、これらは同一樹内において発病度に違いがあると思われた（第 1 表）。
- （3）三代目の個体についても、調査枝間の結果に差が見られる個体があり、これらは同一樹内において発病度に違いがあると思われた（第 1 表）。

以上の結果から、選抜した個体は分岐した枝によって発病度に違いが生じている個体があり、これらはキメラ性が解除されていないと思われた。今後耐病性の安定した個体を選ぶには、継続調査を行い選抜樹においてはキメラ性を解除する必要がある。

第1表 AKトキシンの有傷接種による選抜個体の葉切片での発病度

樹 No.	枝 No.	No.	No.	調査枝別発病度 <sup>z</sup>			有意差 <sup>y</sup>	
				1	2	3		
親木 344	3			1.35	1.04	-	n.s.	
	4			0.96	1.00	-	n.s.	
	5			1.02	1.08	-	n.s.	
391	1			1.17	-	-		
	2			0.94a	0.54bc	0.64b	**	
	3			0.26	-	-		
	4			0.55	-	-		
	5			0.78	-	-		
445	1			0.85	1.06	1.01	n.s.	
	3			0.86	-	-		
	5			0.96	0.95	-	n.s.	
二代目 344	3	8		1.44ab	1.49a	1.07b	**	
		20		0.65a	0.74a	1.10b	*	
	4	2		0.77ab	0.87ab	0.60b	**	
		13		0.65a	1.29b	1.16b	**	
	5	2		1.19a	1.09b	0.60bc	**	
		6		0.95a	1.55b	0.79a	**	
		11		0.63	0.58	0.64	n.s.	
		12		1.08	0.89	1.27	n.s.	
三代目 344	5	2	3	1.28	1.49	1.43	n.s.	
		11	11	1.04a	0.98a	1.95b	**	
			13		1.55	1.63	1.66	n.s.
		12	5	1.48	1.33	1.37	n.s.	
391	2	2	3	1.07	0.90	1.15	n.s.	
		9	3	1.27a	1.03a	0.52b	**	
		4	4	1.26a	0.86b	1.02ab	**	
	2w-1	再照射		1.03ab	0.57a	-	**	
	2w-61	〃		1.75	-	-		
	2w-109	〃		1.38	-	-		
喜 水				2.67	-	-		
ゴールド二十世紀				2.00	-	-		
豊 水				0.38	-	-		

<sup>z</sup> AKトキシンの有傷接種による葉切片の発病度 0：発病しない 1：僅かに痕跡がある 2：やや発病する 3：発病面積が葉切片の1/2以下 4：葉切片全面に発病の平均値

<sup>y</sup> Tukey法(\*\*1% \*5%)

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

継続調査が必要で、次年度以降も同様の調査し、キメラ性が確認された枝は伐採する。

-----  
研究課題名：新しい放射線利用技術による果樹の優良形質発現に関する研究  
ナシの高レベル黒斑病耐病性突然変異体の誘発方法の研究  
露地条件下における二代目及び三代目苗木の黒斑病耐病性

担当部署：静岡柑橘試 落葉果樹分場・栽培育種研究室

担当者名：種石始弘・中嶋輝子

協力分担：農業生物資源研究所 放射線育種場

研究期間：2002～2006年度  
-----

キーワード：ニホンナシ、放射線育種、黒斑病、耐病性

### 1. 目的

ナシ‘喜水’の黒斑病耐病性個体として、場内で選抜・育成した三代目苗木までの露地条件下での黒斑病耐病性を調査する。

### 2. 方法

2000年に選抜した3樹（親木）から11枝を選定して穂木を採取し、無加温ハウス内で1年生ヤマナシ台木に2001年3月下旬に接木して二代目の苗木を150個体育成した。2002年3月に高い耐病性を示した20個体について露地に定植した。さらにこの中から、枝を採取し三代目の苗木を10個体育成して2003年3月に定植した。親木の枝及び、二代目、三代目の個体について自然条件下での黒斑病の発病程度を、2004年8月4日に1樹あたり100葉前後調査した。なお、黒斑病発生程度および発病度、耐病性度の判定は第1表欄外の基準により行なった。

### 3. 結果の概要

（前年までの要約）

二代目及び三代目の黒斑病の発生程度は、親木 No.344 の枝 No.3、No.4 及び No.5 より採取して育成した苗木で少なく、親木 No.391 の枝 No.1 から No.5 より育成した苗木が多かった。AKトキシンを接種して検定した耐病性度と露地での黒斑病発病程度は、調査年により、一致、不一致が観察された。

（本年度の結果・要約）

（1）黒斑病の発生は昨年に比べ少なかった（第1表）。

（2）No.344の親木及び二代目、三代目の個体全ての発病度は‘ゴールド二十世紀’より小さかった。一方、No.391の親木及び三代目個体の発病度はばらつきはあるが総じて大きく、これまでの傾向と一致していた（第1表）。

