Taebo Ko, Hirokata YAMAGATA and Katsumi SYAKUDO : STUDIES ON THE UTILITY OF ARTIFICIAL MUTATIONS IN PLANT BREEDING. VI. Estimation of Mutational Effects by the Frequency of Aberrants in M_2 Generation. (With English summary, p. 93)

Synopsis. The frequency of M_2 aberrants falling outside the variation range of original variety defined with a certain confidence limit (α) was studied on its availability for estimation of mutational effects. Experimental results suggested that the frequency of aberrants was a highly effective index in some quantitative characters not only for estimation of mutational effects but also for selection of mutants.

人為突然変異の利用に関する育種学的研究

VI. 処理次代の変異限界外個体出現率による突然変異誘起効果の評価

高 泰 保・山 県 弘 忠・赤 藤 克 己

(京都大学農学部, 606 京都市左京区)

I. 緒 言

量的形質に関する突然変異の誘起効果を簡易かつ適確に評価することは有用な突然変異体を効果的に獲得する上で重要な意義を有することはいうまでもないが、それがためにはその目的にそつた適切な指標の設定が必要である。また同時に、その指標は突然変異体の選抜にも有効なものであることが望ましい。

以上の観点からすれば、量的形質に関してよく用いられているいわゆる可視的変異体の出現率、個体分散などは必ずしも適切な指標とは言い難い。例えば、前者については変異体の同定が観察者の主観に基づいて行なわれるために評価値相互間の比較が意味をなさない場合が多く、また後者については評価値を求めるのに多くの労力を必要とする上に、突然変異体の選抜に対して貢献するところが少ないことなどが指摘される。

筆者らは、このような現況に鑑み、一定の基準に従つて供試原品種の個体変異の限界を設定し、この限界の外側に分布する個体の出現率、すなわち本報でいう変異限界外個体出現率が、突然変異誘起効果の評価ならびに突然変異体の獲得上有効な指標になりうるのではないかと考え、水稻の出穂期を対象にこれらの点について検討を行なつた。

II. 実験材料および実験方法

(1) 第1実験：水稻品種若葉およびアケボノ種子の ethyleneimine (EI) およびX線処理次代 (M_2) を用いて、上記変異限界外個体出現率が突然変異誘起効果の評価にどの程度有効であるかをしらべた。若葉について

は EI 3 処理区 (処理濃度 0.3, 0.5 および 0.8%, いずれも 20°C, 2 時間処理) および X 線 3 処理区 (処理線量 10, 20 および 30 kR, 線量率 110 R/min.) の 6 処理区、またアケボノについては EI 2 処理区 (処理濃度 0.3 および 0.5%, 処理温度, 時間は若葉の場合と同じ) および X 線 3 処理区 (処理線量, 線量率とも若葉の場合と同じ) の 5 処理区の計 11 処理区について各処理区とも M_1 80 個体から個体あたり 3 穂ずつ 240 穂をとり、これ無作為に 6 等分して 6 群としたのち、各処理区から任意に 1 群ずつとりだし、これに原品種を加えて 1 組合せとし、両品種とも計 6 組合せを M_2 栽培に供した。 M_2 における各プロット (群) の栽植個体数は 250~300 個体とし、供試全個体について出穂日を調査したのち、危険率 (α) を 0.20, 0.05, 0.01 および 0.001 とする変異限界外個体出現率、個体分散ならびに平均値をプロットごとに求めた。

(2) 第2実験：EI および ethyl methanesulfonate (EMS) で処理した品種銀坊主種子の M_2 および M_3 を用いて、 M_2 における変異限界外個体出現率と M_3 における突然変異系統出現率との関係を検討した。用いた処理区は EI 3 処理区 (処理濃度 0.2, 0.4 および 0.6%, いずれも 18°C, 2.5 時間処理) および EMS 2 処理区 (処理濃度 0.6 および 1.0%, いずれも 20°C, 17 時間処理) であつて、各処理区とも M_1 15 個体から個体あたり 3 穂ずつ 45 穂を無作為に選んで M_1 約 1000 個体を育成し、出穂期に関して危険率 (α) を 0.20, 0.05, 0.01 および 0.001 とする変異限界外個体出現率を処理区ごとに求めた。ついで供試処理区のおのおのから 50

