

放射線によるハッカ属植物の育種学的基礎研究

(第5報) X線照射による日本ハッカの突然変異の研究

小野 清 六・池 田 長 守

Studies on the radiation breeding in the genus *Mentha*

V. Mutations of *Mentha* induced by X-rays

Seiroku ONO and Nagamori IKEDA

Dormant seeds of *Mentha arvensis* L. var. *piperascens* MAL. (Japanese mint, $2n=96$) and those of induced tetraploid plant ($2n=192$) were subjected to X-ray treatment. They were treated at 200 KV., 19 mA. with 1.0 mm of aluminum filtration and a dose rate of approximately 110 R per minute. The whole dosage applied ranged from 5 KR to 20 KR.

In case X-ray was below 10 KR irradiation there were no striking differences in the germination rate of seed, growth of young seedlings and the morphological characteristics of mature plants, between the irradiated plants and the control. At 20 KR irradiation the germination of seeds as well as the growth of seedling was reduced, delayed and became uneven.

Most of the chromosome aberrations found in the X_1 -plants were tetravalent chromosomes ($3_N \sim 5_N$ in the original mint and $8_N \sim 11_N$ in the tetraploid mint). Univalent or fragmental chromosomes, too, have been observed. Occurrence of chromosome aberrations mentioned above became more frequent as the dosage of X-ray treatment increases and a linear relationship could be seen between them. The identical chromosome aberrations were often observed in two or three inflorescences of the same plant.

As to the chromosome aberration and also in the germination rate of seed, the original Japanese mint suffered heavier damages by X-ray irradiation than induced tetraploid one, so the latter seemed to show a higher tolerance against X-ray irradiation than the former.

Among X_1 -plants of which seeds were treated at 10 KR or 20 KR irradiation of X-ray, there appeared also various kinds of morphological abnormality. By raising X_2 generation, the patterns of inheritance ascertained.

I. 緒 論

放射線を生物に照射して人為突然変異を高頻度で誘発する研究は、MULLER (1927) がショウジョウバエを用いて実験を行なったのに始まり、植物では STADLER (1928) が、オオムギやトウキビを用いて、人為的に突然変異を誘起させることを立証して以来、人為突然変異を育種に利用しようとする試みが、数多く行なわれたが、誘起される突然変異の大部分が劣悪であったり、また、有用変異が出現するとしてもその機会がきわめて稀であったために、突然変異による育種法はとくに重視されることもなく、20余年の歳月を経過した。ところが、近年、

原子力の解放によって、比較的容易に種々の放射性同位元素を利用し得るようになり、人為突然変異の育種利用に関する研究があらためてとりあげられるようになった。その結果、人為突然変異に関する研究は、最近長足の進展を示している。しかし、現在、放射線によって突然変異が誘起される機構は明らかでないが、線量の増加につれて、突然変異率の増加することは MULLER (1940), SAX (1940), その他によって明らかにされている。本研究は以上の如き現状ならびに観点に基づき、人為突然変異の誘起、利用に関する育種の基礎資料を得る目的で、ハッカ属植物にX線照射を行ない、誘起した変異の遺伝学的解析を行なったものである。

II. 実験材料 および 方法

材料は、岡山大学農学部育種学研究室で保存栽培している *M. arvensis* L. var. *piperascens* MAL. (日本ハッカ $2n=96$, 以後2倍体と呼ぶ) およびその人為4倍体 ($2n=192$) を用いた。X線照射 (200 KV 19 mA, 1.0 mm の Al フィルターを使用, 線量率は 110 R/min の急照射) を、これらのハッカ種子に行ない、線量は、5 KR, 10 KR および 20 KR とした。照射後直ちに鉢に播種して後、圃場に定植した。

体細胞染色体は、根端を押しつぶして酢酸オルセインで染色して観察し、花粉母細胞の観察は酢酸カーミン染色によるすりつけ法によった。

III. 実験 結果

(1) 染色体異常

染色体異常は、5 KR, 10 KR および 20 KR 区で1細胞当り2倍体ではそれぞれ0.08, 0.45 および0.65%であり、その人為4倍体ではそれぞれ0.13, 0.19 および0.51%であって、線量の増加につれて異常率も増加した。染色体異常のうちでもっとも多いのは4価染色体の出現であって、1 PMC 当り2倍体では3~5の4価染色体が、また、4倍体では8~11の4価染色体が見られた (第1表および第1図)。その外1価染色体も少なくとも、断片染色体も稀に出現した。また、染色体異常の出現率は、4倍体よりも2倍体でやや高い価を示した。