（3）個体毎の前年の発病度と本年の発病度との関係は明らかではなかった（第1表）。

（4）AKトキシンによる耐病性度とほ場における発病度の関連については、昨年同様、明確でなかった（第1表、第1図）。

（5）なお、二代目及び三代目の個体ではそれぞれ数個着果したが、黒斑病の発生は認められなかった（データ略；喜水では7/15までに70%が罹病し落果した）。

以上の結果、親木 No.344 の枝及び二代目、三代目個体の葉は、ほ場における黒斑病耐病性を獲得していると考えられた。

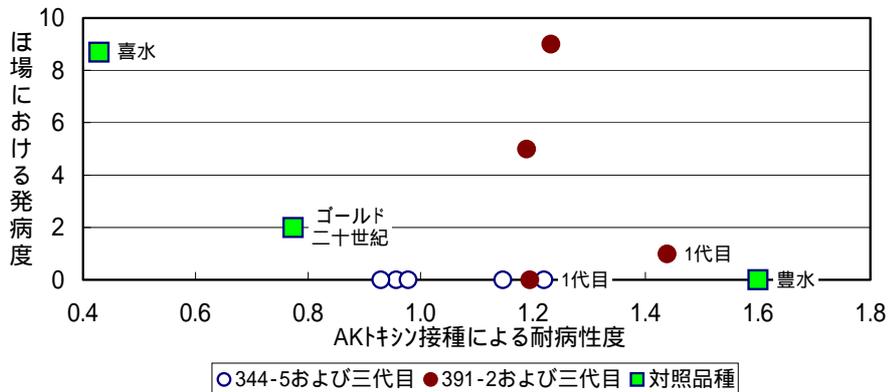
第1表 黒斑病耐病性個体の露地における発病程度

	樹 No	枝 No	二代目 No	三代目 No	病斑発生程度別葉数 z				調査 葉数	発病葉 率(%)	発病度 y	AKTキシン耐 病性度 x	前年発 病度 y	
					0	1	2	3						4
親木	344	3			100	1	0	0	0	101	1.0	0.2	1.1	4.7
		4			100	0	0	0	0	100	0	0	1.2	2.7
		5			100	0	0	0	0	100	0	0	1.2	7.5
	391	1			83	10	6	0	1	100	17.0	6.5	1.2	27.9
		2			98	2	1	0	0	101	3.0	1.0	1.4	21.2
		3			65	4	1	1	0	71	8.5	3.2	1.7	9.5
		4			90	7	0	2	0	99	9.1	3.3	1.5	24.7
		5			58	0	1	0	0	59	1.7	0.8	1.4	51.1
	445	1			94	5	1	0	0	100	6.0	1.8	1.3	13.8
		3			99	1	0	0	0	100	1.0	0.3	1.4	19.5
5				100	2	0	0	0	102	2.0	0.5	1.3	11.8	
二代目	344	3	8		100	0	0	0	0	100	0	0	1.0	4.2
		3	20		100	0	0	0	0	100	0	0	1.3	13.3
		4	2		100	0	0	0	0	100	0	0	1.3	9.3
		4	13		100	0	0	0	0	100	0	0	1.2	10.6
		5	2		99	1	0	0	0	100	1.0	0.3	1.2	8.8
		5	6		99	1	0	0	0	100	1.0	0.3	1.1	12.5
		5	11		100	0	0	0	0	100	0	0	1.2	14.4
		5	12		100	0	0	0	0	100	0	0	1.1	10.6
三代目	344	5	2	3	100	0	0	0	0	100	0	0	1.0	1.5
		5	11	11	100	0	0	0	0	100	0	0	1.1	0.5
		5	11	13	100	0	0	0	0	100	0	0	0.9	1.1
		5	12	5	100	0	0	0	0	100	0	0	1.0	0.8
	391	2	2	3	87	7	5	1	0	100	13.0	5.0	1.2	56.7
		2	9	3	75	16	7	2	0	100	25.0	9.0	1.2	63.9
再照射	2w-109	2	9	4	100	0	0	0	0	100	0	0	1.2	39.3
		2w-1			83	3	1	0	0	87	4.6	1.4	1.5	-
		2w-61			100	0	0	0	0	100	0	0	0.8	-
参考	豊水	喜水			154	40	10	4	0	208	26.0	8.7	0.4	23.7
		ゴールド二十世紀			92	8	0	0	0	100	8.0	2.0	0.8	11.3
		豊水			100	0	0	0	0	100	0	0	1.6	-

z: 0=病斑が認められない、1=病斑が数個、2=病斑が20個以下、3=50個以下、4=51個以上

y: (病斑発生程度 × 当該葉数) / (4 × 調査葉数) × 100

x: 新葉へのAKTキシン接種試験(72hr後)、(0)壊死斑を形成、(1)わずかに褐変、(2)壊死斑を形成せず



第1図 初代および三代目における耐病性度と発病度の関係

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

耐病性個体の果実での発病度および果実品質。

-----  
研究課題：新しい放射線利用技術による果樹の優良形質発現に関する研究  
          ナシの高レベル黒斑病耐病性突然変異体の誘発方法の研究  
          携帯型光センサーを用いたナシ‘喜水’の各構成糖含有量の非破壊測定  
担当部署：静岡柑橘試 栽培育種研究室  
担当者名：中嶋輝子  
協力分担：農業生物資源研究所 放射線育種場  
研究期間：2002～2006 年度  
-----

## 1. 目的

携帯型光センサーを用いたナシ‘喜水’の各構成糖含有量の検量線を作成し、放射線育種によって選抜した品種の果実品質の違いについて、樹上で簡易に判別できる非破壊測定法の可能性を検討する。

## 2. 方法

供試材料：落葉果樹分場で栽培したナシ‘喜水’ 2 樹115果 7月20日、26日収穫

ナシ構成糖の測定：果実赤道部（NIR測定部位）の果肉を搾汁後、ろ過・希釈（10倍）しHPLC法にて果糖、ショ糖、ブドウ糖、ソルビトールを測定。Brixはアタゴデジタル糖度計で測定した。

近赤外スペクトルの測定：携帯型光センサー（FANTEC製 FT-20、NIR-GUN）を用い、室温 20 度下で果実温度を一定にした後、赤道部片側 1 カ所の反射スペクトルを（600nm～1000nm）を測定した。