1969 年 1 月 27 日受領

～150 の M_2 個体を抽出して個体別に M_3 系統 (50 個体/系統) を育成し、出穂日の個体分布の状態によつて出穂期に関する突然変異系統であるか否かの判定を行ない、突然変異系統出現率を求めた。

なお、変異限界外個体出現率は、次式 (増山, 1951) により設定した原品種の変異限界の外側に分布する個体数を百分率で示したものである。

$$\bar{x} \pm u \{(N+1) F/N\}^{1/2}$$

ただし、 $\bar{x}$: 平均値

u : 標準偏差

N : 供試個体数

F : 危険率 α (確率 P) での $n_1=1$, $n_2=N-1$ とする分散比 F の値

III. 実験結果およびその考察

(1) 変異限界外個体出現率による突然変異誘起効果の評価 (第1実験)

第1表は品種若葉について、 M_2 の出穂期に関する変異限界外個体出現率 ($\alpha=0.01$)、個体分散ならびに平均値をプロット単位で示したものである。第1表より、各処理区間の差異はこれら3指標のいずれにおいても認められるが、個体分散とならんで変異限界外個体出現率において著しいことがうかがわれる。変異限界外個体出現率については、危険率 (α) を 0.20, 0.05 および 0.001 とした場合も第1表の α が 0.01 の場合とほぼ同様の傾向が認められている。このように変異限界外個体出現率は突然変異誘起効果の検出に有効であるとみられるので、以下さらに詳しく検討することにする。

第2表は供試両品種について上記3指標の分散分析の結果を示したものである。ただし、変異限界外個体出現率については逆正弦変換値、個体分散に関しては対数変換値についてそれぞれ分散分析を行なつた。第2表から明らかなように、平均値に関するアケボノの処理区一原品種の1例を除き、若葉、アケボノ両品種とも実験区間、処理区一原品種および処理区間の各分散比はいずれの指標についても1%水準で有意であるが、このうち変異限界外個体出現率の分散比は個体分散および平均値の分散比よりも概して大きく、この傾向はとくに若葉において著しい。ところで実験区間の分散比あるいは処理区一原品種および処理区間の分散比の大小は処理効果の検出能力をみる一つの尺度と考えられるので、変異限界外個体出現率は突然変異誘起効果を評価するための優れた指標とみることができる。ただし第2表の $\alpha=0.20$ の反復の分散比にみられるように、ある程度以上の高い危険率 (α) を適用すると栽培環境、調査方法などによつて評価値が変動しやすくなることが推察されるので、この点

Table 1. The estimates of heading date in M_2 after seed treatments with ethyleneimine and X-rays (Variety, Wakaba)

1. The frequency of aberrants¹⁾ (% , $\alpha=0.01$)

Replication	I	II	III	IV	V	VI	Mean
Treatment							
EI-0.3%	8.3	8.3	11.7	8.0	7.7	11.5	9.3
// -0.5%	12.8	17.6	11.0	10.9	7.2	9.5	11.6
// -0.8%	9.8	22.8	18.2	18.8	12.2	15.5	16.2
X-rays-10kR	4.9	4.5	2.9	1.6	2.0	2.5	3.1
// -20 //	5.6	3.6	4.9	1.5	0.8	3.0	3.2
// -30 //	4.5	7.7	3.8	3.1	3.6	7.5	5.0
Original var.	1.2	1.2	0.4	1.6	1.9	1.7	1.3

2. Variance among plants (days)

Replication	I	II	III	IV	V	VI	Mean
Treatment							
EI-0.3%	9.8	7.1	3.3	2.7	5.1	14.7	7.1
// -0.5 //	7.4	5.3	5.2	4.9	5.6	9.0	6.2
// -0.8 //	6.3	33.0	12.9	31.9	7.4	6.6	16.3
X-rays-10kR	3.8	3.4	7.0	1.6	3.3	2.7	3.6
// -20 //	4.1	2.2	3.2	2.1	1.9	4.5	3.0
// -30 //	3.3	4.2	3.3	2.5	4.1	4.9	3.7
Original var.	2.0	1.5	1.2	1.6	2.4	2.1	1.8

