Takehiko MOUE : Growth and Chlorophyll Mutation of M_1 and M_2 plants Obtained from Culture of Gamma-Irradiated Embryos at Different Embryonic Stages in Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) (English summary on p.371)

カンランの γ 線照射胚の培養によって得られた M_1 と M_2 個体の生育と葉緑素突然変異

馬 上 武 彦

(新潟大学農学部, 新潟市 951)

γ 線照射胚の培養によって得られた M_1 個体の種子の結実率および発芽率, M_2 世代における葉緑素突然変異個体の出現率について検討した。材料は, カンランの品種, 金盃と改良富士で高線量 (20 kR) 照射された胚から培養によって得られた M_1 個体とその M_2 世代 (M_1 個体の自殖), M_1 個体間の交雑によって得られた後代および放任受粉の後代である。培養によって得られた M_1 個体の生存率 (発育個体/移植個体) は, 対照区の 50~58% に対し, 照射区では 0~100% (平均 25%) であって比較的低かった。定植後の M_1 個体の生育は, 対照区と照射区で大きな差は見られなかった。 M_2 個体の自殖および M_1 個体間の交雑による種子の結実および発芽は, 照射区においても認められた。 M_1 世代の幼苗期には, 改良富士にパールグリーン4個体が出現した。成熟した M_2 個体にも金盃と改良富士に黄色と緑色のキメラの変異個体が認められた。放任受粉による M_1 個体の種子の結実率は, 自殖および交雑による場合よりも高かったが, 種子の発芽率はその逆で低かった。放任受粉の幼苗期の変異は, パールグリーン, アルビノおよび本葉が黄色と緑色のキメラが出現した。葉緑素突然変異個体の出現率は, 系統当り照射区の M_2 世代の幼苗期で自殖後代が 14.3%, 交雑による後代が 0%, 照射区の M_2 世代の成熟期で自殖後代が 28.6%, 交雑による後代が 33% であった。放任受粉では, 対照区が 5.6%, 照射区が 18% であった。以上の結果から高線量照射後, 胚培養によって得られた個体の葉緑素突然変異個体出現率は, 高められたものと推測される。

KEY WORDS : *Brassica oleracea*, γ -irradiation, embryo culture, M_1 and M_2 plant, chlorophyll mutant.

緒 言

放射線による突然変異育種において, 他殖性作物でも突然変異の誘発を試みる事が望まれている。他殖性作物では, いかにホモ型突然変異を得るかが重要な問題であることが指摘されている (蓬原 1983)。カンランは, 他殖性作物であるので, この課題に取り組むことができる。

筆者はこれまでに高線量の γ 線を照射した胚を培養によって M_1 個体の生存率を向上させたことを報告してきた (馬上 1984)。高線量照射された場合は, 一般に染色体異常の出現頻度が高く不稔を伴うと云われている。高線量照射後, 胚培養によって得られた M_1 個体が, これらの染色体異常を多く保持すれば, 不稔現象を伴うことが考えられる。このような個体が数多く得られたとしても子孫の獲得は不可能となり, 突然変異個体を得ることは難しい。

本研究では, この点を明らかにするため, 高線量の γ 線を照射した胚の培養によって得られた M_1 個体と M_1 個体の自殖, M_1 個体間の交雑および放任受粉によって得られた種子の結実率および発芽率を, 同時にそれぞれの幼苗期と成熟期の葉緑素突然変異出現率についても調査した。

材料および方法

供試品種は金盃および改良富士で、受粉後 9~22 日目の球形胚および早期のハート型胚期に γ 線を 5 kR/日の 4 日間と 20 kR/日の 1 日間照射をし、受粉後 28~52 日目に照射胚の培養を行なった。培養後 40~80 日目にポットへ移植 (馬上 1984) して得られた M_1 個体、 M_1 個体の自殖後代、 M_1 個体間の交雑によって得られた後代および M_1 個体の放任受粉によって得られた後代を供試材料とした。