測定条件：FT-20 蓄積時間20ms×平均回数16回、30ms×8回の 2 条件

NIR-GUN蓄積時間10ms×平均回数10回、15ms×10回の 2 条件

検量線の作成：重回帰分析 FT-20・NIR-GUN 専用検量線作成ソフト使用

## 3. 結果の概要

（本年度の結果・要約）

（1）試験に用いた果実の各構成糖の果汁 1ml 当たりの平均含量は、ブドウ糖とソルビトールが多く、果糖とショ糖は少なかった。用いた果実の中では、ショ糖とブドウ糖に含有量の差が大きく、果糖は小さかった（第 1 表）。

（2）作成した検量線の精度は FT-20 を用いた場合の、Brix の検量線が重相関係数  $r=0.92$ 、検量線作成時の標準誤差（SEC）が 0.25 で最も高かったが、各構成糖別では NIR-GUN を用いた場合のソルビトールの検量線が重相関係数  $r=0.83$ 、検量線作成時の標準誤差（SEC）が 5.80(mg/ml)で比較的精度が高く、果糖の検量線の精度が最も低かった。

その他の糖についても重相関係数が概ね 0.6～0.8 の間に位置していた（第 2 表）。

以上の結果から、2 種類の携帯型光センサーを用いたナシ‘喜水’の各構成糖含有量の非破壊測定について、ソルビトールの検量線が比較的精度が高かった。その他の糖についても携帯型光センサーでの非破壊測定の可能性が示されたが、樹上での簡易測定には、今後さらに検量線の精度向上が必要と思われる。

第1表 試験に用いたナシ‘喜水’の構成糖含有量と糖度(Brix)

構成糖 <sup>z)</sup>	n	最大値	最小値	平均値	標準偏差
シヨ糖	115	64.5	5.7	25.7	12.3
果糖	115	29.9	9.9	18.2	4.4
ブドウ糖	115	82.2	28.9	56.2	12.3
ソルビトール	115	79.8	27.1	53.3	10.1
<b>Brix</b>	<b>115</b>	<b>15.7</b>	<b>12.1</b>	<b>14.0</b>	<b>0.69</b>

z)mg/ml

第2表 ナシ‘喜水’の構成糖別に見た検量線の精度

構成糖	測定条件 <sup>Z)</sup>		R <sup>Y)</sup>		SEC <sup>X)</sup>		
	A	B	C	D	C	D	
シヨ糖	A	0.71	8.59		C	0.66	9.46
	B	0.69	8.85		D	0.69	9.14
果糖	A	0.58	3.57		C	0.68	3.31
	B	0.54	3.71		D	0.63	3.51
ブドウ糖	A	0.63	9.50		C	0.74	8.44
	B	0.67	9.15		D	0.77	8.06
ソルビトール	A	0.79	6.15		C	0.82	5.96
	B	0.80	6.13		D	0.83	5.80
<b>Brix</b>	A	0.90	0.29		C	0.89	0.33
	B	0.92	0.25		D	0.89	0.33

Z)測定条件： FT-20 A：20ms（積算時間）×16回（積算回数） B：30ms×16回  
NIR-GUN C：10ms×10回 D：15ms×10回

Y)重相関係数 X)検量線作成時の標準誤差

4. 今後の問題点と次年度以降の計画  
次年度以降も継続調査する

研究課題：放射線による新品種・新素材開発の効率化に関する研究

放射線を利用した病害虫防除能力および生育促進機能の高い微生物の育成手法  
に関する研究

変異株の作出と防除効果の検定

担当部署：静岡農試 病害虫部

担当者名：外側正之、鈴木幹彦

研究期間：2002～2006 年度

## 1. 目的

メロン毛根病およびセルリー萎黄病防除については、化学農薬による方法の他、耕種的防除法などを検討してきたが、なお根絶させることが出来ないため、新たな手法として生物的防除法の開発が望まれている。そこで、生物検定により選抜された拮抗菌に対し、放射線照射による突然変異株の作出を行い、防除能力の高い菌株を選抜することを目的とする。今回は、既知の植物病原菌について放射線照射した菌株の性状を調査し、変異の内容を明らかにする。

## 2. 方法

1) 調査場所 静岡県磐田郡豊田町富丘 農試内

2) 調査項目・方法

使用菌株：キャベツ萎黄病菌 *Fusarium oxysporum* f.sp. *conglutinans* (F0 キ-5)

照射条件：PD 液体培地で 5 日間振盪培養した F0 キ-5 菌の Budding Cells を PDA 培地上に塗抹し、場内の X 線照射装置により 4 段階（線量：1400Gly、1583Gly、1667Gly、1800Gly）の照射を行った。

分離：照射終了後に 25℃ で約 48 時間培養し、生育してきたコロニーを各回 20 菌株釣菌し PDA 斜面培地に移植した。

培養性状の調査：移植した菌株について、生育スピード、コロニーの色調、胞子の形成状態、振盪培養で形成される胞子量を調査した。

病原性の調査：生育スピード、色調で変異の見られた計 5 菌株および肉眼での変化の無かった 9 菌株の合計 14 菌株についてキャベツ苗（品種：春夕）に対する病原性を調査した。方法として、約 10 の 5 乗に調整した胞子懸濁液を株元に 1ml ずつ灌注し、3 週間後まで病徴を観察した。

## 3. 結果の概要

（昨年までの結果）

*Fusarium* 属菌を用いた場合には、菌糸状態よりも発芽状態にある胞子の方が X 線に対する感受性の高いこと、突然変異をもたらすのに必要な照射量（生存率：1 割以下）は 1,000Gly 以上であること等が明らかになった。