禾本科の植物において、X線を休眠種子に処理した場合、照射当代 (X_1) に、正常な分裂像を示す穂と、分裂像が異常を呈する穂とが1個体内に共存する場合は報告されている。ハッカ

Table 1. Relation between dosage of X-ray, and frequency and kind of chromosome aberrations in Japanese mint

Material	Dosage of X-ray irradiation (KR)	No. of observed individual	Chromosome aberration					Total no. of aberrant	Frequency of aberration per cell	
			48 _I (%)	3 _{IV} + 42 _I	4 _{IV} + 40 _I	5 _{IV} + 38 _I	46 _I + 4 _I			48 _I + 2 _{fr}
Japanese mint	0	55	55(100)	—	—	—	—	—	0	0
	5	127	117(92.1)	5	2	—	3	—	10	0.078
	10	130	72(55.4)	32	12	—	14	—	58	0.446
	20	110	38(34.5)	52	5	2	5	5	72	0.654
Induced tetraploid Japanese mint			96 _I (%)	8 _{IV} + 80 _I	10 _{IV} + 76 _I	11 _{IV} + 74 _I	95 _I + 2 _I	96 _I + 10 _{fr}		
	0	13	13(100)	—	—	—	—	—	0	0
	5	119	103(86.6)	16	—	—	—	—	16	0.134
	10	69	57(82.6)	10	2	—	—	—	12	0.187
	20	73	36(49.3)	30	2	2	—	3	37	0.506

属植物を使用した本実験においても、このことを考慮し、同一個体から2つあるいは3つの花序をとって観察を行なったが、分裂像の正常な個体はどの花序も正常であり、異常を呈する個体は、どの花序にも異常が認められ、正常と異常の共存する個体は観察されなかった。

(2) 種子の発芽に対する影響

X線照射の休眠種子発芽に対する影響は第2表に示すようである。すなわち2倍体、4倍体とも10KRまでは、発芽率に顕著な低下はなく、20KR区において著しい低下が起こった。また2倍体の5KR、10KRおよび20KR区において発芽率がそれぞれ71.0、79.5および36.5%であるのに対し、4倍体ではそれぞれ75.5、80.0%および44.5%となっており(第2表)、照射による発芽率の低下は2倍体の方が大きかった。

Table 2. Germination of X-ray irradiated mint seed

Material	Dosage of X-ray irradiation (KR)	No. of seed tested	No. of seed germinated	Germination rate (%)
Japanese mint	0	200	164	82.0
	5	200	142	71.0
	10	200	159	79.5
	20	200	73	36.5
Induced tetraploid Japanese mint	0	200	162	81.0
	5	200	151	75.5
	10	200	160	80.0
	20	200	89	44.5

(3) 形態的変異

葉面積が大きくなった広葉 (wide leaf)、葉巾のせまくなった細葉 (narrow leaf) (これには正常の3分の2ぐらいのものから2分の1ぐらいのものまで色々な段階が含まれる)、反転

Table 3. Several kinds of mutation in Japanese mint induced by X-rays

Material	Pattern of inheritance	Character
Japanese mint	R	Early segregated from deformed plants
	R	Narrow leaf
	D	Wide leaf
	P	Variegated
	R	Round leaf
	R	Yellow spot
	R	Yellow petiole
	R	Dwarf with small leaf
	R	Curved oblong leaf
Induced tetraploid Japanese mint	R	Pubescent small leaf
	D	Wide leaf
	P	Variegated
	R	Dwarf lethal
	R	Dwarf with small leaf

