Tae-Bo Ko and Hirotada YAMAGATA : STUDIES ON THE UTILITY OF ARTIFICIAL MUTATIONS IN PLANT BREEDING. VII. Estimation of the Frequency of Mutants in Selected Plants. (With English Summary, p.104)

Synopsis. The upper and lower limits for selection of mutants from a treated population were determined on the basis of the normal distribution of untreated plants. The frequencies of mutants among the plants selected from treated populations were estimated theoretically. Expectations were supported by experimental results.

人為突然変異の利用に関する育種学的研究

VII. 選抜個体群における突然変異体頻度の推定

高 泰 保・山 県 弘 忠

(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獲得の効率突然変異の誘起ならびに選抜の適否にかかっているが、適切な選抜方法の確立には、選抜した個体集団の次代における突然変異系統(分離系統を含む)の出現率、換言すれば選抜個体群における突然変異体(ヘテロ個体を含む)の頻度を選抜世代において容易かつ適確に予測する必要がある。筆者らは、さきに棄却限界法(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 M_2 個体の頻度、すなわち M_2 変異限界外個体出現率が突然変異誘起効果を評価する有効な指標となりうることを明らかにするとともに同指標を用いることにより変異限界外個体群における突然変異体の頻度が比較的容易に推定できることを指摘した(高ほか, 1969)。しかし変異限界の設定に棄却限界法を用いた場合、突然変異体頻度の推定値は原品種の供試個体数によつて変動する。そこで筆者らはこの点に検討を加え、原品種の正規分布性を利用してある危険率のもとで選抜の上限および下限を設定し、それによつて選抜した個体群における突然変異体の頻度を推定する方法を考えた。本報ではその方法ならびに同方法に関する実験的検証の結果を報告する。

II. 選抜個体群における突然変異体頻度の推定方法

まず、選抜個体群における突然変異体の頻度推定の理論的基礎について述べる。なお、ここでいう選抜個体群における突然変異体の頻度とは、ある形質について選抜した個体群に含まれている同形質に関する突然変異体(完全劣性の変異遺伝子に関するヘテロ個体を含む)の選抜個体に対する割合である。

原品種の個体が $N(\mu, \sigma^2)$ なる正規分布を示す場合、標本の値を i とすると

$$\frac{|i - \mu|}{\sigma} = c$$

$$\therefore i = \mu \pm c\sigma$$

ただし、 c : normal deviate

が成立する。したがつて危険率(α)を設定すれば、normal deviate の表から c が求められるので i をきめ

Fig. 1. Estimation of the frequency of mutants in the plants selected from a treated population (M_2). When the frequency of mutants in the treated population (area between solid line and the dotted line) is Y and the size of selected plants is x , the size of mutants in the selected plants(stippled area) is given by $x - (1 - Y)\alpha$.

Solid line : base population with the size of 1

Dotted line : distribution of normal plants

i : upper or lower limit for selection, being determined with a given critical rate(α).

ることがきる。いま、このようにして得られた i を選抜の上限および下限として処理区個体集団に適用して i の外側に分布する個体を選抜する場合を考えると、処理区においても非突然変異体は原品種と同様に $N(\mu, \sigma^2)$ なる分布を示すはずであるから、処理区個体集団の大きさを 1, 同集団における突然変異体の頻度を Y とし、選抜個体群の大きさを x , 同個体群における突然変異体の頻度を y とすれば、第 1 図からも推察されるようにつぎの関係式が成立する。

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

それゆえ、何らかの方法で Y が得られれば、(1) 式を用いて y を求めることができ、したがって y/Y , すなわち突然変異体選抜の効率をも推定することが可能である。また、(1) 式において Y は 0~1 の範囲にあるから

$$1 - \frac{\alpha}{x} \leq y \leq 1 \quad (2)$$

が成立し、 y の下限値は選抜当代の α/x の値によつてきまつてくる。

ところで、特定の 1 つの方向への突然変異を選抜の対象にし、その方向にのみ個体選抜を行なう場合には、処理区個体集団の大きさを 1 とし、選抜個体群の大きさを x_a , 同個体群における選抜方向への突然変異が生じている個体（逆方向への突然変異が同時に生じている個体をも含むものとし、以下これらを選抜方向への突然変異体と称する）の頻度を y_a とすれば、それらの間には理論上つぎの関係が成立する。

$$y_a = r \left\{ 1 - \frac{1}{2} \cdot \frac{\alpha}{x_a} (1 - Y) \right\} \quad (3)$$

