

## 論 文

核分裂中性子線または X 線の照射をうけたイエギク  
*Chrysanthemum morifolium* Ram. における  
 花色変異体の出現様相

池田 秀雄\*<sup>1</sup>, 渡邊 重義\*<sup>1</sup>, 脇屋 祥子\*<sup>1</sup>  
 近藤 宗平\*<sup>2</sup>, 伊藤 哲夫\*<sup>2</sup>, 森本 幸弘\*<sup>3</sup>

**Frequency patterns of flower-color mutants induced in *Chrysanthemum morifolium* Ram. by fission neutrons and X rays**

Hideo IKEDA\*<sup>1</sup>, Shigeyoshi WATANABE\*<sup>1</sup>, Sachiko WAKIYA\*<sup>1</sup>,  
 Sohei KONDO\*<sup>2</sup>, Tetsuo ITOH\*<sup>2</sup> and Yukihiro MORIMOTO\*<sup>3</sup>

(Received: October 30, 1991)

Cuttings of variety Seirosa of *Chrysanthemum morifolium* were irradiated with fission neutrons at doses 0.2, 0.4 and 0.8 Gy and with X rays at doses 4.5, 9.0 and 1.35 Gy at the Atomic Research Institute, Kinki University. Change in color from the original pink to orange was detected at an appreciable frequency among flowers from the irradiated cuttings. The frequency of orange flowers increased almost linearly as the dose of neutrons increased. Approximately linear dose-response curve was also observed with X rays at doses up to 9.0 Gy. Over the last mentioned dose the frequency increased faster than linearly. From the dose-response data, a dose required to produce one fully mutated flower among 200 flowers was estimated to be 0.5 Gy for neutrons and 3.2 Gy for X rays.

近畿大学原子炉 (UTR-KINKI) は最大出力が 1W で、炉心近くでは <sup>235</sup>U 核分裂による速中性子線が  $\gamma$  線と同程度得られ、生物体に直接速中性子線を照射する実験には有効である。一般に、植物における速中性子線の生物学的効果比 (RBE) は非常に高いことが知られている。本研究では栽培菊 (イエギク) の花色変異の誘発に関して近畿大学原子炉の速中性子線が X 線と比較してどの程度の効果をもつかを知る目的で、実験を行った。

イエギクは、古くから交雑育種によって改良が行われてきた植物である。本植物は挿し木による栄養生殖

によって容易に増殖できるため、芽条突然変異による改良もされてきた。また、その普及性と易変性の特徴を利用して、1950年代の後半から放射線照射を行って人為突然変異を誘発し、これによる品種の改良がなされるようになった<sup>1)</sup>。

FUJII ら (1961) は、イエギクの品種、金鈴 (黄花品種) と白米 (白花品種) の挿し穂に 2, 4, 8 kR の  $\gamma$  線を照射し、生存率や花色の変異について研究を行った。その結果、突然変異を誘発するのに適度な線量が 2~4 kR であること、白米では白色から黄色への花色の変異 (キメラを含む) が生じるが、金鈴では

\*<sup>1</sup>広島大学教育学部理科教育 \*<sup>2</sup>近畿大学原子力研究所 \*<sup>3</sup>近畿大学農学部農学科

池田他：核分裂中性子線またはX線の照射をうけたイエギク *Chrysanthemum morifolium* Ram. における花色変異体の出現様相

起こらなかったこと、白菊では 2, 4, 8 kR の  $\gamma$  線照射における 1 R あたりの花色突然変異誘発率 (枝レベル) が各々  $1.2 \times 10^{-6}$ ,  $1.5 \times 10^{-6}$ ,  $6.0 \times 10^{-6}$  であることを報告している<sup>2)</sup>。また、BROERTJES ら (1980, 1983) は、交雑によって作られた品種ホリムの挿し穂に速中性子線やX線を照射し、種々の色変りや耐低温性の品種を作るのに成功している<sup>3), 4)</sup>。

## 材料と方法

材料：本研究では、イエギクのスプレーギク品種「セイローザ」(*Chrysanthemum morifolium* Ram. cv. Seirosa:  $2n=6x=54$ ) を用いた。