照射当代の M_1 個体は、培養後 40 日目以降寒天をつけたままバーミキュライトを入れた鉢 (径 6 cm) に移植し、本葉 5~6 枚になってから大鉢 (径 24 cm) に定植し、完全に活着するまで寒冷紗の下で肥培養管理を行ない、冬はガラス室で越冬させた。得られた個体に 1 から 64 番までの通し番号を付けた (Table 1)。

翌春、開花時に一部 M_1 個体の蕾受粉により自殖および M_1 個体間の交配を行なったが、大部分は放任受粉とした。さらに開花終了間近になってから M_1 個体の草丈を測定した。

自殖、 M_1 個体間の交雑および放任受粉によって得られた種子の結実率 (種子数/莢) と種子の発芽率および幼苗期 (M_2 世代) の葉緑素突然変異個体の出現率を調査した。その後、幼苗を一部圃場に定植し、さらに葉緑素突然変異個体の出現率をも調べた。

Table 1. M_1 plants obtained by culture of irradiated embryos in cabbage (*B. oleracea*).

Varieties	Dose and dose rate	Irradiation time after pollination (days)	No. of plantlets	No. of plants grown (%)	Number given to the plants	Culm length at maturity (mean)
Kinpai	Control	13	16	8(50)	1~8	103.4 cm
	20 kR 5 kR/day	11	5	1(20)	9	105.0
		13	5	2(40)	10~11	130.0
		18	3	3(100)	12~14	106.0
		20	3	3(100)	15~17	109.3
		22	8	0(0)	—	—
	Total		24	9 (38)		(112.6)
	20 kR 20 kR/day	9	20	11(55)	18~28	104.1
		11	22	4(18)	29~32	119.5
		13	2	2(100)	33~34	130.0(1) ¹⁾
		18	16	1(0.6)	35	161.0
		20	18	0(0)	—	—
		22	26	0(0)	—	—
	Total		104	18 (17)		(128.7)
Kairyōfuji	Control	18	31	18 (58)	36~53	96.8(1)
	20 kR 5 kR/day	18	7	7(100)	54~60	64.3(4)
		20	3	2(66)	61~62	101.0
		22	7	2(29)	63~64	—(2)
	Total		17	11 (65)		(82.7)
	20 kR 20 kR/day	18	1	0(0)	—	—
		20	7	0(0)	—	—
		22	0	—	—	—
	Total		8	0(0)		—

¹⁾(): No. of plants which deteriorated during development after planting.

—: No data available.

実験結果

1. 胚培養によって得られた M_1 個体の生育

培養後に移植されて得られた個体数は Table 1 に示すように対照区と照射区合せて 64 個体であった。その移植時の生存率についてはすでに報告 (馬上 1984) したように対照区で 46~54% であるのに対し、照射区で 0~48% (平均 21.6%) であった。

移植個体数に対する生育個体数の比で示した生存率は、2 品種の対照区が 50% と 58% であり、照射区の平均では、金盃が 5 kR/日照射区で 38%, 20 kR/日照射区で 17%, 改良富士が 5 kR/日照射区で 65%, 20 kR/日照射区で 0% といずれも低線量率区で高かった。

鉢への定植後活着までは、対照区で生育が旺盛で早かったが、照射区では生育が遅れあるいは発育途中で枯死するものが出現し活着が悪かった。活着後の生育は、全体としてみると、照射区は対照区に比較して発育が遅れたが、照射区であっても後半には対照区より発育の旺盛な個体がみられるようになった。成熟期の草丈は、金盃の平均値が対照区で 103.4 cm, 5 kR/日照射区で 112.6 cm, 20 kR/日照射区で 128.7 cm となり、照射区が対照区より生育が旺盛であった。改良富士では、対照区が 96.8 cm, 5 kR/日照射区が 82.7 cm であり照射区が対照区より劣っていた。

2. M_1 個体の種子の結実率と発芽率および幼苗期と成熟期の突然変異率

(1) 種子の結実率: カンランの自然交雑による種子の結実率は、一莢当り 18~25 粒程度であるが、 M_1 個体の自殖および交雑によって得られた種子の結実率は、Table 2 に示すように低かった。このように一莢当りの種子数は、金盃では対照区と照射区間で照射区がよく、照射区内の自殖区と交雑区の間で差はなかった。改良富士では、対照区と照射区の間で対照区がよく、照射区内の

Table 2. Seed setting of M_1 plants, seed germination and mutants (M_2 plants) in cabbage (*B. oleracea*).