ただし、 r は選抜個体群における突然変異体のうち選抜方向への突然変異体の占める比率を示す。この場合、処理区個体集団における選抜方向への突然変異体の頻度を Y_a とすれば、選抜の効率は y_a/Y_a によつて評価される。

III. 実験的例証

1. 実験材料および実験方法

水稻品種若葉およびアケボノの気乾種子に ethyleneimine(EI) 処理（若葉, 0.5 および 0.8%; アケボノ, 0.3 および 0.5%; いずれも 20°C, 2 時間処理）を行ない、処理区ごとに M_1 80 個体のおのおのから無作為に 3 穂ずつ計 240 穂をとりだし、混合採種した。

M_2 世代では原品種、各処理区それぞれ約 1,500 個体を栽植し、全栽植個体について出穂日をしらべ、原品種においては個体頻度分布が正規分布とみなしうることを確めて μ および σ の推定値を算出した。ついでこれらの推定値を用いて危険率 (α) を 0.01 および 0.15 に設定した場合の選抜の上限および下限 (i) を定め、これを各処理区に適用して早、晩両方向に選抜したときの選抜個体群の大きさ (x) を求めた。

つぎに、各処理区からそれぞれ全体で約 50 の M_2 個体を出穂期に関して層別に抽出して M_3 系統 (100 個体/系統) を養成し、出穂期に関する平均値あるいは個体分散を原品種と比較することにより、それらの M_2 個体が突然変異体であるか否かの判定を行ない、その結果に基づいて M_2 の処理区および選抜個体群における突然変異体の頻度 (Y および y) の実験値を求めた。

なお、このように早、晩両方向に選抜する場合のほか、前述のごとく i の値によつて早生方向にのみ大きさ x_a なる個体選抜を行なう場合についても、処理区および選抜個体群における早生方向への突然変異体の頻度 (Y_a および y_a) を実験的に求めた。

2. 実験結果

第 1 表は早、晩両方向に個体選抜を行なつた場合の M_2 選抜個体群における突然変異体の頻度 (y) について、実験値と (1) 式による推定値とを比較したものである。なお、推定値を求めるのに必要な Y には実験値を用いた。第 1 表から明らかなように、 y の実験値と推定値とは α/x が 0.2 以下のときよく一致しており、0.4 ~ 0.7 の範囲にある場合でも大きな差がみられない。こ

Table 1. Frequency of mutants in the M_2 plants selected in both directions of early and late maturing.

Variety	EI dose (2hrs.)	Frequency of mutants in the treated population (Y)*	Critical rate (α)	Proportion of selected plants to total plants (x)	α/x	Frequency of mutants in selected plants (y)	
						Observed*	Calculated**
Wakaba	0.5%	0.462	{ 0.01 0.15	0.095 0.303	0.105 0.495	0.933 0.636	0.944 0.734
"	0.8%	0.654	{ 0.01 0.15	0.135 0.369	0.074 0.407	0.941 0.767	0.974 0.859
Akebono	0.3%	0.289	{ 0.01 0.15	0.060 0.203	0.167 0.739	0.905 0.619	0.877 0.475
"	0.5%	0.386	{ 0.01 0.15	0.102 0.289	0.098 0.519	0.938 0.762	0.940 0.681

* Obtained from the progeny test.

** Calculated by the formula, $y = 1 - \alpha/x(1 - Y)$.

Table 2. Frequency of early maturing mutants in the M_2 plants selected in early maturing direction.