3. Mean value (date in Aug.)

Replication	I	II	III	IV	V	VI	Mean
Treatment							
EI-0.3%	27.6	27.2	27.6	27.1	27.7	27.8	27.5
// -0.5 //	27.9	27.9	26.9	27.1	27.3	27.4	27.4
// -0.8 //	26.6	28.4	28.1	28.6	27.8	27.7	27.9
X-rays-10kR	27.0	27.4	26.9	26.9	27.4	26.9	27.1
// -20 //	26.7	27.0	26.6	26.4	26.4	26.9	26.7
// -30 //	26.7	27.2	26.8	26.0	26.4	27.0	26.7
Original var.	26.9	26.6	26.5	26.0	26.8	27.1	26.7

1) Aberrants falling outside the variation range of original variety defined with the confidence limit (α).

には留意する必要がある。

変異限界外個体出現率の指標としての有効性は、供試品種が違えば当然異なると考えられる。本実験において若葉では早生方向に突然変異体が多く生じたのに対し、アケボノでは早、晩両突然変異体の出現頻度がほぼ等しかつたが、このような事実と第2表に示した結果とを考えあわせると、変異限界外個体出現率による突然変異誘起効果の評価は一般に突然変異が正負いずれかの方向に偏して生じるような品種においてとくに効果的ではないかと推察される。また個体分散と違つて、変異量の大き

Table 2. Variance analysis of three indices for heading date in M_2

Variety	Source of variance	df	Index											
			The frequency of aberrants ¹⁾								Variance among plants ²⁾		Mean value	
			$\alpha^3)=0.20$		$\alpha=0.05$		$\alpha=0.01$		$\alpha=0.001$		M. S.	F	M. S.	F
			M. S.	F	M. S.	F	M. S.	F	M. S.	F				
Wakaba	Treatments	6	182.30	11.66**	209.52	16.72**	228.67	37.86**	186.22	21.75**	0.440	8.30**	1.398	8.42**
	Treat.-original var.	1	531.28	33.99**	467.69	37.33**	425.88	70.51**	363.60	42.48**	1.026	19.46**	1.559	9.39**
	Among treat.	5	112.51	7.20**	157.89	12.60**	189.23	31.33**	150.74	17.61**	0.322	6.08**	1.366	8.23**
	Replications	5	127.21	8.14**	22.18	1.77	15.80	2.62*	11.49	1.34	0.322	—	0.202	1.22
	Error	30	15.63		12.53		6.04		8.56		0.053		0.166	
Akebono	Treatments	5	102.80	22.01**	142.23	25.58**	122.01	18.63**	104.92	21.07**	0.262	20.15**	0.434	6.03**
	Treat.-original var.	1	179.20	38.57**	236.28	42.50**	242.21	36.98**	212.55	42.68**	0.414	31.85**	0.091	1.26
	Among treat.	4	83.70	17.92**	118.72	21.35**	91.96	14.04**	73.01	15.68**	0.229	17.62**	0.519	7.21**
	Replications	5	83.90	17.97**	20.24	3.64*	26.56	4.05**	22.28	4.47**	0.092	7.08**	0.434	6.03**
	Error	25	4.69		5.24		6.55		4.98		0.013		0.072	

1) Arcsine transformed 2) Log. transformed 3) Confidence limit

* Significant at 5% level, ** Significant at 1% level.

い変異体が不連続的に出現するような場合に評価値が変動し難いことも同指標の優れた特徴であろう。さらに本実験の結果からも推察されるように、危険率 (α) の大小もまたしばしば有効性を左右し、過大または過小の α 値を用いると突然変異誘起効果の違いは検出されにくくなると考えられる。本実験の結果よりすれば、 α には一般に 0.05~0.001 の値を与えるのが適当ではないかと考えられる。

(2) M_2 変異限界外個体出現率と M_3 突然変異系統出現率との関係 (第2実験)

第1図 (A) は品種銀坊主について、処理区ごとに危険率 (α) を 0.20, 0.05, 0.01 および 0.001 とする M_2 変異限界外個体出現率を求め、それらと M_3 における突然変異系統出現率との関係を図示したものである。第1図 (A) から明らかなように、 M_2 変異限界外個体出現率と M_3 突然変異系統出現率との間には α のいかんにかかわらず、高い正の相関関係が認められる。しかし、 M_3 突然変異系統出現率の増加は直線的でなく、 M_2 変異限界外個体出現率の増加にともなう漸次緩慢になる傾向が認められ、両者の関係は ($\alpha, 0$) を基点とする2次の回帰曲線で示すことが可能ではないかと考えられる。