Varieties	Dose and dose rate	Number given to plants	Self-pollination ⁴⁾					Cross-pollination ⁴⁾				
			No. of pods	No. of seeds	No. of seeds per pod	Seed germination (%)	Mutants	No. of pods	No. of seeds	No. of seeds per pod	Seed germination (%)	Mutants
Kinpai	Control	5	31	0	0	0	0	19	1	0.1	1(100)	0
	20 kR	18	—	—	—	—	—	6	2	0.3	0(0)	0
		23	21	55(40) ²⁾	2.6	23(58) ³⁾	0	40	236(171)	5.9	118(69)	0
		24	17	68(49)	4.0	40(83)	0	9	73	8.1	70(96)	0
		30	6	32	5.3	27(84)	0	—	—	—	—	—
		32	—	—	—	—	—	36	6	0.2	3(50)	0
Total or mean		44	155(121)	3.5	90(74)	0	91	317(252)	3.5	191(76)	0	
Kairyō-fuji	Control	47	30	32	1.1	30(94)	0	39	51	1.3	49(96)	0
		48	25	231(151)	9.2	143(95)	0	25	169(128)	6.8	124(97)	0
	Total or mean		55	263(183)	4.9	173(95)	0	64	220(179)	3.4	173(97)	0
	20 kR	59	14	9	0.6	9(100)	0	26	195(114)	7.5	113(99)	0
		60	15	27	1.8	27(100)	pg(4) ¹⁾	—	—	—	—	—
		61	18	3	0.2	3(100)	0	18	18	1.0	14(78)	0
64		28	85(40)	3.0	38(95)	0	41	112	2.7	110(98)	0	
Total or mean		75	124(79)	1.7	77(98)	1(25) ⁵⁾	85	325(244)	3.8	237(97)	0	

¹⁾ Figures in parentheses indicate the number of pale green mutants. ²⁾ Figures in parentheses indicate the number of seeds sown. ³⁾ Figures in parentheses indicate seed germination rates.

⁴⁾ All the plants used in self- or cross-pollination were obtained by embryo culture.

—: No data available. ⁵⁾: Mutation rate=mutated strains/strains examined.

Table 3. Plant growth and mutants in M_2 plants of cabbage (*B. oleracea*).

Varieties	Dose and dose rate	Number given to plants	Self-pollination					Cross-pollination				
			No. of plant	No. of plants with flower-ing (%)	No. of plants with poor develop-ment (%)	No. of dead plant (%)	Mutants	No. of plants	No. of plants with flower-ing (%)	No. of plants with poor develop-ment (%)	No. of dead plant (%)	Mutants
Kinpai	Control ²⁾		20	4(20)	0	3(15)	0	—	—	—	—	—
	20 kR	23	12	7(58)	1(8)	0	ch(1) ¹⁾	54	33(61)	3(6)	0	0
		24	21	11(52)	0	0	ch(1)	45	25(56)	1(2)	0	ch(1)
	20 kR/day	30	10	8(80)	1(10)	0	0	42	25(60)	1(4)	0	0
Total			43	26(61)	2(5)	0	2(64) ³⁾	141	83(59)	5(4)	2(1)	1(33)
Kairyō-fuji	Control	47	15	1(7)	0	3(20)	0	44	18(41)	2(5)	1(2)	0
		48	15	6(40)	0	0	0	67	34(51)	0	9(13)	0
	Total		30	7(23)	0	3(10)	0(0)	111	52(47)	2(2)	10(9)	0
	20 kR	59	9	3(33)	4(44)	2(22)	0	73	11(15)	6(8)	16(22)	ch(1)
		60	18	0(0)	1(6)	12(67)	0	—	—	—	—	—
	5 kR/day	61	3	1(33)	1(33)	0	0	13	1(8)	1(8)	2(15)	0
		64	17	9(53)	2(12)	1(6)	0	51	23(45)	4(8)	5(10)	0
Total			47	13(28)	8(17)	15(32)	0(0)	137	35(26)	11(8)	23(17)	1(33)

