Takehiko MOUE : Enhancement of Survival Rate by Embryo Culture of *Brassica oleracea* var. *capitata* L. in γ -irradiation at Different Stages of Embryo Development (English summary on p.218)

カンランの γ 線照射胚の培養による生存率の向上

馬 上 武 彦

(新潟大学農学部 新潟市)

放射線による突然変異育種方法の改善の一つとして、突然変異率を高めるため発育中の胚に高線量の γ 線を照射した後、その胚を培養によって可能な限り生存発育させようと試みた。供試材料として金盃と改良富士を用い、5 kR の4日間および 20 kR の1日間照射を行なった。照射の時期は受粉後 9~22 日目の球形胚期および早期のハート形胚期であった。胚培養は受粉後 28~52 日目に行ない、結果を培養後 40~80 日目に調査した。さらに照射当代の種子稔性および発芽率も調べた。発芽率は両照射区とも 0 %で致死線量であることが確認された。これと同じ線量で照射された胚の培養を試みると、胚の茎葉形成率、胚の根形成率および培養後のポットへの移植時の生存率は、低線量率照射 (5 kR/日) の方が高線量率照射 (20 kR/日) より若干高かった。培養による効果は、金盃と改良富士の品種間で大きな差は認められなかった。照射時期の違いによる培養後の胚の茎葉形成率、胚の根形成率および培養後の移植時の生存率は、受粉後 9~13 日目の若い時期の照射の方が、受粉後 18~22 日目の発育の進んだ時期の照射よりも高かった。結論として胚培養により高線量照射された胚を生きつづけさせ、生存率を向上させることができた。

KEY WORDS : *Brassica oleracea*, radiation, embryo culture, shoot formation, root formation, plantlet.

緒 言

組織培養が放射線生物学に応用されて、培養組織の放射線感受性の比較や突然変異誘発あるいは変異セクターの分離による突然変異個体の獲得などへの利用が報告されている (山口 1972, '80 ; HELL, HANDRO and KERBAUY 1978 ; HELL 1983)。胚培養を利用する方法は、比較的大きい障害を持つ細胞でも生育させ得る (馬上 1983) ので、致死線量以上照射された胚であっても培養することにより放射線障害から回復させ生存率を向上させることが期待できる。また、それによって多くの M_1 個体 (照射当代の個体) が得られるので、突然変異率を高めることも期待できる。

このような観点に立って、本研究は、受精胚の発育中に高線量の γ 線を照射した後、胚培養によって生き続けることのできる胚の茎葉形成率、胚の根形成率および培養後のポットへの移植時の生存率について調査した。さらに照射当代の種子稔性および発芽率をも調べた。

材料および方法

カンランの金盃および改良富士の2品種は鉢植えとしビニールハウスで養成した。受粉は自家不和合性が高いので、受粉前日に除雄した蕾に同一株の花粉を蕾受粉した。照射時期は、金盃の受粉後 9, 11 および 13 日目の幼莢と金盃および改良富士の受粉後 18, 20 および 22 日目の後期莢に設定した (Fig.1)。照射はガンマフィールドの ^{60}Co の γ 線で行ない、5 kR/日の4日間照射区と 20 kR/日の1日間照射区の2区を設け、照射線量は各処理とも 20 kR とした。

胚の摘出は、受粉後 9~13 日目の 5 kR/日照射区および 20 kR/日照射区では、受粉後 33~37 日

* Figures on the circle indicate the number of days after the end of irradiation.

Fig. 1. Experimental design in *B. oleracea*.

照明の下で培養を続けた。

培養結果は、培養後 40 日目に胚の生存率、胚の茎葉形成率、胚の根形成率を、さらに培養後 40 日目から 80 日目までポットに移植した培養後の移植時の生存率（茎葉および根形成をしポットに移植できた個体数/培養胚数）を調査し比較検討した。

一方、照射時の胚発育の程度は、胚珠をカルノア液で固定し、パラフィン包埋連続切片標本を作成し顕微鏡の下で観察した。切片は胚を縦断するように作成し、ハイデンハインヘマトキシリンで染色した。観察は胚の中心部の切片について、胚の細胞数を調べ、発育が進んで細胞数の決定が困難な胚については胚の形で発育程度を示した。

