

芳樟の栽培ならびに育種に関する基礎的研究

第3報 ガンマー線照射による突然変異の誘起に関する研究 1. 苗木および種子に対する緩および急照射 (予報)

林喜三郎・山崎 力・前田和美・岩本 薫*・麻野憲一*

(農学部 作物・育種学研究室, *高砂香料工業株式会社)

Studies on Cultivation and Breeding of Linalool Tree

III. Studies on Induction of Somatic Mutations by Gamma Ray Irradiation. 1. Chronic and Acute Irradiation on Seedlings and Seeds (Preliminary report).

Kisaburo HAYASHI, Tsutomu YAMASAKI, Kazumi MAEDA
Kaoru IWAMOTO* and Ken-ichi ASANO*

(*Lab. of Crop Science and Breeding, Fac. of Agr.*
**TAKASAGO Perfumery Co., LTD.*)

In second-year seedlings under chronic irradiation during about six months, the dose rate of LD 100 are 417 R/day or more and the inhibition of summer shoot elongation are observed above 208 R/day irradiation (Fig. 1 & 2). In first-year seedlings under chronic irradiation, the percentage of seed germination and growth are not decreased remarkably (Fig. 3 & 4). And under these chronic irradiation, morphological injury or somatic mutations are not observed merely.

In second-year seedlings treated with acute irradiation, dose of which are 1 to 2 KR, morphological injury of irradiation are temporary and growth inhibition are not observed (Table 5). In seeds treated with acute irradiation, dose of which are 5 to 10 KR, the germination percentage and growth are slightly inhibited and chlorophyll and morphological somatic mutation are obtained in about 6 to 18% per seedlings (Fig. 5 & 6, Table 6).

From above mentioned results, in order to obtain somatic mutation, acute irradiation in seeds is most suitable, however, it is suggested that chronic and acute irradiation in seedlings must be investigated successively, because the dose exposed in this experiment are low.

緒 言

芳樟における優良系統の育成には、突然変異育種法の採用が有効と考えられるので、第1報(1967)では、さし穂を用いてガンマー線照射を行なったが、照射穂木の活着率が著しく低下するため、必ずしも適切な方法でないと推論しておいた。この活着率を高め、かつ出来るだけ高線量の照射を行なうためには、予め養成しておいた苗木または種子に対し、緩または急照射を行なうことが、有効ではないかと考えられる。本報告はこのような照射方法の可否、ならびに適正線量を決定するために、その線障害あるいは突然変異率について検討した結果の概要をのべたものである。

なお、本実験の照射は共同利用運営委員会の許可を得て、農林省放射線育種場において行なったものであり、当場の大庭喜八郎、西田光夫、中島健次の各技官および東大農学部馬上武彦氏らの各氏からは、実験遂行上多大の便宜と援助を受けた。記して関係各位に厚く御礼申し上げる。

材 料 お よ び 方 法

(1) 緩照射実験

苗木にはこれまで育成した栄養系のなかで、比較的含油率の高い2系統（以下 A および B と呼ぶ）を選び、その一年性苗木を供試した。また種子には、高知県幡多郡大方町の母樹より1967年秋に採種した種子を用いた。

これらの実験材料は1968年5月7日、それぞれ紫焼鉢に栽植または播種し、ガンマフィールド内の所定の位置に埋込み、11月5日まで照射した。この場合の栽植位置、照射期間中の平均線量率および供試苗木または種子数などは第1表に示すとおりである。

Table 1. Distance from the cobalt source and dose rate in the chronic irradiation

Distance from the cobalt source (m)	12.3	14.0	17.4	24.5	33.0	45.5
Dose rate (R/day)	417	312	208	104	52	26
Number of second-year seedlings	7 seedlings/plot					
First-year seedlings	66 seeds/plot					

Seedlings were irradiated from May 5th to Nov. 6th except Sunday and National Holiday as a rule.