ch()¹⁾: Chimera with yellow and green leaf and figures in parentheses indicate the number of mutants. ²⁾ Commercial variety. ³⁾ Figures in parentheses indicate mutation rate (mutated strains/strains examined).

—: No data available.

自殖区と交雑区の間では交雑区の方がよかった。

(2) M_2 種子の発芽: 金盃および改良富士の発芽率は, 対照区の自殖と交雑区では 94~100% と高かった (Table 2). 照射区でも M_1 個体上にできた M_2 種子の発芽率は比較的高く, ほとんどが 50% 以上であり, 50% 以下の発芽率を示したのは金盃の交雑区で一つ認められたに過ぎなかった。しかしながら, 幼苗期では発芽の遅れた個体が照射区の各自殖区および各交雑区で認められた。

(3) M_2 幼苗期の突然変異率: 突然変異個体は, 改良富士の 5 kR/日照射区の No.60 の自殖系統に葉緑素突然変異であるベールグリーンが 4 個体出現した (Table 2). これらの個体は, 本葉 2 枚まで生き続けたがその後枯死した。対照区の自殖区および交雑区では, 葉緑素突然変異は観察されなかった。 M_2 世代の幼苗期に現われた葉緑素突然変異は, 5 kR/日照射の自殖区では供試 4 系統中 1 系統出現したので 25% であった (Table 2). これを 2 品種合せた全照射区でみると, 供試 9 系統のうち, 自殖できた 7 系統中 1 系統のみに出現したので, 突然変異率は系統当り 14.3% (1/7) であった。また, 交雑種子からの M_2 世代の幼苗期には突然変異個体は出現しなかった。

(4) M_2 個体の生育と突然変異率: M_2 幼苗期で突然変異を検定した後に, M_2 個体を圃場に一部定植し, 生育および突然変異個体の有無を調査した (Table 3). 対照区金盃 1 系統 (実用品種) および改良富士 2 系統, 照射区金盃 3 系統および改良富士 4 系統を供試した。

照射区の M_2 個体は, 定植後生育が抑制された個体あるいは越冬により発育の途中で枯死した個体が認められ, 対照区に比較して生育が弱勢であった。しかし, 生育の後半には回復し, 対照区と照射区間で大きな差は認められなくなった。開花は, 金盃と改良富士の対照区では 7~51%, 照射区では 0~61% で M_2 世代の生殖器官の分化が対照区と比較してそれほど大きな差はなかった。開花した個体の葯は照射区でも正常に近かった。開花しない個体はロゼットと結球に分かれた。

Table 4. Seed setting of M_1 plants, seed germination rate and number of mutants at seedling stage of M_2 plants obtained by open pollination in cabbage (*B. oleracea*).