スプレーギク品種の“スプレー”とは“小枝”(特

表 1. 核分裂中性子線およびX線の照射がイエギク「セイローザ」挿し穂の発根率に与える影響 (核分裂中性子線：1回目 照射20日後, 2回目 照射24日後 X線：照射32日後)

Irradiation	Gy	No. of cuttings	No. of rooted cuttings	% Rooted
1st. experiment				
Control	0	95	93	97.9
Fission neutrons	0.2	269	250	92.9
	0.4	217	188	86.6
	0.8	168	154	91.7
2nd. experiment				
Control	0	217	216	99.5
Fission neutrons	0.4	219	205	93.6
	0.8	226	196	86.7
Control	0	231	212	91.8
X ray	10.9	154	134	87.0
	21.8	154	55	35.7
	43.6	154	0	—
	87.2	154	0	—
	174.4	28	0	—

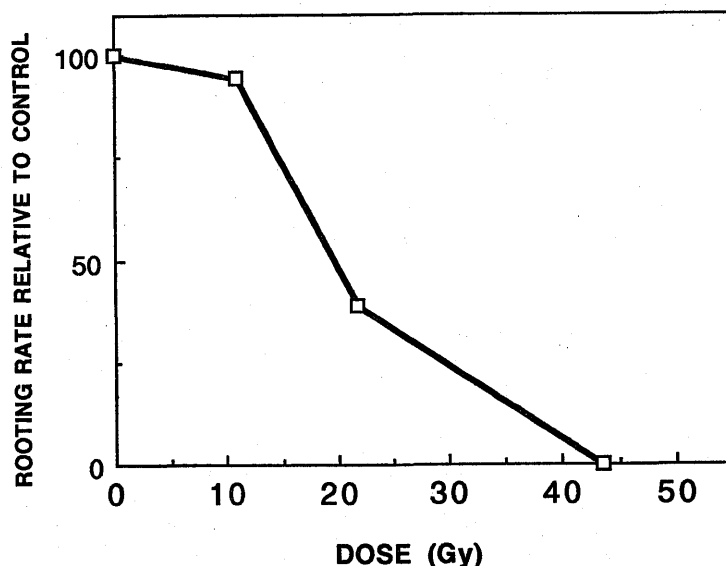


図 1. X線照射をうけたイエギク「セイローザ」挿し穂の定植後32日目の発根率 (対照区を100とした。)

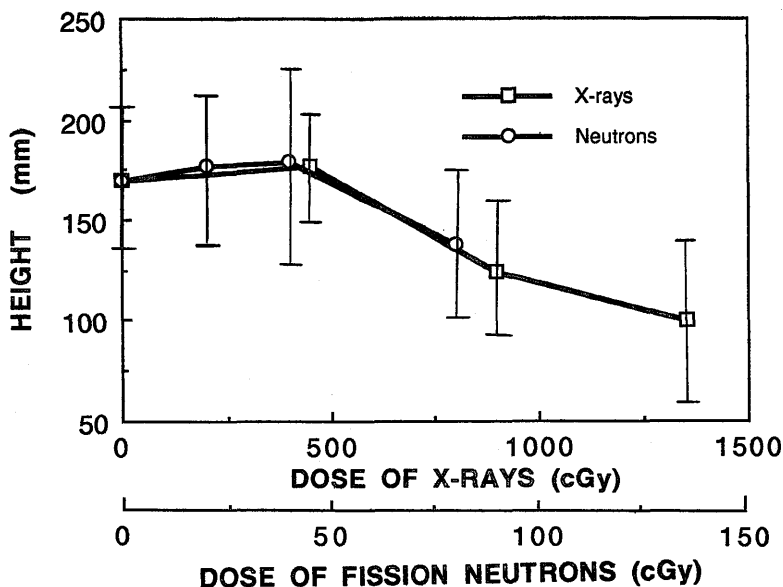


図2. 核分裂中性子線 (○) あるいはX線 (□) 照射を受けたイエギク「セイローザ」挿し穂の定植後24日目の草丈

に先が分れて花や葉のついたもの)を意味し、頭状花序(花)の直径が4~10cmの中輪で、1茎に5~10輪程度の花をつける“枝咲きギク”の品種群を指している。最近、このスプレーギクに $\gamma$ 線を照射して色変りの品種を作出することが盛んになっている。この場合、照射する母本としてピンク色の花卉を持つ系統を用いると、種々の色変りした個体が高頻度で得られることが経験的に知られている。本実験で用いたセイローザはピンク色の花卉を持つ品種である。