さらに、用いた各照射線量率照射区で、培養に用いた個体と同一株の蕾受粉による成熟莢について種子稔性を、また得られた種子の発芽率を調査した。種子稔性は、胚珠数に対する完熟した種子数で、発芽率は播種数に対する発芽数で表わした。

実験結果

1. 照射時の胚の発育

照射時の胚の発育程度は、Table 1 に示す通りである。金盃の受粉後 9～13 日目では、胚の発育程度は、球形胚であった。金盃と改良富士の受粉後 18～20 日目では、胚の発育程度は球形胚であっても、受粉後 9～13 日目と比較して大きく胚の発育は進んでいた。受粉後 22 日目では、さらに発育が進み両品種とも早期のハート形胚が多く認められた。

2. 種子稔性および発芽率

種子稔性は、無照射区において 2 品種とも 88% 以上（平均 91%）を示した（Table 2）。これに対し、照射区では種子稔性は、2 品種ともいずれの照射時期またいずれの線量率区においても明らかに低下した。この種子稔性の低下は、照射時期、線量率および品種間によって差があった。

照射時期間についてみると、金盃は受粉後 13 日目の 5 kR/日照射区で種子稔性が 14.8% であるのに対し、受粉後 9～11 日目の同線量率では 0～4%（平均 2%）に低下した。20 kR/日照射区においても同様の傾向を示した。受粉後 18～22 日目の 5 kR/日照射区および 20 kR/日照射区でも種子稔性は同様の傾向を示した。明らかに若い時期に照射する程、種子稔性は低下することが示された。ただし、金盃の受粉後 13 日目の照射区（平均 11%）と受粉後 18 日目の照射区（平均 4%）の比較および改良富士の受粉後 18～20 日目の 5 kR/日照射区（平均 18%）と受粉後 22 日目の 5 kR/日照射区（0%）の比較では、種子稔性は、発育の進んだ時期の照射で低かった。

Table 1. Developmental stages of embryo at the time of irradiation (in *B. oleracea*).

Variety	Developmental stages or number of cells	Number of embryos					
		9*	11	13	18	20	22
Kinpai	Z ⁺ —P ⁺	3					
	1-3	34	15				
	4-7	6	17	13			
	8-15			20			
	16-30			4			
	31-60				3		
	61-100				9	2	
	101-200				7	11	4
	EH ⁺⁺					3	14
	Total	43	32	37	19	16	18
	Mean number of cells per embryo	(1.5)	(3.4)	(10.2)	(88.6)	(150.5)	—
Kairyōfuji	31-60				11	8	
	61-100				16	11	2
	101-200				2	15	9
	EH						19
	Total				29	34	30
	Mean number of cells per embryo				(70.3)	(130.7)	—

*9 to 22 denote the days after pollination at irradiation

Z⁺: zygote P⁺: proembryo EH⁺⁺: early heart shaped embryo —: No data available

線量率間についてみると、金盃の種子稔性は受粉後 9～13 日目照射では、5kR/日照射区が 0～14.8% (平均 4.4%) であるのに対し、20kR/日照射区では 1.3～9.2% (平均 4.8)，受粉後 18～22 日目照射では 5kR/日照射区が 4.7～24.2% (平均 16.3%) であるのに対し、20kR/日照射区では、3.2～20.6% (平均 12.5%) と高線量率区でやや低下した。改良富士の種子稔性は、受粉後 18～22 日目の 5kR/日照射区で 0～19.7% (平均 14.4%) であるのに対し、20kR/日照射区では 0% と金盃に比べて線量率間差は大きかった。このように高線量率照射区は高い種子不稔を誘起した。

品種間についてみると、種子稔性は受粉 18～22 日目の 5kR/日照射区で金盃が平均 16.3% であるのに対し、改良富士が平均 14.4% であった。20kR/日照射区では、種子稔性は金盃が平均 12.5% であるのに対し、改良富士は 0% と明らかに金盃の方が高かった。

発芽率は、無照射区では両品種のすべての区で 74% 以上 (平均 88%) の値を示したのに対し、照射区ではいずれの場合も 0% であった。用いた線量は致死線量を越えていた。