Varieties	Dose and dose rate in female	Number given to plants	No. of pods	No. of seeds	No. of seeds per pod	Seed germination (%)	Mutants
Kinpai	Control	1	15	74	4.9	41(55) ³⁾	0
		3	15	163(100) ²⁾	10.8	75(75)	0
		4	15	100	6.6	58(58)	0
		5	5	6	1.2	4(67)	0
		7	15	114(100)	7.6	88(88)	0
		8	15	180(100)	12.0	71(71)	0
	Total or mean	6 ⁴⁾	80	637(480)	8.0	337(70)	0
	20 kR 5 kR/day	9	50	176(100)	3.5	67(67)	0
		10	15	237(100)	15.8	83(83)	0
		11	97	85	0.8	37(44)	Ch(1) ¹⁾ Pg(3) ¹⁾
		12	20	256(100)	12.8	86(86)	0
		13	7	8	1.1	1(13)	0
		14	11	16	1.4	12(75)	0
		15	15	220(100)	14.6	73(73)	0
		16	20	75	3.7	37(49)	0
		17	20	142(100)	7.1	66(66)	0
	Total or mean	9	255	1,215(684)	4.8	462(68)	1(11) ⁵⁾
	20 kR 20 kR/day	18	20	156(100)	7.8	75(75)	0
		19	20	26	1.3	17(65)	0
		20	20	268(100)	13.4	88(88)	Pg(1) ¹⁾
		25	55	118(100)	2.1	68(68)	0
		26	20	202(100)	10.1	82(82)	Al(5) ¹⁾
		29	112	780(100)	6.9	86(86)	0
		30	15	369(100)	24.6	84(84)	0
		31	20	109(100)	5.4	83(83)	0
		32	45	5	0.1	3(60)	0
		33	20	195(100)	9.7	79(79)	Pg(1) ¹⁾
		35	20	27	1.3	15(56)	0
	Total or mean	11	367	2,255 (858)	6.1	680(79)	3(27)
Kairyōfuji	Control	36	15	262(100)	17.4	77(77)	0
		37	13	94	7.2	67(71)	0
		38	15	202(100)	13.4	76(76)	0
		39	10	49	4.9	40(82)	0
		40	7	59	8.4	49(83)	0
		42	15	235(100)	15.6	80(80)	0
		43	15	318(100)	21.2	72(72)	0
		44	20	110(100)	5.5	55(55)	Al(1) ¹⁾
		46	20	92	4.6	78(85)	0
		49	15	110(100)	7.3	59(59)	0
	20 kR 5 kR/day	51	20	109(100)	5.4	61(61)	0
		53	15	63	4.2	31(49)	0
	Total or mean	12	180	1,703(1,057)	9.5	745(71)	1(8)
	20 kR	56	20	143(100)	7.1	79(79)	0
	5 kR/day	62	20	170(100)	8.5	91(91)	0
	Total or mean	2	40	313(200)	7.8	170(85)	0

Ch : chimera with yellow and green leaf. Pg : pale green. Al : albino.

¹⁾ Figures in parentheses indicate the number of mutants.

²⁾ Figures in parentheses indicate the number of seeds sown.

³⁾ Figures in parentheses indicate seed germination rates.

⁴⁾ Number of strains.

() ⁵⁾ : Mutation rate=mutated strains/strains examined.

M_2 世代における葉緑素突然変異個体は、金盃の M_2 幼苗期 (Table 2) には認められなかった照射区の No.23 および No.24 の自殖区と No.24 の交雑区にそれぞれ本葉が黄色と緑色のキメラ 1 個体が出現した。

葉緑素突然変異の出現率は Table 3 に示すように、照射区一自殖の供試 7 系統中変異系統が 2 で変異出現率が 28.6%，照射区一交雑の供試 6 系統中変異系統が 2 で変異出現率が 33% となった。

以上の結果から M_2 世代の幼苗期 (Table 2) と成熟期 (Table 3) とをまとめた葉緑素突然変異出現率は、照射区一自殖が 7 系統中変異系統が 3 で 43%，照射区一交雑で 9 系統中変異系統が 2 で 22% となった。品種は異なるが線量率で比較してみると、金盃の 20 kR/日照射の高線量率区では自殖と交雑区を含めて葉緑素突然変異率は 7 系統中 3 系統で 43%，改良富士の 5 kR/日照射の低線量率区では 7 系統中 2 系統で 29% であり高線量率区で高かった。

3. 放任受粉による M_1 個体の種子結実率と発芽率および幼苗期の突然変異率

(1) 種子の結実率：放任受粉による種子の結実率は、Table 4 に示すように、対照区で一莢当りの平均種子数が、金盃では 8.0 粒、改良富士では 9.5 粒であった。それに対し、金盃の 5 kR/日照射区では 4.8 粒、20 kR/日照射区では 6.1 粒、改良富士の 5 kR/日照射区では 7.8 粒であった。対照区の方が照射区より種子の結実率は高かった。両品種とも自殖区および交雑区 (Table 2) の場合より、放任受粉の場合の方が一莢当りの種子数は多い傾向を示した。