照射方法：セイローザの挿し穂(長さ：約5cm 展開葉：約5枚 未展開葉：約10枚 茎頂成長点を持つ)に速中性子線とX線の照射を行った。

速中性子線の照射は、1990年5月7日(実験I)、5月29日(実験II)の2回、近畿大学原子炉(UTR-KINKI)炉心中央に挿し穂の入ったビニル袋(1袋：約50本)を6~7袋入れて行った。照射時間は、1時間(0.2 Gy)、2時間(0.4 Gy)、4時間(0.8 Gy)とした。

X線の照射には、X線発生装置(日立メディコ社製 MBR 1505R)を用いた。X線照射の条件は、発根率を求める実験では、出力4mA 140kV、距離400mm、1.0mm アルミ板フィルター、それ以外の実験では、出力4mA 140kV、距離500mm、0.5mm アルミ板フィルターに設定した。照射は、茎頂が照射中心部に

くるように同心円状に挿し穂を並べ、挿し穂全体に行った。

栽培方法：速中性子線あるいはX線を照射した挿し穂は、十分に吸水をさせた後、マサ(真砂)の上に1~2cm程度の川砂を敷き詰めた挿し床に挿し芽した。その後十分に灌水し、直射日光が当たらないように寒冷紗で覆った(シェード処理)。

挿し芽から20~30日後、発根が見られた挿し穂は定植を行い、露地栽培にした。

定植後、3週間毎に摘芯(カットバック)を行った。摘芯は突然変異セクターを拡大するための操作で、茎の成長点(頂芽)を指で摘みとって行い、これによって側芽の成長を促した。今回の実験では、定植の時期に応じて花芽形成までに3~4回の摘芯ができた。

観察：個々の花卉(舌状花)で色の変化を調べ、突然変異体の出現様相を花卉単位、花(頭状花序)単位および発根した挿し穂(株)単位で解析した。

花色変異の観察に先だって、発根率と草丈の測定を行い記録に残した。但し、X線照射の発根率に対する影響は別実験で再調査し、本報告ではそのデータを記載した。

池田他：核分裂中性子線またはX線の照射をうけたイエギク *Chrysanthemum morifolium* Ram. における花色変異体の出現様相



図3. イエギク「セイローザ」の頭状花序と花色の変異

- A: 対照群の正常な頭状花序
- B: 対照群の舌状花に現れたライン状の変異
- C: 核分裂中性子線照射区 (0.4 Gy) に現れたセクター状変異 (区分キメラ)
- D: 核分裂中性子線照射区 (0.8 Gy) に現れたモザイク状変異

## 結果と考察

### I. 発根率

照射した挿し穂の中には、1ヶ月経っても発根が認められず、展開葉が枯死してしまうものがあった。速中性子線照射の場合発根率は、1回目0.2 Gy照射区で92.9%、0.4 Gy照射区で86.6%、0.8 Gy照射区で91.7%、2回目0.4 Gy照射区で93.6%、0.8 Gy照

射区で86.7%となり、いずれも対照区の97.9%や99.5%と比較すると、若干の低下があるものの線量による大きな差は認められなかった。X線を照射した挿し穂の発根率は、対照区で91.8%、10.9 Gy照射区で87.0%、21.8 Gy照射区で35.7%となり、線量に依存して減少し、43.6 Gy以上の照射では完全に発根が見られなかった(表1)。

X線照射区の非照射区に対する発根率を表すグラフ(図1)より、X線の半数致死量(LD<sub>50</sub>)は約20 Gyと推測された。速中性子線のLD<sub>50</sub>については、原子