Variety	EI dose (2 hrs.)	Frequency of mutants in the treated popu- lation(Y)*	Critical rate (α)	Proportion of se- lected plants to total plants (x_a)	α/x_a	Frequency of early maturing mutants in selected plants (y_a)	
						Observed*	Calculated**
Wakaba	0.5%	0.462	0.01	0.009	1.111	0.800	0.701
"	0.8%	0.654	0.01	0.026	0.385	0.929	0.933
Akebono	0.3%	0.289	0.01	0.008	1.250	0.750	0.556
"	0.5%	0.386	0.01	0.019	0.526	0.905	0.838

* Obtained from the progeny test.

** Calculated by the formula, $y_a = r\{1 - 1/2 \cdot \alpha/x_a(1 - Y)\}$; r was regarded as 1. Fig. 2. Relation between α/x and the observed value of y .

α : critical rate, x : proportion of selected plants to total plants, y : frequency of mutants in selected plants.

のように高い一致度が得られたことはこの推定方法が有効であることを示すものであろう。

ところで、筆者らはさきに水稻品種銀坊主の出穂期に関する本実験と同程度の規模の実験において、 $\alpha=0.01$, $\alpha/x \approx 0.1$ のとき $Y \approx 0.4$ なる結果を得た(高ほか, 1969)が、本実験においても、第1表に示したように若葉では $\alpha=0.01$, $\alpha/x=0.105$ (0.5% 処理区) のとき $Y=0.462$, またアケボノでは $\alpha=0.01$, $\alpha/x=0.098$ (0.5% 処理区) のとき $Y=0.386$ となっており、 α/x と Y との関係は銀坊主の場合とほぼ同じである。このことから α/x が等しければ、 y の推定には他品種で得られた Y の値をも十分利用できるのではないかと考えられる。

第2図は第1表に示した α/x と実験値 y との関係を図示したものであるが、 y の実験値はいずれの選抜個体群についても直線 $y=1-\alpha/x$ の上部にプロットされている。この事実は(2)式の成立を実証しており、 α が

小さく x が十分に大きければ、 Y に関する情報が与えられなくても y はかなり正確に予測できることを示唆している。

つぎに早生方向に個体選抜を行なった場合の選抜個体群における早生方向への突然変異体の頻度 (y_a) について実験値と(3)式による推定値を示すと第2表のようである。ただし、推定値を求めるにあたっては、 α が 0.01 と小さく、したがって選抜個体群では逆方向(晩生方向)にのみ突然変異の生じている個体が含まれている割合はきわめて低いと考えて $r=1$ とみなした。第2表によれば、 y_a の実験値と推定値は、第1表の y の場合と同様に α/x_a の増大にともなつて若干その差異が増大する傾向が認められるが、概してかなりよく一致している。このような結果から α が大きくなければ、 r の値をとくに考慮しなくとも y_a は適確に推定されるものと考えられる。

III. 考 察

突然変異誘起処理後代 (M_2 以降) において突然変異体を選抜しようとするとき、選抜の上限あるいは下限を処理区個体集団の変異を基礎にして定めたのでは選抜個体群における突然変異体の頻度を推定することはできない。これに対して原品種の変異を基礎にして定めると、(1)式に示したごとく選抜個体群における突然変異体の頻度 (y) は α/x を介して処理区の突然変異体頻度 (Y) と関係づけられるので、 Y に関する情報が与えられれば、選抜当代において y および y/Y の推定が可能となる。なお実験結果が示すように、本実験に関するかぎり y はほぼ正しく推定できることが実証された。この場合でも尺度を適当に変換して原品種の正規分布性を高めれば、より正確な推定値が得られるものと推察される。

ところで育種の間ではある特定方向への突然変異体、たとえば出穂期に関しては早生突然変異体が選抜の目標となり、その方向に個体選抜が行なわれることが多い。このような場合、選抜個体群における選抜方向への突然変異体の頻度 (y_a) の推定には、(3)式に示すごとく