第1図 (B) は危険率 (α) を 0.001 とする M_2 変異限界外個体出現率と M_3 突然変異系統出現率との関係を、 M_3 を養成するために用いた M_2 個体が変異限界外にある場合 (○) と変異限界内にある場合 (×) とに分けて別々に示したものである。本図によれば、変異限界

Fig. 1 Relationship between the frequency of aberrants in M_2 and that of mutant lines in M_3 (Variety, Gimbozu)A: Confidence limit (α)=0.20~0.001B: Confidence limit (α)=0.001

外個体群、変異限界内個体群のいずれにおいても M_3 突然変異系統出現率は M_2 変異限界外個体出現率の増加に

ともなつて増加し、かつ両群の間には平行的な関係が存在する。 α が0.001以外の場合については、供試 M_2 個体の抽出にあつて層別抽出法を採用したために両群の関係を明らかにすることはできなかつたが、 M_2 で原品種の平均出穂日より早くまたは遅く出穂する個体ほど突然変異体である可能性が大きいので(山県ら, 1963), α を大きくしていけば、同一処理区における変異限界外個体, 変異限界内個体両群の M_3 突然変異系統出現率はともに低下していくと考えられる。

供試品種あるいは栽培環境が異なれば, M_2 変異限界外個体出現率と M_3 突然変異系統出現率との相互関係は当然変化するであろう。例えば、遺伝子レベルでの突然変異率が一定であつても生じる突然変異の方向にかたよりがみられる若葉のような品種では、そうでないアケボノのような品種に比べて, M_2 において2あるいはそれ以上の遺伝子座で同時に同方向に突然変異が生じている個体が多くなるため、変異限界外個体出現率が高くなり、同出現率に対する M_3 突然変異系統出現率の比は低下すると考えられる。また、栽培環境の均一性が増す場合も、突然変異体が M_2 で変異限界外個体として検出されやすくなり、上記の、突然変異の方向にかたよりがみられる場合と同様の傾向が認められるものと推察される。ただし、出穂期に関しては、遺伝力が高いため(伊藤ら 1958; 鳥山ら 1958), 栽培環境の均一性は実際にはそれほど問題にならない。したがつて、 M_2 変異限界外個体出現率と M_3 突然変異系統出現率との間には突然変異の方向性について極端なかたよりがみられない品種をとりあつかうかぎり、第1図(A)に示したような関係が成立するものと考えられる。

一般的に、 M_2 変異限界外個体出現率を x , M_3 突然変異系統出現率を Y , 変異限界外個体群および変異限界内個体群の M_3 突然変異系統出現率をそれぞれ y_1 および y_2 とすれば、それらの間には次のような関係式が成立するであろう。

$$y_1 = \frac{x - (1 - Y)\alpha}{x}$$

$$y_2 = \frac{Y - X + (1 - Y)\alpha}{1 - x}$$

事実、これらの式に本実験の観測値 x , Y (第1図A, $\alpha=0.001$) を代入して y_1 , y_2 を求めたところ、それらは実際の値(第1図B)とかなりよく一致していた。

以上のことから、 M_2 変異限界外個体出現率と M_3 突然変異系統出現率との関係のある標準的な品種についてあらかじめ明らかにしておけば、出穂期の場合、供用材料の遺伝子型や栽培環境が多少異なつていても、 M_2 変異限界外個体出現率のみを用いて M_3 における突然変異

系統の出現率をかなり正確に予測できると考えられる。このことは程度の差はあつても出穂期以外の量的諸形質についてもあてはまるものと思される。このように変異限界外個体出現率は、処理区の選抜に役立つばかりでなく、同出現率を求めるのに用いる危険率(α)との関係をとおして処理区内における突然変異体の合理的選抜に寄与するところも大きいと考えられる。従来、突然変異誘起処理後代における量的形質に関する遺伝的変異の選抜効果は、交雑後代をあつかう場合と同様、遺伝力によつて推定されている場合が多い(ABRAMS *et. al.* 1964, MIAH *et. al.* 1965)が、遺伝力そのものは突然変異体の選抜に直接利用することはできない。これらのことから変異限界外個体出現率は優れた指標であるといえる。