(2) M_2 種子の発芽率：平均発芽率は、対照区金盃および改良富士でそれぞれ 70% と 71%，金盃の 5 kR/日照射区では 68%，20 kR/日照射区で 79%，改良富士の 5 kR/日照射区で 85% であった。種子の発芽率は、種子の結実率と異なり、放任受粉の方 (平均発芽率 68~85%) が M_1 個体間の交雑 (平均発芽率 76~97%，Table 2) よりも低い傾向を示した。

(3) 放任受粉によって得られた M_2 世代の幼苗期の突然変異：葉緑素突然変異は、金盃の 5 kR/日照射区で No.11 の本葉に黄色と緑色のキメラ 1 個とペールグリーン 3 個体、20 kR/日照射区では、No.20 の本葉にペールグリーン 1 個体、No.26 にアルビノ 5 個体、No.33 の本葉にペールグリーン 1 個体がそれぞれ出現した。改良富士では対照区の No.44 にアルビノが 1 個体出現した。

葉緑素突然変異出現率は、対照区金盃では供試系統 6 のうち変異系統数 0 で 0%，5 kR/日照射区では供試系統 9 の中変異系統が 1 で系統当り 11%，20 kR/日照射区では供試系統 11 中変異系統 3 で 27% であり、高線量率照射区で高かった。改良富士では、葉緑素突然変異出現率は、対照区が供試系統 12 中変異系統 1 で系統当り 8%，5 kR/日照射区では供試系統 2 中変異系統数が 0 で 0% であった。2 品種をまとめて対照区と照射区の葉緑素突然変異をそれぞれ示すと、対照区が供試系統 18 中変異系統 1 で系統当り 5.6%，照射区では供試系統 22 中変異系統数が 4 で 18% であった。

考 察

ブラシカ属の放射線処理に関する研究は、種子照射による放射線感受性についての報告 (GÓMEZ-CAMPO and DELGADO 1964; 生井・細田 1969; YAMAGUCHI and TSUNODA 1969) がある。筆者はこれまでにブラシカ属の突然変異率を高めようとして、放射線の高線量照射により胚、胚乳および胚珠にみられる障害 (馬上 1980 a, '80 b) を観察し、さらに照射胚の培養を行ない、高線量照射された胚でも培養により生きつづけ (馬上 1983), 培養後ポットへ移植することによって M_1 個体の生存率が向上することを明らかにしてきた (馬上 1984)。本研究では、高線量の γ 線を照射した胚を培養によって得た M_1 個体を栽培し、突然変異個体の出現を明らかにしようとした。その結

果、 M_1 個体は成熟まで達し、 M_2 世代で突然変異個体を出現することが解かり、他殖性作物の突然変異育種の上で貴重な資料を得ることができた。

鉢への定植後の M_1 個体の生育は、対照区と照射区では、草丈からみる限りそれ程大きな差はない。種子の結実率は対照区および照射区とも平均して低いが、照射区の中に交雑組合せによっては、高い種子結実率を示す個体も認められた。このように種子の結実率の高い個体のみられることから、高線量照射による種子不稔は、カンランにおいて大きな問題とならないことが明らかにされた。

M_2 種子の発芽は、照射区の自殖（平均発芽率 78.0%）、交雑（平均発芽率 86.3%）および放任受粉区（平均発芽率 68~85%）のいずれもほとんどが 50% 以上であった。このように比較的高い種子発芽率の得られることは、高線量照射した場合でも得られた種子が育種に利用できることを示している。

放射線による突然変異は大部分が劣性方向に生ずるが、このことは本実験においても M_1 世代および対照区の交雑で突然変異の出現がなく、主に自殖、 M_1 個体間の交雑による M_2 世代で出現していることから理解できる。放任受粉による M_2 幼苗期の変異出現も変異を引き起こした配偶子同志が交雑されたと考えれば不自然さはない。