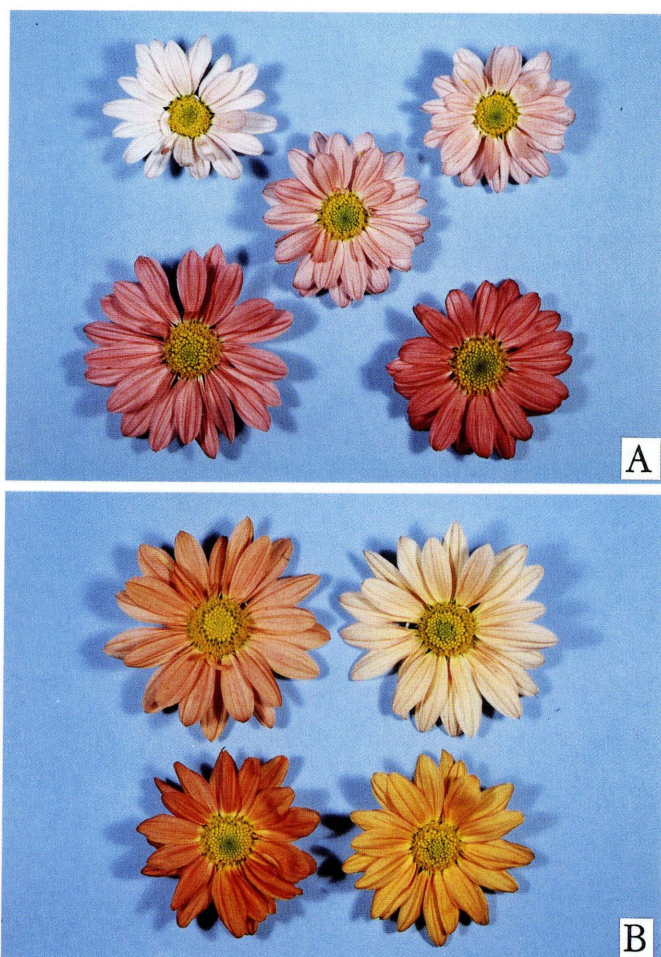


図4. イエギク「セイローザ」X線照射区 (13.5 Gy) に現れた頭状花序  
 A: ピンクの花色をもつ頭状花序。左上がもっとも淡く、右下が最も濃いもので、色差計による測定では対照群のピンクとはほぼ同じ値の範囲であった。したがって、本実験では濃淡の差は色の変異とはみなさなかつた。  
 B: オレンジの花色をもつ頭状花序。頭状花序の舌状花全てに変異を起こしたものの。

炉の運転の都合で長時間照射することができず、実験できなかつた。

## II. 草丈

同時に定植を行った対照区、速中性子線照射区、X線照射区の定植後24日経過した時点で、各個体の草丈を測定した(図2)。速中性子線 0.2 Gy, 0.4 Gy X線 4.5 Gy 照射区では草丈の平均値が対照区に比較して若干高く、茎の伸長に対して正の作用(伸長促進)がわずかに認められたが、各区内における標準偏差が

大きく、統計的に有意な差はなかつた ( $t$  検定  $.1 < P < .3$ )。放射線の低線量照射によるホルミシスについては、今回の結果から明らかなことは言えない。再度実験を行って確認する必要がある。

比較的高線量照射である速中性子線 0.8 Gy X線 9.0 Gy, 13.5 Gy の各照射区では、対照区に比べて明らかに有意な伸長抑制が認められた ( $P < .01$ )。

図2の横軸の速中性子線量はX線量の1/10に対応させている。この図で速中性子線とX線の線量効果関係がほぼ重なりあっている。これは草丈抑制に関する速中性子線の生物学的効果比(RBE)は約10であるこ