1) 4 回の照射とも生存率は 1～5% 程度であった。4 回の照射の内、1400Gly 照射では肉眼で判別できるような変異株は分離出来なかった。1583Gly 照射では色調が濃くなる変異株 1 菌株、1667Gly 及び 1800Gly 照射では生育スピードが極端に遅くなる変異株が各 2 菌株ずつ得られた。

2) 胞子の形成状態についての変異は見られず、いずれの分離株も *Fusarium oxysporum* と同定するに必要な性状（大型・小型分生子の形状、分生子柄の長さ・分岐・形状）を有していた。3) 形成される胞子量は 1667Gly 照射 1 菌株で増加（約 20 倍量）が認められた。

4) 病原性については変異が見られなかった。

以上より、得られた変異株は負の方向への変異が多く、正の方向（生育スピードの向上、形成胞子量の増加）への変異は 1 菌株のみ認められた。

第1表 F0キ-5菌株に対する放射線照射の影響

回数	照射量(Gly)	分離 菌株数	色調 変異株	生育スピード 変異株(1)	孢子形成 状態変異株(2)	孢子形成量 変異株(3)	病原性 変異株(4)
1	1400	0	-	-	-	-	-
2	1583	20	1(濃褐色)	0	0	0	0
3	1667	20	0	2(遅延)	0	1(増加)	0
4	1800	20	0	2(遅延)	0	0	0

- 1) 25 4日後の生育が2cm以下(通常4cm程度)のもの
- 2) 1:担子梗の長さ・分岐状態(通常は小型分生孢子長径の3倍以内で分岐しない)  
 2:小型分生孢子の形状(通常は無色・隔壁無し・涙型~楕円形)  
 3:小型分生孢子の形成状態(通常は担子梗上に擬頭状に形成)  
 4:大型分生孢子の形状(通常は3隔壁が多く2~4隔壁、三日月型で先端は尖る)  
 5:大型分生孢子の形成状態(通常はモノフィアライド上にスポロドキアとして形成)  
 6:しばしば菌糸中や大型分生孢子隔壁中に厚膜孢子を形成する
- 以上の6点について調査した。
- 3) 28 PD液体培地(Difco社製)振盪培養4日間で $5 \times 10^4 \sim 5 \times 10^5$  cells/ml形成  
 この数値を超えるものを変異とした。
- 4) 通常F0キ-5株では、接種約2週間後に下葉の黄化が始まり、次第に株全体が萎凋し、  
 1か月後にはほぼ全株が枯死に至る

4. 今後の問題と次年度以降の計画

- ・継続して変異株を作出し性状を調査する。
- ・より多くの照射量を処理した場合(他機関の利用)の変異株作出を検討する。

研究課題：放射線による新品種・新素材開発の効率化に関する研究

放射線を利用した病害虫防除能力および生育促進機能の高い微生物の育成手法に関する研究

メロン毛根病、セルリー萎黄病に対する有効菌株の選抜（1次選抜）

担当部署：静岡農試 病害虫部

担当者名：外側正之、鈴木幹彦

研究期間：2002～2006年度

## 1. 目的

メロン毛根病およびセルリー萎黄病防除については、化学農薬による方法の他、耕種的防除法などを検討してきたが、なお根絶させることが出来ないため、新たな手法として生物的防除法の開発が望まれている。そこで2001～2002までに検討した室内検討法により、放射線照射のための候補菌を選抜する。

## 2. 方法

1) 調査場所 静岡県磐田郡豊田町富丘 農試内

2) 調査項目・方法

ア) メロン毛根病に対する検定法：

1. セルトレイにナース豊土を入れメロン（アールスフェボリット）を播種
2. 本葉2，3枚程度の苗になった時点で、候補菌の懸濁液を10mlづつ灌注
3. 翌日、このセルトレイ苗を4号ポットに植え替え、ストレス温室（夏期は温度設定せず放置、冬期は昼間25、夜間15）に置く
4. 候補菌の灌注から3日後を目途に、毛根病菌（10の6乗程度）の懸濁液を灌注
5. 接種後30～40日間観察し、候補菌無処理区に十分な発病が認められた時点で、毛根の発生程度を観察

イ) セルリー萎黄病に対する検定法：

1. セルトレイにナース豊土を入れセルリー（サミット）を播種
2. 草丈5,6cm程度になった時点（2ヶ月半～3ヶ月）で、取り出し、根部の土を除去
3. この苗の根部を候補菌の懸濁液に2時間程度浸漬した後に余剰の懸濁液をよく振り落とし、茎頂培養瓶に入れ、人工気象機内（30、12時間照明・12時間暗黒）に置く
4. 候補菌浸漬の翌日、PD液体培養した萎黄病菌胞子懸濁液（10の7乗程度）を茎葉にかからないように注入、2～3時間後に余剰の菌液は除去した。
5. 候補菌無接種区の苗を継続的に調査し、クラウン内や維管束の褐変が認められた時点（長くても14日後）で、根・クラウン内及び維管束の褐変程度を調査

## 3. 結果の概要

これまでに収集した菌株（2001年度、阻止円形成法で調査した587菌株＋それ以降収集した菌株200菌株の計787菌株）の全てについて検定を終了した。

ア) メロン毛根病に対する検定：

候補菌無処理区との比較で、毛根の発生を顕著に阻止した菌株は22菌株（2.8%）、顕著では無かったが相当に阻止した菌株は27菌株（3.4%）、多少は阻止した菌株は65菌株（8.3%）で合計では114菌株（14.5%）となった。いずれも、メロン自体の生育は阻害されおらず、メロンに対して病原性はないと考えられた。