以後7月31日および11月6日に生育ならびに形態的变化などを調査した。本実験の開始は移植あるいは播種期としては、やゝ遅すぎたため、活着および生育は全般に良好ではなかった。したがって、系統間の差異、その他の詳細な検討は困難となったが、各区間の差異の検討には差支えないものとする。

(2) 急照射実験

上記(1)項記載と同じ母樹より採種した種子および前年度播種して養成しておいた一年性苗木を供試した。

これらの材料は2月21~22日に、第2表の条件で照射した後、直ちに高知県幡多郡大方町の圃場に栽植して、生育ならびに形質調査を行なった。

Table 2. Dose exposed in the acute irradiation

	Dose exposed	Number of seedlings or seeds
Second-year seedlings	2 KR	17
	1.5	18
	1	18
	0	19
Seeds	10	400
	5	400
	0	100

実 験 結 果 お よ び 考 察

(1) 緩照射

第1図は苗木照射の場合の11月6日の生存率および萌芽個体率を、第2図は同じく7月31日およ

び11月6日の萌芽長を示したものである。

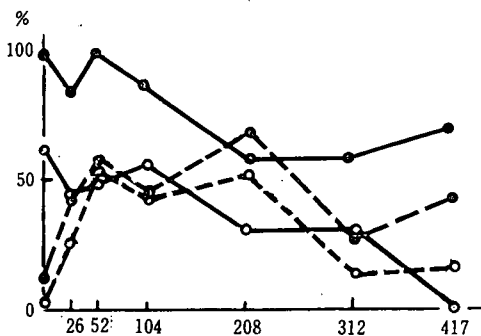


Fig. 1 Lethality of second-year seedlings under chronic irradiation. ● : Survival seedlings, ○ : Seedlings elongated bud, — : Line A, - - : Line B.

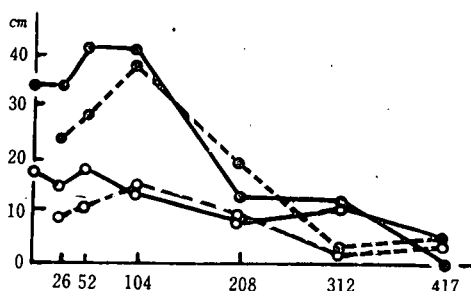


Fig. 2 Length of elongated buds in second-year seedlings under chronic irradiation. ● : Nov. 6 th, ○ : Jul. 31th, — : Line A, - - : Line B.

両図によると、両系統とも一般に高線量率区ほど生存率および萌芽率が低下し、生育が抑制されている。とくに、208 R/day 区以上では8月以降の生長阻害が著しいことが注目される。ただし、このような高線量率区でも葉緑が多少濃くなる以外、形態的な変化は観察出来ない。

なお、A系統の夏までに分化した葉について、含油率および油のう細胞の大きさならびに密度などを調査した結果は第3表に示すとおりであって、104 R/day 以上の区では、密度がやや低下する傾向があるが、その他の形質には区間に著しい差異は認められない。このような傾向は、油のう細胞

Table 3. Density and diameter of oil sacs and oil yield in linalool tree leaves of second-year seedlings under the chronic irradiation.

Dose rate (R/day)	Density of oil sacs (cells)	Diameter of oil sacs (micron)	Oil yield (%)
0	5.5	3.2	1.4
26	5.3	2.6	1.4
52	4.4	2.9	1.4
104	3.3	2.9	1.4
208	3.3	2.9	
312	3.6	2.8	

胞の密度と含油率の関連性が高いとする吉田ら（1968）の結果と一致しない。これが放射線の影響によるものか、あるいは偶然の誤差によるものかは高含油系統育成上、重要な問題であるので、今後十分な検討が必要と思われる。

つぎに第3図は実生照射の場合の発芽率を、第4図は同じく樹高について、それぞれ11月6日に調査した結果である。

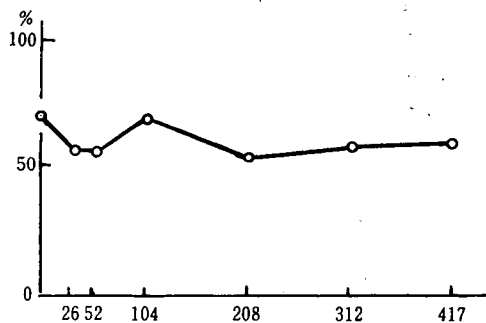


Fig. 3 Germination percentage in seeds under chronic irradiation

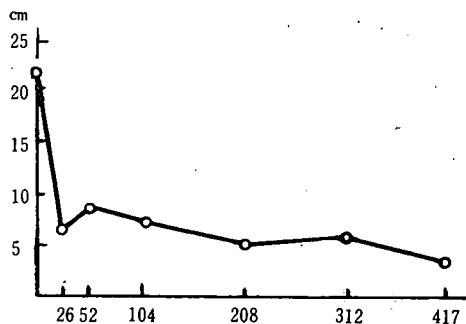


Fig. 4 Height of first-year seedlings under chronic irradiation

両図によると、線量率が増加するにつれ、発芽率および樹高などはともに減少するが、その程度は第1および2図の苗木照射の場合ほど著しくない。したがって、実生照射の場合には苗木照射より高線量率に耐えるように思われる。