とを示す。

### Ⅲ. 花色突然変異体の出現様相

セイローザの正常な舌状花の花弁の色はピンクであるが(図3, A), 挿し穂に速中性子線やX線を照射したもので、舌状花の色がもとのピンクと濃さが異なる変異体や、オレンジに変化した変異体が得られた。ピンク系統、オレンジ系統に変異した色でも微妙に色合いの異なるものが見られた(図4 A, B)。キクの花色はカロチノイド系色素とアントシアニン系色素で構成されており、その花弁表層および内層における分布で異なる花色を表すことが知られている。もとのピンクと濃さが異なる変異については、色素の合成系の活性の変化とみなされる。また、オレンジ系統の変異は、アントシアニン系色素が合成され始めた変異とみなされる。本研究では後者を花色変異とした。

今回の実験で観察された変異の現れ方には、舌状花の長軸に沿ってライン状に現れるもの(図3 B)、1枚の舌状花全体に現れるもの、1個の頭状花序の舌状花数枚にセクター状に現れるもの(図3 C)、花全体に現れるものがあった(図4 B)。

対照区では、自然突然変異としてライン状の変異が見られ、更に、舌状花全体の色変りが調べた多数の舌状花のうち1枚のみに認められた。速中性子線およびX線照射区では、1個の頭状花序のうちでセクター状に生じたものが観察された。このセクター状の変異は、区分キメラで現れるものが多かったが、時として、モザイク状キメラとして現れるものもあった(図

3 D)。

ライン状変異の出現頻度を計算するにあたり、各照射区の1花当りの平均舌状花数を調べた(表2)。

#### 1) ライン状の花色変異の出現頻度

対照区および照射区で、ライン状の変異の現れた舌状花の頻度を求めた(表3)。

対照区において、かなりの頻度でライン状の変異が観察された。速中性子線照射の場合には、線量増加に伴ってライン状の変異も増加する傾向がみられたが、X線の10.9 Gy 照射の場合には対照区以上の増加は認められなかった。

#### 2) 変異花弁の出現頻度

対照区、速中性子線照射区、X線照射区の全ての舌状花について1枚全体に変異を起こしている舌状花の数を調べ、花弁レベルでの変異体の出現頻度を求めた(表4)。各照射区における舌状花の合計枚数は、それぞれの照射区における花数に、平均花弁数(表2)を掛けて求めた。

#### 3) 変異花の出現頻度

対照区、速中性子線照射区、X線照射区の合計67,941の頭状花序について1個の頭状花序の全ての舌状花に変異を起こした花の数を調べ、それぞれの照射区における変異花の出現頻度を求めた(表5)。

#### 4) 変異体が出現した株の頻度

対照区、速中性子線照射区、X線照射区の合計1,625株について1個の頭状花序の全ての舌状花に変異を起こしたものを持つ株の数を調べ、それぞれの照射区における変異体が出現した株の頻度を求めた(表5)。

1株当たり平均して40前後の花をつけたが、1株につ

表2. 各照射区における1頭状花序当りの平均舌状花数

Irradiation	Gy	No. of flower heads observed	No. of ray flowers per flower head			
			Mean	Max	Min	SD
1st experiment						
Control	0	61	22.4	28	15	2.1
Fission neutrons	0.2	91	22.1	29	16	2.5
	0.4	123	22.5	34	18	2.6
	0.8	55	23.1	30	19	2.2
X rays	4.5	83	22.4	28	19	1.9
	9.0	107	22.7	31	18	2.6
	13.5	71	23.3	34	18	3.0
2nd experiment						
Control	0	77	22.5	33	19	2.2
Fission neutrons	0.4	60	23.0	31	18	2.7
	0.8	128	22.1	36	16	2.6

く変異花の数にはばらつきが多く、1株に1つだけ変異を生じるものもあれば、全体の約2/3の花に変異を生じる株もあった。これは摘芯による変異セクターの

拡大に均一性がなかったこと、放射線照射の際に均等に照射が行われなかったことが原因として考えられる。今後の問題である。

表3. ライン状に変異した花卉の出現頻度

Irradiation Gy	No. of flower heads (a)	Average no. of ray flowers per flower head (b)	No. of striped ray flowers (c)	% Frequency ( $\frac{c}{a \times b} \times 100$ )
Control	0	22.4	129	0.17
	0	7,018	327	0.21
Fission neutrons	0.2	22.1	118	0.29
	0.4	22.5	161	0.41
	0.8	23.1	297	0.57
X rays	10.9	(23.0)*	188	0.14