イ) セルリー萎黄病に対する検定：

候補菌無処理区がクラウンや維管束の褐変を生じた時点において、根部・クラウン・茎内維管束のいずれも健全だったのは29菌株（3.7%）、根のみ若干変色したものは38菌株（4.8%）、根とクラウンの一部が変色したのは39菌株（5.0%）で合計では106菌株（14.5%）となった。メロンとは異なり候補菌無処理区と同様またはそれ以上に変色・腐敗を起こす菌株もいくつか見られた。

第1表 メロン毛根病に対する検定

	菌株数 (菌株)	菌株率 (%)
候補菌株	787	
毛根の発生を顕著に阻止	22	2.8%
顕著では無かったが相当に阻止	27	3.4
多少は阻止	65	8.3
合計	114	14.5

第2表 セルリー萎黄病に対する検定

	菌株数 (菌株)	菌株率 (%)
候補菌株	787	
根部・クラウン・茎内維管束のいずれも健全	29	3.7%
根のみ若干変色	38	4.8
根とクラウンの一部が変色	39	5.0
合計	106	13.5

4. 今後の問題と次年度以降の計画

- ・今回選抜された菌について反復数を増やし再度検定を行う(2次選抜)。  
2時選抜の終了した菌株は、放射線照射を行い防除能力の向上を図る。

-----  
研究課題：放射線を利用した病害虫防除能力及び生育促進機能の高い微生物の開発  
作物生育促進菌の変異株作出と効果の検定  
キク根部からの候補菌の収集と菌名からの効率的選抜手法の検討

担当部署：静岡農試・土壌肥料部

担当者名：小杉徹、中村仁美、若澤秀幸

研究期間：2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

## 1. 目的

放射線を利用して変異を誘起し、生育促進機能を持つ菌株の作出、選抜を目指すためには、様々な場面で候補菌となる根面細菌を収集することが必要である。そこで、本課題では、キク根部から分離冷凍保存してあった根面細菌を再分離し、生育促進菌を一次選抜し候補菌を収集する。また、一次選抜した生育促進菌を菌同定キットにより同定し、菌名から生育促進菌を効率的に選抜できるか検討する。

## 2. 方法

### (1) 根面細菌分離に用いたキク根面細菌

浜松市佐浜町のキク栽培農家のハウスにおいて、キクの茎葉の生育が良好なほ場（以下、優良ほ場と呼ぶ）と、キクの茎葉の生育が不良なほ場（以下、不良ほ場と呼ぶ）から分離冷凍保存してあった115株（優良ほ場からの分離菌60株、不良ほ場からの分離菌55株）を実験に供試した。

### (2) チンゲンサイ主根の伸長を利用した作物生育促進菌の一次選抜

平成12年度成果情報の生育促進細菌一次選抜法（平成12年度土壌肥料に関する試験成績書29p）に準じて、チンゲンサイ播種時に供試菌懸濁液を1/10ホーグランド培地上に添加し、28で5日間暗所栽培後に、主根長を計測した。種子は1シャーレ当たり6粒播種し、生育のよい3株の主根長を計測し、主根長が菌無接種区の1.3倍以上である菌を一次選抜による候補菌とした。また、主根長が菌無接種区の0.1以下の菌を生育阻害菌とした。また、主根の長さ別の菌の出現頻度も調査した。なお、対照として、供試菌懸濁液の代わりに同量の蒸留水を添加した菌無接種区を設けた。

### (3) 菌同定キットによる菌の同定

API20NE（BIOMERIX社：腸内細菌に属さない栄養要求が厳しくないグラム陰性桿菌を、生化学的性状テスト、同化テストを組み合わせて同定するキット）により、生育促進菌、生育阻害菌、及び再分離した根面細菌の菌名同定した。

## 3. 結果の概要

(1) 保存菌株を再分離し153株（優良ほ場からの分離菌72株、不良ほ場からの分離菌81株）を得た（データ略）。

(2) 優良ほ場から9菌株、不良ほ場から10菌株、合計19菌株の生育促進菌を一次選抜し、候補菌とした。また、不良ほ場区から分離した菌の生育阻害菌出現割合は26%、優良ほ場からは0%であり、不良ほ場区から生育阻害菌が多数分離された。また根長の長さの頻度を比較すると、不良ほ場から分離した根面細菌を接種した場合の方が、優良ほ場から分離した根面細菌を接種した場合より、主根の伸長が劣る傾向が認められた（第1表、第1図）。

(3) 一次選抜された生育促進菌は、*Burkholderia cepacia*が約8割を占めた。また、生育阻害菌は約9割が*Burkholderia cepacia*であった（第2表）。

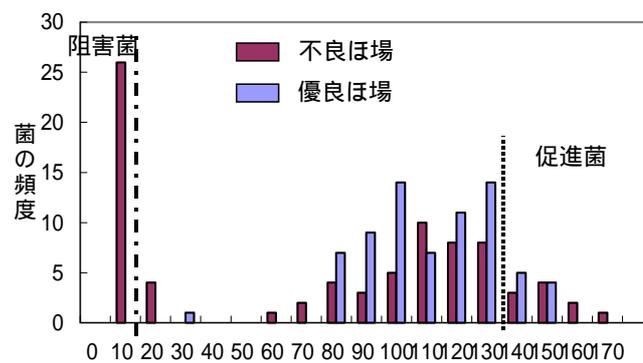
(4) 分離された根面細菌は、優良ほ場、不良ほ場ともに、*Burkholderia cepacia*が、約7割を占め、優良ほ場、不良ほ場の間に差が認められなかった（第3表）。