Y のほかに、選抜個体群における突然変異体のうち選抜方向への突然変異体を占める比率(r)に関する情報が必要とする。本実験では $\alpha=0.01$ のとき $r=1$ とみなして良好な推定値を得たが、水稻の出穂期に関しては $\alpha=0.05$ のとき $r=1$ なる結果も得られている(山県ら, 1963)ことから、 α をこの程度以下の値にとれば一般に $r=1$ とみなしてよいのではないかと考えられる。 y_a/Y_a の評価に要する Y_a の値は、 Y が既知であればある標準的な処理区における Y_a と Y との関係より推定できるが、出穂期に関しては、早生突然変異と晩生突然変異の出現頻度の比が品種によつて異なることも認められている(山県ら, 1960)ので、 Y_a と Y との関係は品種ごとに明らかにしておく必要があると考えられる。

以上のごとく、原品種の正規分布性を利用し、ある危険率で選抜の上限あるいは下限を設定すれば、選抜個体群における突然変異体の頻度および選抜の効率が容易かつ適確に推定され、したがつて突然変異体の選抜も効果的に行なうと結論される。

V. 摘 要

1) M_2 世代以降において量的形質に関する突然変異体を効率よく選抜することを目的に、原品種の変異の正規分布性を利用して個体選抜の上限あるいは下限を設定する方法、ならびにそれによつて選抜した個体群中に目的とする突然変異体がどの程度含まれているかを選抜当代において推定する方法を明らかにした。

2) ある形質について、原品種を対象に危険率を α と

する選抜の上限および下限を定め、これを大きさ1の処理区個体集団に適用して上、下両方向に個体選抜を行なう場合、選抜個体群(大きさ x)における突然変異体の頻度(y)は

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

ただし、 Y :処理区における突然変異体の頻度から推定される。なお特定の1つの方向に個体選抜を行なつた場合についても、選抜個体群における選抜方向への突然変異体の頻度(y_a)と Y の関係を明らかにした。

3) 上記 y および y_a の推定がどの程度適正に行なわれるかを、水稻種子の ethyleneimine 処理次代における出穂期に関する個体選抜によつて実験的に検証した。その結果、推定値は実験値によく一致しており、 y 、 y_a ともかなり適確に推定できることが明らかにされた。

引用文献

- 高 泰保・山県弘忠・赤藤克己, 1969. 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, 育種, 19: 89~93.
- 山県弘忠・赤藤克己, 1960. 人為突然変異の利用に関する育種学的研究, I. 水稻の γ 線感受性ならびに照射次代に得られた可視的変異について, 育種, 10: 152~162.
- , 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: 14~30.

Summary

With the view of obtaining an efficient screening method for mutations in quantitative characters, the frequency of mutants among selected plants was observed in relation to selection intensity.

(1) Assuming a normal distribution of untreated plants (original variety), the upper and the lower limits for selection of mutants in a treated population (M_2) were determined for a certain critical rate(α). When the size of a treated population is 1 and the proportion of selected plants, falling outside the limits, is x , the size of mutants in the selected group is given by $x-(1-Y)\alpha$, where Y is the frequency of mutants in the treated population. Therefore, the frequency of mutants among the selected plants (y) can be estimated by

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

When selection is made only in one direction, the frequency of plants carrying mutations in the given direction among the selected plants (y_a) can be estimated by

$$y_a=r\left\{1-\frac{1}{2}\cdot\frac{\alpha}{x_a}(1-Y)\right\}$$

where r is the ratio of desired mutants to total mutants in the selected group and x_a is the proportion of selected plants to total plants.

(2) Seeds of two rice varieties, Wakaba and Akebono, were treated with 0.3~0.8% solutions of ethyleneimine for 2 hours at 20°C. About 1,500 plants of the untreated population as well as the same number of plants from each treatment were recorded for heading date in the M_2 generation, and the selection limits were determined for two kinds of critical rates ($\alpha=0.01, 0.15$). About 50 plants were chosen from each treatment by stratified sampling, and it was examined whether they were mutants or not in the M_3 generation. Experimental results indicated that observed frequencies of mutants in the selected plants agreed with expected frequencies obtained from the formulae given above.

T. KO

H. YAMAGATA

Faculty of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606.