\* 推定値

表4. 全体に変異した花卉の出現頻度

Irradiation Gy	No. of ray flowers	No. of completely mutated ray flowers	% Frequency
1st experiment			
Control	76,574	1	0.0013
Fission neutrons	0.2	321	0.14
	0.4	1,413	0.76
X rays	0.8	909	0.53
	4.5	741	0.70
	9.0	1,802	1.7
13.5	5,537	6.0	
2nd experiment			
Control	217,058	0	—
Fission neutrons	0.4	366	0.17
	0.8	1,617	1.2

表5. 全花卉に変異した花の出現頻度

Irradiation Gy	No. of flower heads	No. of completely mutated flower heads	% Frequency
1st experiment			
Control	3,412	0	—
Fission neutrons	0.2	14	0.14
	0.4	52	0.63
	0.8	39	0.52
X rays	4.5	33	0.70
	9.0	78	1.6
	13.5	248	6.2
2nd experiment			
Control	9,661	0	—
Fission neutrons	0.4	16	0.18
	0.8	78	1.2

池田他：核分裂中性子線またはX線の照射をうけたイエギク *Chrysanthemum morifolium* Ram. における花色変異体の出現様相

#### IV. 速中性子線照射およびX線照射の比較

花卉の色彩変異の出現パターンにライン型と全体型の2型が認められたが、すでに述べたように、前者はX線照射では誘発されず、速中性子線照射区においてもその頻度の上昇はわずかであった(表3)。一方、全体型はいずれの照射でも線量依存的に誘発された(表4)。線量効果関係はX線照射の場合、9 Gy までほぼ直線的で、それ以上の線量域では指数関数的になった。速中性子線照射の場合、2回の実験の平均的效果でみると、用いた線量の範囲内でほぼ直線的な線量効

果関係が認められた(図5)。花全体の変異(表5)についても同様な線量効果関係が認められた(図6)。図7には変異花をもたらしした株の頻度(表6)を線量に対してプロットしている。ここでも、X線の高線量域での指数関数的線量効果関係、速中性子線線量に対するほぼ直線関係が認められた。

図5より変異花卉を0.5%の頻度で誘発する速中性子線量は0.46 GyでX線量は3.2 Gyであることがわかる。図6より変異花を0.5%の頻度でもたらし線量はそれぞれで0.5 Gyと3.2 Gyとなる。これらの数値より花色変異体の誘発に関する速中性子線の生物学物効果比(RBE)は6~7と推定する。

表6. 変異花をもたらしした株の頻度

Irradiation	Gy	No. of plants	No. of plants with mutated flower heads	% Frequency
1st experiment				
Control	0	93	0	—
Fission neutrons	0.2	250	3	1.2
	0.4	188	5	2.7
	0.8	154	6	3.9
X rays	4.5	108	3	2.8
	9.0	111	7	6.3
	13.5	104	16	15.4
2nd experiment				
Control	0	216	0	—
Fission neutrons	0.4	205	3	1.5
	0.8	196	13	6.6

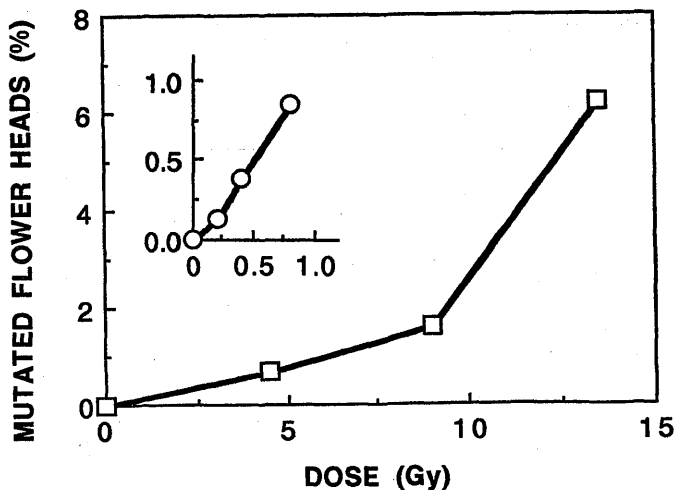


図5. 変異花卉の誘発頻度と線量の関係 (□: X線, ○: 中性子線)