以上の結果、キク根面細菌153株から、19菌株の生育促進菌を一次選抜し候補菌とした。不良ほ場からは生育阻害菌出現割合が高かった。今回調査した根面細菌や生育促進菌は、*Burkholderia cepacia*が大半を占め、菌同定キットで生育促進菌を簡易選抜することは、困難であると考えられた。また、生育阻害菌も*Burkholderia cepacia*が大半を占めたので、生育促進菌と生育阻害菌の菌種による差は少ないと推測された。

第1表 キク優良及び不良ほ場の根から分離した根面細菌の接種が  
チンゲンサイ主根伸長に及ぼす影響<sup>注1)</sup>

区	主根長 <sup>注2)</sup> mm	同左指数	促進菌出現 割合(%) <sup>注3)</sup>	阻害菌出現 割合(%) <sup>注4)</sup>	調査菌数
優良ほ場	57.0	106	13(9)	0	72菌株
不良ほ場	38.7	72	12(10)	32(26)	81菌株
菌無接種	53.9	100			

注1) キク生育優良ほ場は、キク茎葉の生育が良好な場所、  
キク生育不良ほ場は、同一ハウス内のキク茎葉の生育が不良な場所。  
注2) 播種後直ちに菌液を種子に接種して、5日目のチンゲンサイ主根長の平均値。  
注3) 主根長が菌無接種区より1.3倍以上である菌の出現割合。( )内は菌数。  
注4) 主根長が菌無接種区より0.1倍以下である菌の出現割合。( )内は菌数。



菌無接種を100としたときの指数

第1図 キク根面細菌の接種がチンゲンサイ主根伸長に及ぼす影響

第2表 キク優良及び不良ほ場の根から分離した生育促進菌及び生育阻害菌の同定<sup>注1)</sup>

菌名	出現数	調査株中の <i>Burkholderia cepacia</i> の占める割合	備考
生育促進菌 <i>Burkholderia cepacia</i>	12	75%	16菌株調査
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1		
未同定	3		
生育阻害菌 <i>Burkholderia cepacia</i>	24	92%	26菌株調査
未同定	2		

注1) BIOMERIEUX社のapi20NEでの同定結果

第3表 キク優良及び不良ほ場から分離した根面細菌の同定<sup>注1)</sup>

区	菌名	出現数	調査株中の <i>Burkholderia cepacia</i> の占める割合	備考
優良ほ場	<i>Burkholderia cepacia</i>	36	71%	51菌株調査
	未同定	15		
不良ほ場	<i>Burkholderia cepacia</i>	26	74%	35菌株調査
	未同定	9		

注1) 生育促進菌、生育阻害菌を除いた根面細菌。BIOMERIEUX社のapi20NEでの検索結果

-----  
研究課題：放射線を利用した病害虫防除能力及び生育促進機能の高い微生物の開発  
作物生育促進菌の変異株作出と効果の検定  
パンジー初期伸長に効果のある菌の選抜

担当部署：静岡農試・土壌肥料部

担当者名：小杉徹、中村仁美、神谷径明

研究期間：2002～2006年度（平成14～18年度）  
-----

## 1. 目的

放射線を利用して変異を誘起し、生育促進機能を持つ菌株の作出、選抜を目指すためには、様々な場面で候補菌となる根面細菌を収集することが必要である。そこで、本課題では、パンジー初期伸長に効果のある菌の選抜を行う。

## 2. 方法

### (1) 供試菌株

根圏細菌 8896 株の中から一次選抜した 81 菌株（平成 12 年度成績）のうち、継体培養した 74 菌株を実験に供した。発芽栽培温度の調査時は C47 菌を用いた。

### (2) 対象作物 パンジー "LRアリル"

### (3) 試験方法

一次選抜した菌のパンジー初期伸長効果を確認するため、平成 12 年度成果情報の生育促進細菌一次選抜法(平成 13 年度版農林水産関係試験研究成果情報 48～49 p)に準じて、根圏細菌の接種を行い、パンジーの主根の伸長を計測し評価した。具体的には、パンジー播種時に供試菌懸濁液を 1/10 ホーランド培地上に添加し、7 日間暗所栽培後、主根長を計測した。栽培温度は、25 と 18 で比較した。種子は 1 シャーレ当たり 6 粒播種し、生育のよい 3 株の主根長を計測した。対照として、供試菌懸濁液の代わりに同量の蒸留水を添加した菌無接種区を設けた。根の伸長が優れた株は、複数回同様の試験を繰り返した。

## 3. 結果の概要

(1) パンジーの発芽の適温は 17 ～25 とされているが、今回の用いた品種では、25 で試験を行うより、18 で試験を行う方が根長が伸び、根長の変動係数も小さかった。以下の試験では、18 で試験を行うことにした（第 1 表）。

(2) 無接種区と比較して、74 菌株中約 1/3 の菌が、同等以上の伸びを示した（第 2 表）。

(3) 根の伸びが優れた菌株を中心に繰り返して試験を行った場合、C91、C22、A70、C59 の 4 菌株は平均 - 標準偏差が 100 以上あり、パンジーの初期伸長効果が特に優れた（第 3 表）。C59 菌は、トマト育苗期にも効果のある菌であった（データ略）。

以上の結果、一次選抜した 74 菌株から、パンジー主根の初期伸長効果の高い C91、C22、A70、C59 の 4 菌株が選抜された。

第1表 栽培温度の違いがパンジーの初期伸長に及ぼす影響

栽培温度	菌名	主根長 mm	標準 偏差	変動 計数
18	C47	23.7	± 4.2	18%
	菌無接種	19.2	± 6.7	35%
25	C47	17.1	± 4.9	29%
	菌無接種	19.8	± 9.5	48%