本実験での突然変異は、 M_2 世代になってペールグリーン、アルビノおよび本葉の黄色と緑色のキメラと云うように葉緑素突然変異だけであって、実用的な突然変異は観察されなかった。このことは、他殖性の実用的な突然変異を葉緑素突然変異で平衡させて論ずることは危険であると考えられるが、突然変異出現の目安として利用できよう。

対照区の自殖および交雑区（無照射個体×照射個体）では、変異個体は出現しなかった。 M_1 個体の自殖と M_1 個体間の交雑では、変異出現率は、自殖の方が交雑区よりも高かった。放任受粉では、対照区に変異個体が 5.6% 認められたが、放任受粉の照射区の突然変異出現率は人為的に交配された自殖と交雑区に比べて低かった。

また、突然変異個体は、自殖および交雑区では受粉後 9 日目照射区から、放任受粉において受粉後 9~13 日目照射区からのみ出現しており、突然変異誘発には発育の進んだ時期の照射より若い時期の照射の方が効果的であると推察される。このように M_1 個体間の交雑および放任受粉後に変異個体が出現することから、他家受粉作物であるブラシカ属に放射線を利用できることを示唆している。

他殖性作物における突然変異の選抜方法として、イタリアンライグラスの穂別ヒル内交雑法（鵜飼 1983）が考案され、この場合放任受粉では 10 kR の γ 線を照射した M_1 では 1 個体も葉緑素突然変異が得られず M_2 ではヒル別系統当り 4% 頻度で変異が見出されたと報告されている。本実験では放任受粉の M_2 幼苗期で葉緑素突然変異率が系統当り 8~27%（平均 22.7%）で変異率は高いようである。また鵜飼（1983）は放任受粉で葉緑素突然変異が系統当り 22% でカンランの放任受粉の平均 22.7% とあまり変わらないようである。ただし、カンランの M_1 個体の自殖は系統当り 43% と高かった。以上のことを考えると、カンランでは自殖で変異率が高いので他殖性作物であっても、自殖の可能な作物では、一度自殖を入れて変異を選抜した方が選抜効率はやいと推測される。

本研究のように高線量を照射した胚を培養によって生存させることにより、従来の種子照射および生体照射よりも突然変異率を高め得ることが期待される。ここでは、ブラシカ属の実験結果の報告が手に入らないので、他の作物で得られた変異出現率と比較してみる。イネでは突然変異出現頻度は穂当り 6.1%（山口 1969）、アルビノ出現頻度は系統当り 4.9%（鵜飼 1968）と報告されて

いる。オオムギでは放射線処理による不稔突然変異率は 1.36%，葉緑素突然変異出現率は 6.08% (山下・鵜飼 1979)，二条オオムギの γ 線照射では，葉緑素突然変異出現率は 9.8% (山口・山下 1979) であったと報告されている。このように作物によって突然変異率に相違が認められるが，カンランの胚培養によって得られた個体中出现した突然変異は，主として葉緑素突然変異で，その出現頻度は系統当り照射区一自殖で 43%，照射区一交雑で 22% とイネおよびオオムギ類と比較して高いようである。また，使用された高線量 (20 kR) 照射では，いずれの場合も種子発芽は 0% (馬上 1984) であり，この線量では致死してしまい M_1 個体を得ることはできない。このような状況の基において本研究では培養によって M_1 個体を得たこと，扱った系統数が極めて少ないにもかかわらず高率に変異が出現していることを考え合せると，高線量照射された胚の培養によって得られた M_1 個体からの突然変異出現率は明らかに高められたものと推測され，胚培養技術の利用は，突然変異育種に有効なものと判断される。

謝 辞

本稿を草するにあたって，御指導を頂いた野菜試験場育種第一研究室長 高柳謙治博士，有益な助言を頂いた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