IV. 摘 要

1) 水稻品種若葉, アケボノおよび銀坊主に突然変異誘起処理を行ない、処理次代(M_2)における変異限界外個体出現率が突然変異の誘起効果の評価に有効であるかどうか、また翌代(M_3)における突然変異系統の出現率といかなる関係にあるかを穂出期について検討した。

2) M_2 変異限界外個体出現率は、危険率(α)が適当であれば、個体分散と同等ないしそれ以上に突然変異誘起効果の評価に有効である。

3) M_2 変異限界外個体出現率と M_3 突然変異系統出現率との間には高い正の相関関係が存在すること、さらに変異限界外個体群および変異限界内個体群のそれぞれの次代(M_3)における突然変異系統出現率はともに M_2 変異限界外個体出現率の増加にともなつて増加し、かつ両群の変化は平行的である。したがつて、 M_2 変異限界外個体出現率から、 M_3 における突然変異系統の出現率を比較的容易に推定しうると考えられる。

4) 以上の結果から、 M_2 変異限界外個体出現率は突然変異誘起効果の評価に対して有効であるばかりでなく、突然変異体の選抜に対しても寄与するところが大きいと結論される。

引 用 文 献

- ABRAMS, R. and K. J. FREY. 1964. Variation in quantitative characters of oat (*Avena sativa* L.) after various mutagen treatments. *Crop Sci.* 4: 163~168.
- 伊藤隆二・橋爪厚, 1958. 水稻雑種における個体および系統選抜に関する二、三の知見, 植物の集団育種法研究, 163~169.
- 増山元三郎, 1951. 少数例のまとめ方と実験計画の立て方, 河出書房, 東京.
- MIAH, M. J. and H. YAMAGUCHI. 1965. The variation of quantitative characters in the irradiated

progenies of two rice varieties and their hybrids. *Radiation Botany* 5: 187~196.

鳥山国土・相馬幸穂・蓬原雄三, 1958. 水稻における集団育種法と系統育種法との比較, とくに個体選抜

の効果について, 植物の集団育種法研究, 170~180. 山県弘忠・赤藤克己, 1963. 人為突然変異の利用に関する育種学的研究, II. 水稻の γ 線照射後代 X_3 における突然変異の発現について, 育種, 13: 14~20.

Summary

The frequency of M_2 aberrants falling outside the variation range of original variety defined with a certain confidence limit (α), being called "the frequency of aberrants" for short in this paper, was studied on its availability for estimating the mutational effects of radiation and chemical treatments on quantitative characters. The present study is concerned with heading date of rice plants and is composed of two experiments regarding the frequency of aberrants; a comparison of its effectiveness for estimation of mutational effects with those of other statistics and the relationship between the frequency and the frequency of mutations revealed in M_3 generation.

Two varieties, Wakaba and Akebono, were used for the first experiment, and the variation of heading date in the M_2 generation following seed-treatments with ethyleneimine and X-rays were measured by three different indices, the frequency of aberrants, variance among plants and mean value. The variance analysis of thus obtained data indicated that the variation between treatments were significant at 1% level for all three indices and were in the following order; the frequency of

aberrants $\geq$ variance among plants $\gg$ mean value.

In the second experiment, seeds of a variety Gimbōzu were treated with several doses of ethyleneimine and ethyl methanesulfonate, and the relation between the frequency of aberrants in M_2 and the frequency of mutant lines in M_3 was investigated. High positive correlation was revealed between those two frequencies. The frequency of mutant lines in M_3 increased with increase of the frequency of aberrants in M_2 , and this was observed in both cases where the M_2 plants fell outside and inside the range of original variety. It was also found that the mutation frequency in M_3 could be easily deduced from the frequency of aberrants in M_2 corresponding to a given confidence limit.

Experimental results suggest that the frequency of aberrants is a highly effective index in some quantitative characters not only for estimation of mutational effects but also for selection of mutants.

T. KO

H. YAMAGATA

K. SYAKUDO

Faculty of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606.