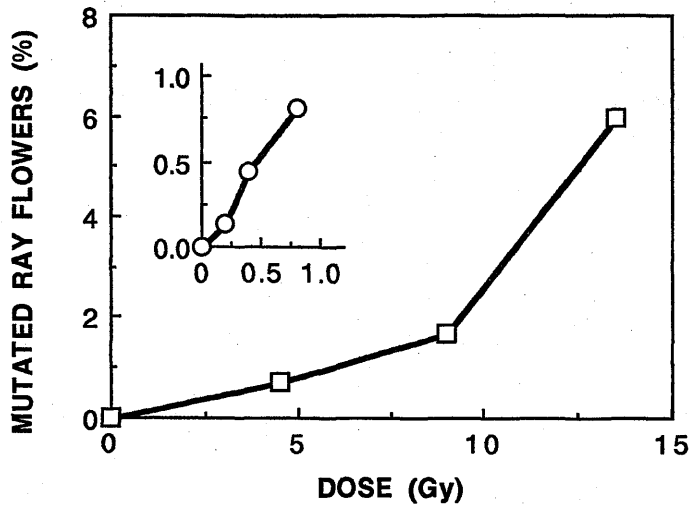


図6. 変異花の誘発頻度と線量の関係  
(□: X線, ○: 中性子線)

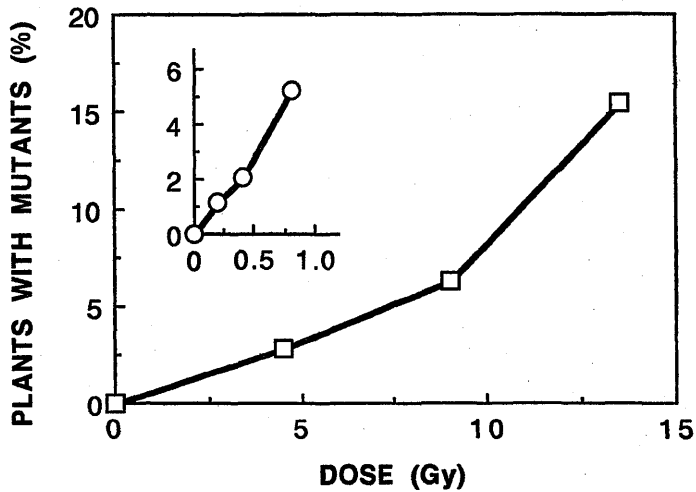


図7. 変異花をもたらした株の頻度と線量の関係  
(□: X線, ○: 中性子線)

(謝辞)

本研究を行うにあたり、精興園より大量のセイローザの挿し穂の提供を受けた。本稿作成にあたり、藤川和男博士の御教示を受けた。厚く謝意を表す。

参 考 文 献

- 1) 渡辺好郎, 山口彦之: 突然変異育種, pp. 253-254., 養賢堂, (1983).
- 2) FUJII, T., T. MABUCHI: Irradiation Experiments with Chrysanthemum, Seiken Ziho, 12, 40~44, (1961).

池田他：核分裂中性子線またはX線の照射を受けたイエギク *Chrysanthemum morifolium* Ram.  
における花色変異体の出現様相

3) BROERTJES, C., P. KOENE, W. H. VAN  
VEEN: A Mutant of a Mutant of a Mutant  
of a... Irradiation of Progressive Radiation  
-induced Mutations in a Mutation-breeding  
Programme with *Chrysanthemum morifolium*

Ram., *Euphytica*, **29**, 525~523, (1980).

4) BROERTJES, C., P. KOENE, TH. PRONK :  
Radiation-induced Low-temperature Toler-  
ant Cultivars of *Chrysanthemum morifolium*  
Ram., *Euphytica*, **32**. 97~101. (1983).