1) R: recessive, D: dominant, P: plasmic inheritance

した細葉 (curved oblong leaf), 縮れ葉 (crispate leaf), 小さくて丸味を帯びた丸葉 (round leaf), 不齊葉脈 (irregular vein), 葉面に黄色の小斑点のある黄色斑 (yellow spot), 新葉の基部が黄色を呈する黄色葉柄 (yellow petiole), 一節に葉が3葉以上で輪生 (verticillate), 茎の帯化 (banding), その他器官の形態的変異は, その種類が非常に多い。

植物体全体の形態的変異としては, 草丈が正常の3倍位になる高性 (giant), 2分の1から5分の1ぐらいの矮性 (dwarf), 節間の著しく短くなった短節間 (short internode) などがあり, 生理的変異としては, 約1カ月早く開花する早生 (early ripening) が得られた。これらのうち若干の変異体を第2図に示した。この外に精油を貯蔵する油腺の数が非常に多くなった多油腺 (plentiful oil gland), 形の大きい大油腺 (large oil gland), 精油成分の変異などが見られる。

これらの変異の大部分は X_1 または X_2 に現われ, 子孫に遺伝する突然変異の外に, 遺伝しない変異もある。前者のうち自殖あるいは交雑により遺伝様式を決定した変異体の主要なものを, その遺伝様式と共に第3表に示しておいた。 X_2 に分離して現われる劣性突然変異が多く, また, X_1 に現われる優性突然変異も少なくなかった。その他, 細胞質遺伝と考えられる突然変異もある。

突然変異の出現頻度は線量とともに直線的に増加するといわれるが, 本実験においてもこれを支持する結果が得られた。

IV. 考 察

第1表で明らかのように筆者らの観察した減数分裂における染色体異常は4価染色体の出現が多く, それについて1価染色体の出現であった。断片染色体の出現はまれであった。これに対し, GOODSPEED (1956) は禾本科植物の花粉をX線処理し, これを無処理の個体と交雑した F_1 の花粉母細胞の観察において, 断片染色体や染色体の不接合を多数観察している。これは対象植物のちがう外, 同氏のは生殖細胞 (n) に対する直接照射であり, われわれのは体細胞 ($2n$) に照射したことによる差であろうか。

筆者らは, 日本ハッカの4倍体より2倍体の方が染色体異常率の高いことを観察し, また, X線照射を受けた種子の発芽率のてい減が4倍体より2倍体で高いことを見た。これらの事実は, 日本ハッカの4倍体が2倍体により放射線に対して抵抗性が強いことを示すものと考えられる。

GOODSPEED (1956) は, 禾本科植物の花粉をX線照射し, これを無処理の母本と交配した F_1 において, 矮性, 細葉, 小形葉および針状葉などを突然変異型として得, その他にも遺伝しないちぢれ葉, 畸型葉などが現われたと報告している。筆者らの実験で得られた突然変異にも矮性や細葉が多い。GOODSPEED の報告とあわせて考えると, これらはおこり易い突然変異形質と言えるであろうか。細葉は葉の巾に関して連続変異を示すと述べたが, 村岡 (1954) は葉型は環境により変り易いとし, 酒井, 井山 (1953) は葉型に関与する遺伝子は1~2対であると推定している。これらの事実は, 葉型にはいくつかの同義遺伝子が関与していることを示すものといえよう。

突然変異の解析とその利用のためには, 多数の生活力のある突然変異体を, 能率よく得られるような照射量を決定することが便利である。突然変異を最も高率に誘起するためには線量を多くすることが必要である。しかし, 日本ハッカにおいては20KRの種子照射区では, 種子

の発芽率が低く、植物体の変異率は高いが、枯死するもの、あるいは生活力が低かったり、稔性が低下（稔性の低下については別に発表する予定である）して、結局変異個体を得る率が小さくなり、また X_2 以後の栽培が困難である。GUSTAFSSON (1957) は生活力のある突然変異を最も高率にうるためには、5~20%発芽低下をきたす程度のが適当であるとしている。われわれの実験においては、この発芽低下率をあたえる線量は10 KRで、得た突然変異の生活力は旺盛であり、偶然かも知れないが、この照射量で、広葉、輪生など葉面積を広くしたり、早生性など生育期を短かくする経済的に有用な変異体を得た。