3. 培養による胚の茎葉形成率、胚の根形成率および培養後の移植時の生存率

培養は胚の摘出時別に行なったが、汚染のため培養個体数が少なくなり、摘出時別の比較は難しくなったので、培養後の結果は線量率および照射時期別にまとめて示した (Table 3)。培養後の胚は、茎葉と根を一緒に形成したもの、カルスと根を一緒に形成したものあるいはそれぞれ単独に茎葉形成だけのもの、根形成だけのもの、カルス化しただけのものが観察された。

受粉後 9～13 日目照射区については、金盃の無照射区では、胚の生存率は 77%，胚の茎葉形成率と胚の根形成率はそれより低く、それぞれ 49% と 57% であった。ポットへの移植時の生存率は 46% を示した。金盃の 5kR/日照射区では、受粉後 35～37 日目培養で胚の生存率が 70～92% (平

Table 2. Seed fertility and germination rate following irradiation (in *B. oleracea*).

Dose and dose rate	Variety	Irradiation time after pollination (days)	No. of ovules	No. of seeds	No. of seedlings	Seed fertility %	Seed germination %
0 kR	Kinpai	9	191	178	165	93.1	92.7
		11	117	109	92	93.1	84.4
		13	184	164(89)	82	89.1	92.1
		Total	492	451(376)	339	91.7	90.2
$\frac{20 \text{ kR}}{5 \text{ kR/day}}$		9	123	0	0	0	0
		11	72	3	0	4.1	0
		13	54	8	0	14.8	0
		Total	249	11	0	4.4	0
$\frac{20 \text{ kR}}{20 \text{ kR/day}}$		9	145	2	0	1.3	0
		11	122	5	0	4.0	0
		13	130	12	0	9.2	0
		Total	397	19	0	4.8	0
0 kR	Kairyōfuji	18	191	178	165	93.1	92.7
		20	117	109	92	93.1	84.4
		22	184	164(89)	82	89.1	92.1
		Total	492	451(376)	339	91.7	90.2
$\frac{20 \text{ kR}}{5 \text{ kR/day}}$		18	85	4	0	4.7	0
		20	59	9	0	15.2	0
		22	132	32	0	24.2	0
		Total	276	45	0	16.3	0
$\frac{20 \text{ kR}}{20 \text{ kR/day}}$		18	62	2	0	3.2	0
		20	145	19	0	13.1	0
		22	58	12	0	20.6	0
		Total	265	33	0	12.5	0
0 kR	Kairyōfuji	18	180	160(50)	37	88.8	74.0
		18	82	12	0	14.6	0
		20	137	27	0	19.7	0
		22	52	0	0	0	0
$\frac{20 \text{ kR}}{5 \text{ kR/day}}$		Total	271	39	0	14.4	0
		18	102	0	0	0	0
		20	58	0	0	0	0
		22	82	0	0	0	0
$\frac{20 \text{ kR}}{20 \text{ kR/day}}$		Total	242	0	0	0	0

Figures in parenthesis indicate the number of seeds sown.

均 82%), 胚の茎葉形成率と胚の根形成率は, それぞれ 36~64% (平均 36%) と 40~64% (平均 50%) であった。胚の根形成率の方がやや高かった。培養後の移植時の生存率は 40~42% (平均 41%) で培養による効率が認められた。20 kR/日照射区では受粉後 33~37 日目培養で胚の生存率が 40~78% (平均 74%), 胚の茎葉形成率および根形成率は, それぞれ 8~46% (平均 26%) と 40~53% (平均 48%) であった。ここでも胚の根形成率の方が高かった。培養後のポットへの移

Table 3. Survival, shoot, root and callus formation of irradiated embryos of *B. oleracea* 40 days after embryo culture.