注)5連。10月26日調査

第2表 根面細菌接種後のパンジー主根長

菌名	主根長 <sup>注1)</sup> mm	同左指数 <sup>注2)</sup>	菌名	主根長 mm	同左指数	菌名	主根長 mm	同左指数
A68	23.3	128	C74	18.7	103	A36	14.7	81
A24	22.3	123	C38	18.3	101	B30	14.7	81
C47	22.3	123	C59	18.3	101	B73	14.3	79
C79	22.3	123	A49	18.0	99	B1	14.0	77
C52	22.0	121	A74	18.0	99	C54	14.0	77
C91	21.7	119	B101	18.0	99	B43	13.7	75
C51	21.0	115	A59	17.7	97	B67	13.7	75
C49	20.7	114	C35	17.7	97	C30	13.7	75
A30	20.3	112	A38	17.3	95	A40	13.3	73
A75	20.3	112	A60	17.3	95	B7	13.3	73
C66	20.3	112	B18	17.3	95	A32	13.0	71
A31	20.0	110	A65	17.3	95	B63	12.3	68
A54	20.0	110	A42	17.0	93	B71	11.7	64
B97	20.0	110	A67	16.7	92	B28	11.0	60
C69	20.0	110	C75	16.7	92	B79	9.3	51
C83	20.0	110	A2	16.3	90	C24	8.0	44
A52	19.7	108	A64	16.3	90	B29	7.7	42
A47	19.3	106	A71	16.3	90	B31	7.0	38
A62	19.3	106	B65	16.3	90	B70	7.0	38
C27	19.3	106	A29	16.0	88	B58	6.3	35
C28	19.3	106	A35	16.0	88	B22	5.7	31
A18	19.0	104	A13	15.3	84	B16	5.3	29
C22	19.0	104	C25	15.3	84	C72	5.0	27
A66	18.7	103	C31	15.3	84	A78	2.7	15
A70	18.7	103	B23	15.0	82	無接種	18.2	100

注1)根面細菌接種後、18 1週間のパンジー主根長。H16年11月15日調査。

注2)菌無接種区を100としたときの相対値

第3表 複数回繰り返したときの根面細菌接種後のパンジー主根長<sup>注1)</sup>

調査日	H16/11/11	11/25	11/25	11/29	11/29	11/29	主根長 平均 <sup>注3)</sup>	平均 - 標準偏差 <sup>注4)</sup>
菌名								
A68		128		99	93	57	94 ± 29	65
A24		123	122	127	73	111	43	100 ± 34
C47		123			63	93	85	91 ± 25
C79		123			85	67	87	90 ± 23
C52		121			63	89	77	88 ± 25
C91		119	127	133	107	105	123	119 ± 11
C51		115			97	67	113	98 ± 22
C49		114			69	85	85	88 ± 18
A30		112	116	112	91	59	97	98 ± 21
A75		112	135	153	115	99	97	118 ± 22
C66		112			65	79	109	91 ± 23
A31		110	108	120	109	87	91	104 ± 13
A54		110	114	143	81	93	79	103 ± 24
B97		110			95	67	113	96 ± 21
C69		110	131	112	34	69	47	84 ± 39
C83		110			95	93	73	93 ± 15
A52		108			111	89	71	95 ± 18
A47		106	114	118	105	85	99	105 ± 12
A62		106			63	81	73	81 ± 18
C27		106			83	95	93	94 ± 10
C28		106			103	79	79	92 ± 15
C22		104	124	137				122 ± 16
A70		103	114	116				111 ± 7
A66		103	120	104				109 ± 10
C59		101	133	120				118 ± 16
菌無接種 <sup>注2)</sup>	(18.2)	(16.3)	(16.3)	(16.9)	(16.9)	(16.9)	(16.9) ± (0.7)	

注1)根面細菌接種後、5日目の葉ボタン主根長。菌無接種区を100としたときの相対値で示す。

注2)()の数値は菌無接種区の主根長(mm)

注3)菌無接種区を100としたときの指数の平均値とその標準偏差

注4)主根長の平均から標準偏差を引いた数値。\*は平均 - 標準偏差が優れる株。

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画:

育苗期での選抜。初期伸長の要因解明。放射線照射後の初期伸長の変化。

-----  
研究課題：放射線を利用した病害虫防除能力及び生育促進機能の高い微生物の開発  
作物生育促進菌の変異株作出と効果の検定  
葉ボタン初期伸長に効果のある菌の選抜

担当部署：静岡農試・土壌肥料部

担当者名：小杉徹、中村仁美、神谷径明

研究期間：継 2002～2006 年度（平成 14～18 年度）  
-----

## 1. 目的

放射線を利用して変異を誘起し、生育促進機能を持つ菌株の作出、選抜を目指すためには、様々な場面で候補菌となる根圏細菌を収集することが必要である。そこで、本課題では、葉ボタン初期伸長に効果のある菌の選抜を行う。

## 2. 方法

### (1) 供試菌株

根圏細菌 8896 株の中から一次選抜した 81 菌株（平成 12 年度成績）のうち、継体培養した 74 菌株を実験に供した。

### (2) 対象作物 葉ボタン ” ピーチドレス ”

### (3) 試験方法

一次選抜した菌の葉ボタン初期伸長効果を確認するため、平成 12 年度成果情報の生育促進細菌一次選抜法(平成 13 年度版農林水産関係試験研究成果情報 48～49 p)に準じて、根圏細菌の接種を行い、葉ボタンの主根の伸長を計測し評価した。具体的には、葉ボタン播種時に供試菌懸濁液を 1/10 ホーグランド培地上に添加し、28℃ で暗所栽培 5 日目に、主根長を計測した。種子は 1 シャーレ当たり 6 粒播種し、生育のよい 3 株の主根長を計測した。対照として、供試菌懸濁液の代わりに同量の蒸留水を添加した菌無接種区を設けた。根の伸長が優れた菌株は、複数回同様の試験を繰り返した。