なお、この場合にも上記以外の形態的变化はほとんど観察できないが、312 R/day区のみで、主枝が地際で2～4分岐する個体がななり生じ、それらの頻度を調査した結果は第4表のとおり約30%にも達する。

Table 4. Furcation of the shoot in first-year seedlings under 312 R/day irradiation

Number of survival seedlings	Number of seedlings with furcation shoot			
	non	bi	tri	tetra
39 (100)	28 (71.8)	4 (10.3)	5 (12.8)	2 (5.1)

その主枝の分岐が 312 R/day 区のみで現われたのは興味ある事実であって、芳樟の発育と障害との関係を解明する上で重要な現象と考えられる。

以上の緩照射実験では形態的变化はほとんど観察出来ず、また最高の線量率区でも、100%致死しない。これらの結果は、従来の報告にある林木および果樹類などに比べ (Ohba 1964, Nishida etc. 1967), 放射線に対する抵抗性が強いものと考えられる。勿論、従来の報告は1年以上にわたる長期照射の場合が多いのに対し、本実験では約半年間の照射であるので、軽卒には結論出来ない。

(2) 急照射実験

苗木に対する照射では、緩照射の場合と異なり、生育初期にはちぎれ、欠刻などの不整形葉、葉緑素の減少あるいは欠除、萌芽のねじれ、帯化、分岐など各種障害を示す個体が多く現われ、このような個体は1KR区では、約40%、1.5KR区で約45%、および2KR区では約60%にも達した。しかし、これらの異常は生育とともに正常に復し、秋季にも観察でき遺伝的に変化したとみられる個体は、1KR区の葉緑素異常1個体のみである。なお、各区の萌芽長および芽数は第5表に示すとおりであって、線量との関係は明確でない。

Table 5. Growth of second-year seedlings treated with acute irradiation

Dose exposed	Length of elongated buds	Number of elongated buds
0 KR	62.3 cm	2.5
1	70.6	3.0
1.5	72.1	2.1
2	73.1	2.7

種子に急照射した場合の発芽率および12月23日の樹高を示すと、それぞれ第5および6図のとおりである。両図によると、線量の増加とともに発芽率および樹高が減少し、多少の成育障害のある

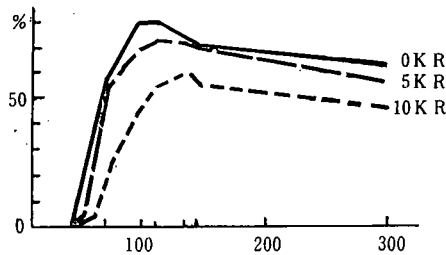


Fig. 5 Germination percentage of seeds treated with acute irradiation

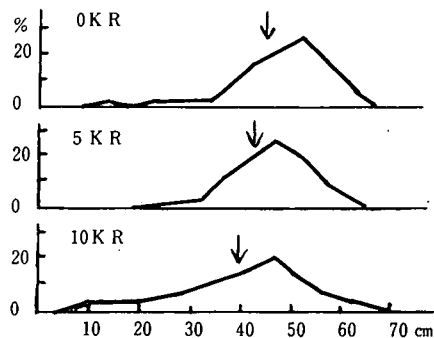


Fig. 6 Height of seedlings obtained by acute irradiation in seeds. Arrows stand for the mean value of each plot.

ことを示しているが、著しくはない。

しかし、生育初期には苗木照射同様各種の障害が現われ、その大部は生育の進むにつれやはり正常に復した。たゞし、この場合には秋季にまで特異な形質を保持し、遺伝的に変化したと思われる形質をもつ個体もかなり存在した。それらの代表的なものを示すと図版のとおりであり、その種類と頻度を示すと第6表のとおりである。

Table 6. Spectrum of somatic mutation obtained by acute gamma irradiation in seeds

Dose exposed (KR)	Number of survival seedlings	Somatic mutation		Total	Percentage per seedling (%)
		Chlorophyll	Morphological		
5	223	2	12	14	6.3
10	182	10	23	33	18.1

第6表によると、5KR区で約6%、10KR区では約18%の個体に変異がみとめられ、そのうち葉緑素変異よりも、葉のちぢれ、細葉化などの形態的变化の多い点が注目される。これらの変異は翌年のさし木繁殖によっても維持され、遺伝的に突然変異したものと考えられる。