Dose and dose rate	Variety	Excision time after pollination (days)	Irradiation time after pollination (days)	No. of embryos cultured	No. of survived embryos (%)	No. of shoot-formed embryos (%)	No. of root-formed embryos (%)	No. of callus-formed embryos (%)	No. of** plantlets developed (%)
0 kR		37	13	35	27 (77)	17 (49)	20 (57)	10 (29)	16 (46)
20 kR		35	11	10	7 (70)	4 (40)	4 (40)	3 (30)	4 (40)
5 kR/day		37	13	12	11 (92)	4 (36)	7 (64)	7 (64)	5 (42)
	Kinpai	Total		22	18 (82)	8 (36)	11 (50)	10 (46)	9 (41)
20 kR		33	9	41	32 (78)	19 (46)	18 (44)	13 (32)	20 (48)
20 kR/day		35	11	49	36 (74)	4 (8)	26 (53)	32 (65)	22 (45)
		37	13	5	2 (40)	2 (40)	2 (40)	0 (0)	2 (40)
	Total			95	70 (74)	25 (26)	46 (48)	45 (47)	44 (46)
0 kR	Kairyōfuji	33	18	57	32 (56)	32 (56)	32 (56)	0 (0)	31 (54)
	Kinpai	28-40	18	25	8 (32)	2 (8)	2 (8)	6 (24)	2 (8)
	Kairyōfuji			21	14 (67)	9 (43)	9 (43)	5 (24)	7 (33)
20 kR	Kinpai	30-50	20	64	37 (58)	4 (6)	7 (11)	33 (52)	3 (5)
5 kR/day	Kairyōfuji			14	9 (64)	4 (29)	5 (36)	5 (36)	3 (21)
	Kinpai	32-52	22	25	18 (72)	5 (20)	8 (32)	13 (52)	8 (32)
	Kairyōfuji			31	17 (55)	5 (16)	6 (19)	12 (39)	7 (22)
	Total			180	103 (57)	29 (16)	37 (21)	74 (41)	30 (17)
	Kinpai	28-48	18	71	48 (68)	9 (13)	16 (23)	39 (55)	16 (23)
	Kairyōfuji			29	17 (59)	5 (17)	2 (7)	12 (41)	1 (3)
20 kR	Kinpai	30-50	20	116	69 (60)	7 (6)	17 (15)	62 (53)	18 (16)
20 kR/day	Kairyōfuji			63	44 (70)	8 (13)	12 (19)	36 (57)	7 (11)
	Kinpai	32-52	22	85	56 (66)	18 (21)	24 (28)	38 (45)	26 (30)
	Kairyōfuji			37	12 (32)	2 (5)	1 (3)	10 (27)	0 (0)
	Total			401	246 (61)	49 (12)	72 (18)	197 (49)	68 (17)

**40 to 80 days after embryo culture. Bladyes' medium containing kinetin 2 mg/l and IAA 2 mg/l was used.

植時の生存率は、40～48%（平均 46%）で高線量率でも培養による効果が認められた。胚のカルス形成率は、無照射区では 29% と低いのに照射区では 0～65%（平均 47%）と無照射区に比較して高かった。

線量率間をみると、胚の茎葉形成率は上述したように高線量率区より低線量率区で若干高く、線量率効果が認められた。胚の根形成率および培養後のポットへの移植時の生存率では、両線量率区で大きな差はなかった。

受粉後 18～22 日目照射区については、改良富士の無照射区 (Table 3) では、胚の生存率は 56%、胚の茎葉形成率と胚の根形成率は同じく 56% であり、培養後のポットへの移植時の生存率は、54% を示した。金盃と改良富士の 5 kR/日照射では、受粉後 28～52 日目培養で胚の生存率は 32～72%（平均 57%）、胚の茎葉形成率と胚の根形成率はそれぞれ 6～43%（平均 16%）と 8～43%（平均 21%）であった。胚の茎葉形成率と胚の根形成率には、大きな差はなかったが、やはり根形成率が若干高かった。培養後のポットへの移植時の生存率は 5～33%（平均 17%）で培養による効果が認められた。20 kR/日照射区では受粉後 28～52 日目培養で胚の生存率は 32～70%（平均 61%）、胚の茎葉形成率および根形成率は、それぞれ 5～21%（平均 12%）と 3～28%（平均 18%）であった。茎葉と根形成率には大きな差はなかったが、ここでも根形成率がやや高かった。培養後の移植時の生存率は 0～30%（平均 17%）と値は大きくないが培養による効果は一部で認められた。胚のカルス形成率は無照射区が 0% であるのに対し、低線量率区で 41%、高線量率区で 49% と高かった。これは受粉後 9～13 日目照射区の結果と同様であった。

線量率間をみると、胚の茎葉形成率および胚の根形成率は、高線量率区より低線量率区でやや高く、線量率効果が若干認められた。培養後のポットへの移植時の生存率では両線量率区で差がなく線量率効果は認められなかった。これも受粉後 9～13 日目照射区の結果と同様であった。