V. 摘 要

- 1) *M. arvensis* L. var. *piperascens* (日本ハッカ) およびその人為4倍体にX線(200 KV 19 mA, 1.0 mmのAlフィルター, 110 R/minの急照射)を照射して突然変異の誘起を試みた。
- 2) 染色体異常は線量の増加に従って増し、対照植物に見られない4価染色体、1価染色体ならびに断片染色体などが見られた。
- 3) 照射種子の発芽歩合のてい減率と染色体異常の誘起率とを勘案して4倍体日本ハッカは原種の2倍体日本ハッカより放射線に抵抗性が強いという結論に達した。
- 4) 突然変異形質を把握し、その中のいくつかにつき遺伝様式を決定した。
- 5) 日本ハッカのX線突然変異体利用のためには線量が10 KRが最も適当と推定される。
- 6) 育種的に利用し得るいくつかの遺伝形質が出現した。

IV. 文 献

- 1) GOODSPEED, T. H. (1956): The effects of X-ray and radium. *Journ. Hered.* 20; 243~259.
- 2) GUSTAFSSON, A. (1957): Mutations in agricultural plants. *Hereditas* 33; 1~100.
- 3) MULLER, H. J. (1927): Effects of X-radiation on genomes and chromosomes. *Amer. Nat. Res.* 37; 55~62.
- 4) MULLER, H. J. (1940): An analysis of the process of structural change in chromosomes of *Drosophila*. *Journ. Genet.* 40; 1~66.
- 5) 村岡洋三, 岡 克 (1954): 黄色種タバコ品種の葉型の変化に影響する2, 3の要因. *育種学雑誌* 3; 92.
- 6) 酒井寛一, 井山審也 (1953): タバコ葉の中骨歩合と葉型に関する遺伝学的研究. *国立遺伝学研究所年報* 4号; 116~117.
- 7) SAX, K. (1940): An analysis of X-ray induced chromosomal aberrations in *Tradescantia*. *Genetics.* 25; 41~68.
- 8) STADLER, L. J. (1928): Mutations in barley induced by X-rays and radium. *Science.* 68; 32~39.