以上の本実験結果を総合すると、緩照射では障害が現われても、突然変異と思われる個体は皆無であるので、突然変異が得られた急照射の方が好都合のように考えられる。しかし、従来、永年性作物の緩照射によっても優れた突然変異がしばしば得られており、これらが、長期照射あるいは照射後の萌芽などによることを考慮すれば、本実験においても今後さらに慎重な検討が必要と考えられる。

また、同じ急照射においても、苗木の場合に比べ、種子では非常に多数の突然変異が得られている。このことは種子照射の有効性を物語るものであるが、これには1、2の問題点がある。すなわち、その1つは、芳樟の場合、実生集団は遺伝的に極めて雑ばくであり、本来実用形質の劣る個体を多数含んでいるので、照射素材としては必ずしも適当でない。その2は、本実験の苗木照射線量は、第1報(1967)のさし穂木の結果にもとずいて決定したが、上記のようにやや低線量に過ぎたきらいがある。これら2点を考慮すれば、既存の優れた栄養系を用いて、急照射線量について再検討の必要があると考えられる。

つぎに、実際栽培上、重要な形質である含油成分の突然変異について考えたい。現在含油成分の定性および定量分析は、少なくとも80~100枚計30gの葉を必要とするが、このことは肉眼観察が可能な形質に比べ、突然変異の発見を著しく困難にするものと思われる。すなわち、突然変異部位が小範囲であれば、測定値に直接現われなことを意味し、実際の育種上、変位部分の大小が問題となる。そこで、第6表の突然変異について、その大きさを調査した結果は第7表のとおりである。

Table 7. Size of somatic mutation obtained by acute gamma irradiation in seeds

Dose exposed	Size of somatic mutation (%)					Total (%)
	100-60	80-60	60-40	40-20	20-0	
5 KR	5 (41.6)	1 (8.3)	2 (16.7)	3 (25.0)	1 (8.3)	12 (100)
10 KR	17 (56.7)	1 (3.3)	4 (13.3)	5 (16.7)	5 (10.0)	30 (100)

同表によると、変異部分の広い方がむしろ多く、変異部分が全株の6割以上にも及ぶ場合が、5KR区で約50%、10KR区では約60%の個体にみられる。したがって、含油成分における突然変異も同様と考えればこれらの傾向は育種上極めて好都合と思われる。

要 約

芳樟において、突然変異を誘起するための最適のガンマー線照射方法を検討するために、1年性苗木または種子に緩および急照射し、その線障害および突然変異率について考察した結果はつぎのとおりである。

(1) 1年性苗木に26~417 R/dayで約6カ月間緩照射した場合には、LD 100は417 R/day以上であり、生育障害が著しくなるのは208 R/day以上である。

(2) 種子およびその実生に上記と同じ緩照射した場合には、発芽率の低下および生長障害は苗木の場合ほど著しくない。

(3) 以上の緩照射の場合、線障害および突然変異と思われるような形態的变化は全く発見出来ない。

(4) 1年生苗木に対する1~2KRの急照射では、一時的な形態的異常以外、生育には、線障害は全く現われず、突然変異としては葉緑素欠除の1個体のみである。

(5) 種子に5~10KRの急照射した場合、生育障害は著しくないが、遺伝的に突然変異したと思われる葉緑素および形態的変異が最高約18%生じ、しかもこれら変異部分が植物体の過半を占める場合が多い。

(6) 以上のことから、芳樟の突然変異の誘起には、種子に5~10KRの急照射する方法が最適であるが、他の方法での線量が適切でなかったこともあり、苗木に対する緩および急照射について、今後も検討の必要があると考える。

参 考 文 献

1. NISHIDA, T., K. NAKAJIMA, K. OHBA, and S. TAKATO (1967) Radiosensitivity and induction of somatic mutations in woody perennial under chronic gamma ray irradiation. Gamma Field symposia 6: 19-45.
2. OHBA, K. (1964) Studies on radiosensitivity and induction of somatic mutations in forest trees. Gamma Field Symposia 3: 111-141.
3. 山崎力・林晋三郎・前田和美 (1967) 芳樟の栽培ならびに育種に関する基礎的研究, 第1報. 日本育種学会四国談話会会報; 第1号.
4. 吉田照雄・高市清臣・亀岡和雄 (1967) 芳樟葉の精油含有組織と収油率について. 日作紀 37: 112-117.

(昭和44年9月30日受理)

Explanation of Plates

Somatic mutations obtained by acute gamma irradiation in seeds.
The upper row: Morphological mutation, the lower row:
Chlorophyll mutation.