照射時期について比較してみると、金盃の胚の茎葉形成率、胚の根形成率および培養後のポットへの移植時の生存率は、受粉後 9～13 日目照射区でそれぞれ 8～46%（平均 28%）、40～64%（平均 49%）および 40～48%（平均 45%）であるのに対し、受粉後 18～22 日目照射区では、それぞれ 5～21%（平均 13%）、8～32%（平均 19%）および 5～32%（平均 17%）といずれも前者より値が低く、若い時期に照射した胚の方が培養による効果が大きかった。

金盃と改良富士の品種間について比較すると、受粉後 18～22 日目照射の胚の茎葉形成率、胚の根形成率およびポットへの移植時の生存率は、金盃でそれぞれ 6～21%（平均 12%）、8～32%（平均 19%）および 5～32%（平均 19%）であるのに対し、改良富士では 5～43%（平均 17%）、3～43%（平均 13%）および 0～33%（平均 13%）と改良富士で胚の茎葉形成率は若干高い値を示したが、胚の根形成率と培養後のポットへの移植時の生存率は金盃で高かった。しかし、胚の茎葉形成率と胚の根形成率で改良富士が 43% と高い上限を示していた。

考 察

高等植物における放射線障害は、遺伝的 (EVANS and SPARROW 1961) および生理的障害 (SWAMINATHAN, CHOPLA and BHASKRAN 1962; CHOPLA *et al.* 1963; KUZIN 1963; 松山 1967; 馬上 1980a, 1980b) に由来しており、これらの障害が照射後数日間に互って影響を与え、染色体異常あるいは細胞分裂の遅延、細胞死をまねき、最終的には個体の生長抑制あるいは致死現象として現われてくる。しかし、このような最終的障害が出現する前に何らかの対策をこうじて、変異個体の出現を助長する方法は、酸素効果 (KONZAK 1957)、化学防護剤の利用 (山口 1962; YAMAGUCHI 1962) および低水分含有量 (KAWAI and SATO 1966) などいくつかみられる。また、放射線によ

る突然変異育種において高線量の γ 線を照射すれば致死率も高まり得られる突然変異個体も減少する。しかし、高線量の γ 線照射による障害を軽減あるいは除去し、多くの M_1 個体（照射当代の個体）を獲得するならば高い突然変異率を期待することができる。

この放射線障害を軽減させ多くの M_1 個体を得る手法の一つとして、胚培養（西ら 1959）が有効である。その理由は、①高線量照射した胚が培養によって生きつづけることができること（馬上 1983）、②胚は少数細胞で照射を行なえるのでたとえ個体がキメラであっても、その部位は大きなセクターとして現われるため、培養により照射した胚を生きつづけさせることができれば M_1 および M_2 世代で変異個体を見逃すことが少なく、変異個体選抜の効率を高め得ること、③照射により葉に有毒物質が生産され、この物質が細胞分裂に影響をおよぼすことが報告（KUZIN 1963；松山 1967）されているので、カンランでもこのような物質が胚珠内に生産されているとするならば、胚の摘出によりこれらの有毒物質の害は避けられることができるなどが挙げられる。

このような観点から行なわれた本研究において、培養により高線量照射された胚が生きつづけることができ、培養効果の大きいことは、培養後ポットへ移植した発育個体（ M_1 個体）の移植時の生存率が両照射区で 0～48%（平均 21.6%）であるのに対し、照射当代に得られた種子の発芽率がすべての照射時期で 0% であることから理解できよう。また一部ではあるが無照射区と同じ程度のポットへの移植時の生存率の得られることも解った。このことは培養により高線量照射された胚を生きつづけさせ、 M_1 個体の生存率を向上させたことによって、突然変異率を高める可能性を与えたと云えよう。

照射当代の種子稔性は 5kR/日照射の低線量率区より 20kR/日照射の高線量率区で低いが、これと同じ結果はいろいろな作物の種子および生体照射で示されている。例えば、タバコ、オオムギで低線量率照射よりも高線量率照射で阻害が大きい（DEVREUX and SCARACIA-MUGNOZA 1964, '65；MERICLE and MERICLE 1957）。カンランの種子稔性の結果は、培養後の胚の茎葉形成率と胚の根形成率とも一致している。すなわち、両形成率は低線量率区の方が高線量率区より高い値を示している。