## 3. 結果の概要

(1) 無接種区と比較して、74 菌株中約 1/3 の菌が、同等以上の伸びを示した（第 1 表）。

(2) 根の伸びが優れた菌株を中心に繰り返して試験を行っても、大部分が無接種区より生育が優れた。特に C35、C91、C59、A66、A42、C47、C24 の 7 菌株は、平均 - 標準偏差が 100 以上あり、葉ボタンの初期伸長効果が特に優れた（第 2 表）。C59 と A42 菌は、トマト育苗期にも効果のある菌であった（データ略）。

以上の結果、一次選抜した 74 菌株から、葉ボタン主根の初期伸長効果の高い C35、C91、C59、A66、A42、C47、C24 の 7 菌株が選抜された。

第1表 根面細菌接種後の葉ボタン主根長

菌名	主根長 <sup>注1)</sup> mm	同左指数 <sup>注2)</sup>	菌名	主根長 mm	同左指数	菌名	主根長 mm	同左指数
A31	76.0	129	A64	60.0	102	C74	51.7	88
C35	70.0	119	B63	60.0	102	B79	50.3	85
C22	68.7	116	B18	59.7	101	B30	49.3	84
C69	68.3	116	A18	59.0	100	A49	49.0	83
A47	67.7	115	A62	59.0	100	A2	47.0	80
A30	67.3	114	C79	59.0	100	B23	45.3	77
B29	66.7	113	A35	58.7	99	B7	44.0	75
A70	66.0	112	A40	58.7	99	B73	44.0	75
A24	65.3	111	C83	58.7	99	A59	43.7	74
A29	65.3	111	C27	58.0	98	B28	43.7	74
C91	65.3	111	C38	58.0	98	C51	41.7	71
A54	64.7	110	C66	58.0	98	C54	40.0	68
C59	64.7	110	B101	57.3	97	C52	36.3	62
A75	64.0	108	A52	57.0	97	B65	36.0	61
A36	63.7	108	A74	56.7	96	B67	34.0	58
A32	63.3	107	C28	56.0	95	C72	31.3	53
A38	63.0	107	C31	56.0	95	B1	30.7	52
A66	62.7	106	A13	55.3	94	B43	29.3	50
A60	62.3	106	A67	54.0	92	B71	28.3	48
A42	62.0	105	C24	54.0	92	B16	25.7	44
A65	62.0	105	A71	53.7	91	B70	24.0	41
A68	60.7	103	C25	53.7	91	B22	23.3	40
B97	60.7	103	A78	53.3	90	B31	20.0	34
C30	60.3	102	C49	53.0	90	B58	20.0	34
C47	60.3	102	C75	52.7	89	無接種	59.0	100

注1) 根面細菌接種後、5日目の葉ボタン主根長。H16年11月11日調査。

注2) 菌無接種区を100としたときの相対値

第2表 複数回繰り返したときの根面細菌接種後の葉ボタン主根長<sup>注1)</sup>

調査日	H16/10/26	10/26	10/26	10/26	11/8	11/8	11/8	11/11	11/22	11/22	11/26	11/26	11/26	主根長 平均 <sup>注3)</sup>	平均 - 標準偏差 <sup>注4)</sup>
菌名															
A31								129	105	107	100	109	101	109 ± 10	98
C35								119			114	107	112	113 ± 5	108 *
C22								116			105	95	86	101 ± 13	88
C69	122	140	138	112	109	105	103	116	94	101	112	111	93	112 ± 14	97
A47								115	78	100	113	91	102	100 ± 14	86
A30	124	133	136	102	113	106	94	114	102	108	98	99	116	111 ± 13	98
B29								113			100	86	76	94 ± 16	78
A70								112			99	95	103	102 ± 7	95
A24	125	102	115	106	94	114	101	111	95	100	104	107	94	105 ± 9	96
A29								111			90	72	110	96 ± 19	77
C91								111	102	95	111	108	113	107 ± 7	100 *
A54	127	122	105	98	109	111	116	110	97	91	103	96	107	107 ± 10	97
C59	131	123	110	104	99	106	108	110			109	105	112	111 ± 9	102 *
A75								108			96	105	114	106 ± 8	98
A36								108			104	93	87	98 ± 10	88
A32								107			98	88	86	95 ± 10	85
A38								107			99	107	91	101 ± 7	94
A66								106			99	126	117	112 ± 12	100 *
A60								106			112	98	102	104 ± 6	98
A42	124	112	133	121	117	112	125	105			94	108	111	115 ± 11	104 *
A65	105	86	94	93										94 ± 8	87
C47	117	110	119	95	100	114	113	102						109 ± 9	100 *
C24	114	113	114	112	121	105	104	92						109 ± 9	100 *
菌無接種 <sup>注2)</sup>	(55.3)	(55.3)	(55.3)	(55.3)	(57.7)	(57.7)	(57.7)	(59.0)	(61.9)	(61.9)	(59.4)	(59.4)	(59.4)	(58.1) ± (2.4)	

注1) 根面細菌接種後、5日目の葉ボタン主根長。菌無接種区を100としたときの相対値で示す。

注2) ()の数値は菌無接種区の主根長(mm)

注3) 菌無接種区を100としたときの指数の平均値とその標準偏差

注4) 主根長の平均から標準偏差を引いた数値。\*は平均 - 標準偏差が優れる株。

#### 4. 今後の問題点と次年度以降の計画

育苗期での選抜。初期伸長の要因解明。放射線照射後の初期伸長の変化。