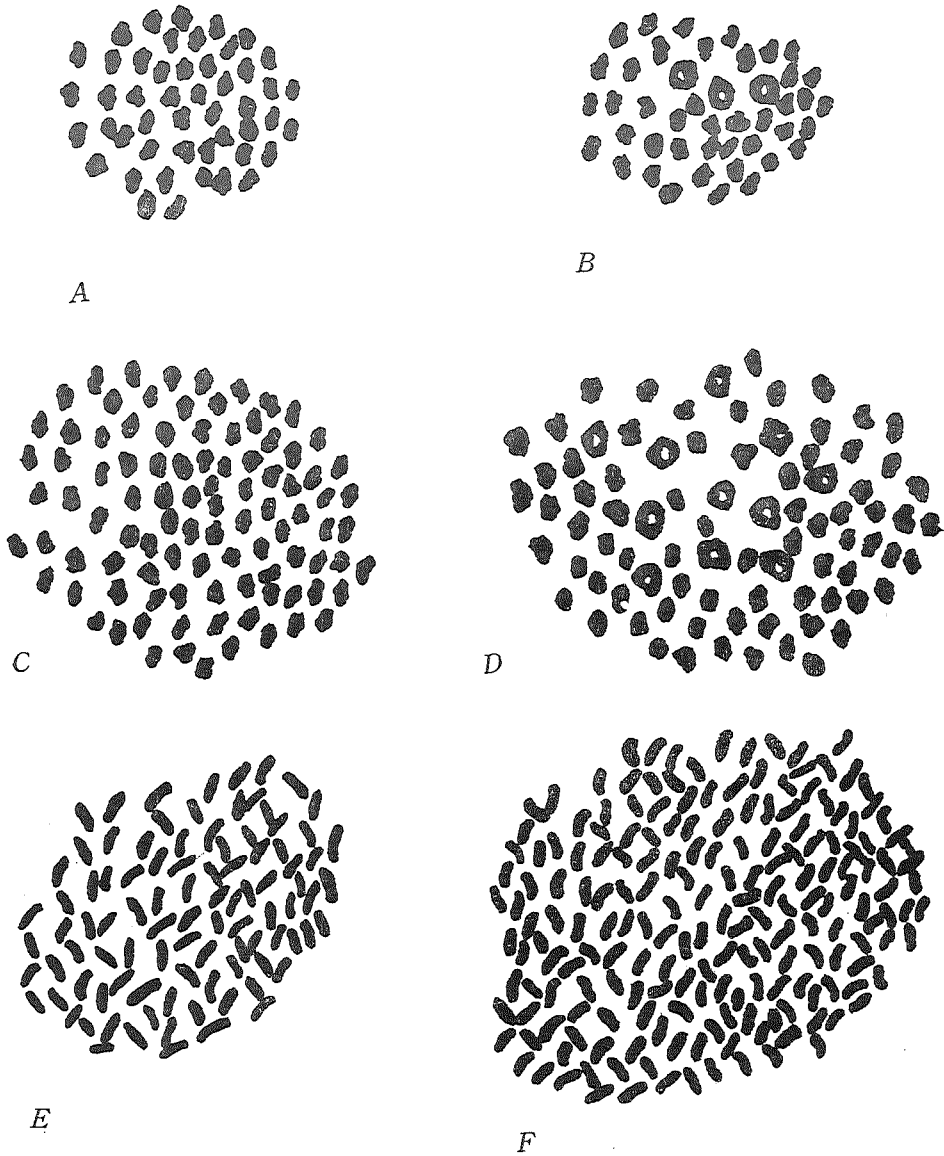


Fig 1. Mitotic and meiotic nuclear plates of Japanese mint and induced tetraploid Japanese mint. ×2500

A, B, C, D : MI of PMC irradiated by X-ray

A, Normal diploid 48_{I}

B, Aberrant diploid $3_{\text{W}}+42_{\text{I}}$

C, Normal tetraploid 96_{I}

D, Aberrant tetraploid $11_{\text{W}}+74_{\text{I}}$

E, Somatic plate of diploid $2n=96$

F, Somatic plate of tetraploid $2n=192$

- 1 : Alternate phyllotaxis
- 2 : Deformed axillary bud
- 3 : Bifurcate leaf
- 4 : Verticillate phyllotaxis
- 5 : Short Internode
- 6 : Bifurcate hair

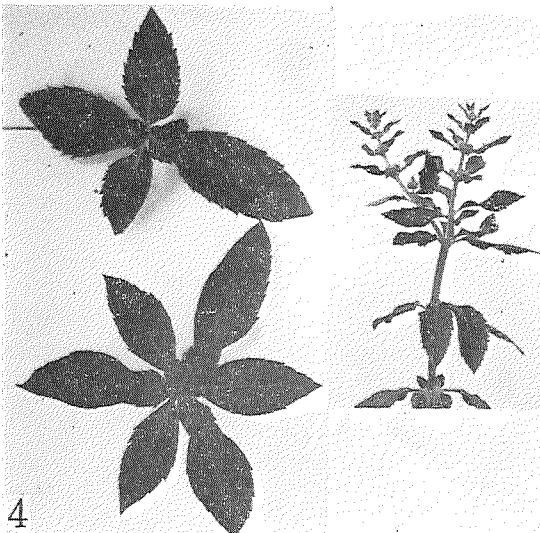
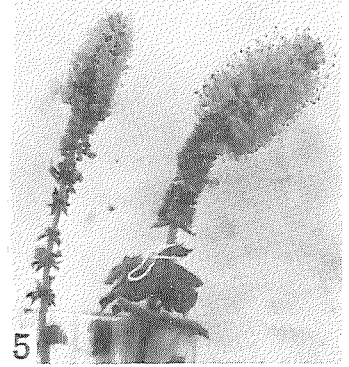
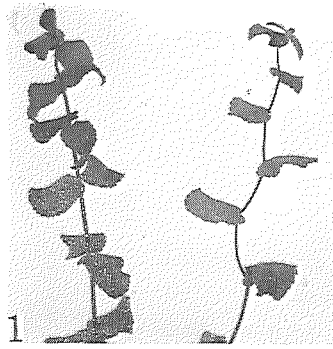


Fig 2. Induced mutants in Japanese mint by X-irradiation $\times \frac{1}{2}$