胚培養後の胚の茎葉形成率と胚の根形成率は、2～3の例外はあるが、胚の根形成率の方が胚の茎葉形成率より高い。ブラシカ属では、胚発生過程において根原基の方が生長点部より早く形成される（戸刈・斉藤 1941；馬上 1979）。したがって、照射時で球形胚期以降の分化の進んだ根原基では、すでに分裂周期の完了した胚が多い。そのため分裂が活発で放射線感受性が高い生長点部に由来する茎葉形成よりも、根原基の方が放射線に対して抵抗性を示し、根は形成しやすくなると推察される。さらに発育の進んだ早期のハート形胚期の照射では、胚の組織内に生長点部は一ヶ所であるのに対し、根細胞は主根の他に側根の原基が数多く形成するため、主根が障害からまぬがれて生き残り、根を分化させると考えられる。なお本研究では、照射胚が培養により一部カルス化していることからみて、用いたオーキシン濃度が高すぎるとも考えられる。オーキシン濃度をもっと低くした場合、胚の根形成率が低下する場合も考えられよう。

線量率の違いと培養後の胚の茎葉形成率および根形成率について、線量率区をまとめて考察すると、金盃では低線量率区の方が高線量率区に比較して、胚の茎葉形成率および胚の根形成率は高いようである。しかし、照射時期別について個々に観察すると、線量率間差は、胚の茎葉形成率についてみても、胚の根形成率についてみても一定の傾向を示していない。したがって、金盃については個々のデーターから線量率の違いによる培養後の胚の発達差の有無を云うことは難かしいようである。それに対して、改良富士では、胚の茎葉形成率および胚の根形成率は 5kR/日照射区の低線量率区の方が、20kR/日照射の高線量率区に対してすべての照射時期を通して高い。このことを考

慮するとカンランは、全般的には低線量率照射区の方が高線量率照射区より培養後の胚の茎葉形成率および胚の根形成率はややよいと判断できよう。

照射時期と培養後の胚の発達の良否についてみると、胚の茎葉形成率、胚の根形成率および培養後のポットへの移植時の生存率は、金盃の受粉後 9~13 日目照射区の方が受粉後 18~22 日目照射区より良好であるので、若い時期に照射された胚が発育の進んだ時期に照射された胚よりも結果が良い傾向を示した。若い時期に照射された胚が培養によって良く発達したのは次のような理由によると推測される。発育の進んだ受粉後 18~22 日目照射区では、照射後の日数の短い胚を主に培養したのに対し、若い時期の受粉後 9~13 日目照射では、照射後の日数の長い胚を培養したため、放射線障害から回復が大きく、胚の茎葉形成率および胚の根形成率が高くなったのであろう。

以上のように培養によって得られた個体の突然変異の出現率については今後報告して行きたい。

謝 辞

本稿を草するにあたって、御指導を頂いた元草地試験場 牧草部長 河合武博士、元東北大学農学部教授 角田重三郎博士、有益な助言を頂いた野菜試験場育種第一研究室長 高柳謙治博士、元新潟大学農学部教授 西村米八博士に感謝の意を表する。