- GÓMEZ-CANPO, C. and L. DELGADO 1964. Radioresistance in crucifers. *Radiation Botany* 4: 479~483.
- 蓬原雄三 1983. 収量性の突然変異. 渡辺好郎・山口彦之監修，突然変異育種 15-22，養賢堂.
- 馬上武彦 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: 27~28.
- 1980 b. ———，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.
- 1984. カンランの γ 線照射胚の培養による生存率の向上，育種 34: 210~218.
- 生井兵治・細田友雄 1969. アブラナ科作物の放射線育種に関する研究，1. ガンマー線種子照射が初期生育におよぼす影響について，育種別 1，19: 24~25.
- 鵜飼保雄 1968. 稲における放射線感受性の品種間差異の研究，第2報，幼苗長，鞘葉長，花粉稔性，種子稔性の減少と葉緑素突然変異に示された放射線感受性，育種 18: 127~138.
- 1983. 牧草類，渡辺好郎・山口彦之監修，突然変異育種 223~230，養賢堂.
- YAMAGUCHI, Y. and S. TSUNODA 1969. Nuclear volume, nuclear DNA content and radiosensitivity in *Brassica* and allied genera. *Japan. J. Breed.* 19: 350~356.
- 山口彦之 1969. イネ発芽種子照射における突然変異頻度の変動，育種別 1，19: 32~33.
- 山口勲夫・山下 淳 1979. 二条オオムギにおけるうどんこ病抵抗性突然変異の誘発利用に関する研究，1. 抵抗性突然変異誘発における γ 線とエチレンイミンの比較，育種 29: 217~227.
- 山下 淳・鵜飼保雄 1979. 放射線および化学物質により誘発された雄性不稔突然変異の研究，1. γ 線およびエチレンイミン処理によるオオムギ不稔突然変異の誘発と選抜，育種 29: 101~114.

Summary

Embryo culture method was applied to embryos irradiated in order to raise the mutation rate in cabbage plants (*Brassica oleracea* L.) obtained by cross-pollination.

In this report, the author studied seed setting, germination rates of the plants and the number of chlorophyll mutants which appeared in M_1 plants obtained from irradiated embryo cultures and subsequent M_2 plants.

Materials used in this experiment were M_1 plants (cultivars, Kinpai and Kairyōfuji) obtained by embryo culture and M_2 plants which were derived from self- and cross-dollination of the M_1 plants, and from open pollination of the M_1 plants.

The survival rate (plants which survived/those planted) of the M_1 plants was relatively low, ranging from 50~58% (average 55%) in the controls and 0~100% (average 25%) in the materials exposed to 20 kR irradiation (Table 1).

Seed setting in the M_1 plants in self- and cross-pollination between the M_1 plants was comparatively high (Table 1). The seed germination rate was 94 to 100% in the controls and also as high as over 50% in the materials exposed to 20 kR irradiation. Four pale green mutant seedlings were obtained by self-pollination in the M_1 plants of Kairyōfuji (*B. oleracea*).

Seed setting of the M_1 plants in open pollination was higher than that in self- and cross-pollination, but the germination rate showed a reverse pattern (Tables 2, 4). Mutants, namely pale green, albino and chimera with yellow and green leaf, were observed in case of open pollination (Table 4).

Growth of the M_2 plants was influenced by radiation damage, but plants which survived developed vigorously like the controls. Chimera mutants with yellow and green leaf were observed in the advanced stages of development as well as in the seedling stage (Table 3).

Chlorophyll mutation rates per strain were 0% in the controls, 14.3% in the M_2 plants obtained by selfing and 0% in those obtained by crossing of the M_1 plants at the seedling stage. On the other hand, these rates were 28.6% in the M_2 plants obtained by selfing and 33% in those obtained by crossing between the M_1 plants at advanced stages of development. In case of open pollination, the chlorophyll mutation rates per strain were 5.6% in the control and 18% in the 20 kR plants subjected to irradiation.

From these experiments, it is concluded that the chlorophyll mutation rate can be raised by the culture of embryos irradiated at higher doses.

T. MOUE

Faculty of Agriculture, Niigata University, Niigata 951