引用文献

- CHOPLA, V. L., A. T. NATARAJAN and M. S. SWAMINATHAN 1963. Cytological effects observed in plant material grown on irradiated fruit juices. *Radiation Botany* **3**: 1~6.
- DEVREUX, M. and G. T. SCARACIA-MUGNOZA 1964. Effects of gamma radiation of gametes, zygote and proembryo in *Nicotiana tabacum* L. *Radiation Botany* **4**: 373~386.
- and ——— 1965. Action of gamma radiation on the zygote in *Nicotiana*. The use of induced mutations in plant breeding. *Suppl. Radiation Botany* **5**: 283~292.
- EVANS, H. J. and A. H. SPARROW 1961. Nuclear factors affecting radiosensitivity. II. Dependence on nuclear and chromosome structure and organization. *Brookhaven Symp. Biol.* **14**: 101~127.
- HELL, K. G. 1983. Survival of *Nicotiana tabacum* L. cv. Wisconsin-38 plants regenerated from gamma-irradiated tissue cultures. *Env. Exp. Bot.* **23**: 139~142.
- , W. HANDRO and G. B. KERBAUY 1978. Enhanced bud formation in gamma-irradiated tissues of *Nicotiana tabacum* L. cv. Wisconsin-38. *Env. Exp. Bot.* **18**: 225~228.
- KAWAI, T. and H. SATO 1966. Some factors modifying the effects of radiation in seed treatment in rice. *Mutation in plant breeding*. IAEA 151~171.
- KONZACK, C. F. 1957. The influence of oxygen on the mutagenic effects of X-rays on maize endosperm loci. *Radiation Research* **6**: 1~10.
- KUZIN, A. M. 1963. On the role of the disturbance of metabolic processes in the radiation damage of the cell. *Int. J. Rad. Biol.* **6**: 211~220.
- 松山 晃 1967. 放射線による代謝調節機構の解析とその実際面への応用 *化学と生物* **5**: 378~383.
- MERICLE, L. W. and R. D. MERICLE 1957. Irradiation of developing plant embryos. 1. Effects of external irradiation (X-rays) on barley embryogeny, germination and subsequent seedling development. *Amer. J. Bot.* **44**: 747~756.
- 馬上武彦 1979. アブラナ属の A ゲノム種（ハクサイ）と C ゲノム種（カンラン）との種間交雑 1. 正逆交雑における交雑不稔の組織学的観察 *新潟大学農学部研究報告* **31**: 29~36.
- 1980 a. 放射線処理が胚形成におよぼす影響 I. γ 線照射によるハクサイの胚および胚乳の細胞分裂・伸長の障害 *育種* **30**: 27~38.
- 1980 b. 放射線処理が胚形成におよぼす影響 II. γ 線照射によるカンランの胚、胚乳および胚珠の細胞分裂・伸長の障害 *育種* **30**: 181~189.
- 1983. ハクサイとカンランの照射胚の培養後の組織学および組織化学的観察 *新潟大学農学部研究報告* **35**: 1~7.
- NIIZEKI, H. and K. OONO 1968. Induction of haploid rice plant from anther culture. *Proc. Japan Acad.* **44**: 554~557.
- 西 貞夫・川田穰一・戸田幹彦 1959. 胚培養による Brassica 属の c ゲノム（かんらん類）と a ゲノム（はくさい類）との種間交雑育成について *育種* **8**: 215~222.

- SWAMINATHAN, M. S., V. L. CHOPLA and S. BHASKRAN 1962. Cytological aberrations observed in barley embryos cultured in irradiated potatomash. *Radiation Research* **16** : 182~188.
- 戸川義次・斎藤 清 1941. 種の花器並びに子実発達過程 日作紀 **13** : 170~191.
- YAMAGUCHI, H. 1962. Modification of radiation-induced damage in dormant seeds. *Gamma Field Symposia* **1** : 10~17.
- 山口彦之 1962. 化学薬品による後処理がイネの放射線障害および突然変異に及ぼす影響 育種 **12** : 8~12.
- 1972. 遺伝学および放射線生物学研究への利用 植物組織培養 317~329. 朝倉書店
- 1980. 突然変異細胞の選択 新植物組織培養 268~279. 朝倉書店

Summary

Effects of radiation on the development of embryo in *Brassica oleracea* var. *capitata* L. (Varieties; Kinpai and Kairyōfuji) were investigated to increase the survival rates of embryos by culture techniques after irradiation of doses which were sterile to seed formation, with the purpose of increasing mutation rates.

Embryos at different developmental stages ranging from globular to early heart embryo were irradiated with 20 kR of gamma rays at the daily rate of 5 kR or 20 kR (Fig. 1 and Table 1). The embryos were excised from ovules 7 to 30 days after irradiation and were cultured on Bladeys' media.

Seed fertility was higher in 5 kR/day than 20 kR/day. Seed germination exhibited 0% in all doses and dose rates except for control. Therefore, it was recognized that the doses used in the experiments were lethal ones.

In *B. oleracea*, the number of shoot-formed and root-formed embryos and plantlet formation after culture increased more in 5 kR/day as compared with 20 kR/day (Table 3). Such an increase was observed when the embryos at younger stages were irradiated, whereas the organ formation was not so pronounced when irradiated at advanced embryonic stages (Table 3).

From these results, it was concluded that embryo culture technique was successfully applicable to the irradiated embryo at early embryo excision stages for obtaining M_1 plant.

T. MOUE

Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata 951