

EMS 処理による大麦の人為突然変異に関する研究

第 1 報 葉緑素変異誘発効果について

小 西 猛 朗

Ethyl methanesulfonate (EMS) は、少なくとも大麦に関する限り、もっとも有効な突然変異誘発源の 1 つであるとして一般に認められている。それは単に他の物理・化学的突然変異誘発源より高い頻度で変異を誘発させるばかりでなく、処理当代における植物に染色体異常を生ずることが少なく、その大部分が遺伝子突然変異に帰しうることによる (3, 5, 7 など)。さらに、処理に当っては、特別の施設を必要とせず、処理方法も簡易で、しかも EMS は他の化学的突然変異誘発源より常温でのガス化による猛毒の危険性も幾分少ないなどの利点をもつからである。

EMS による大麦の突然変異誘発実験は、すでに欧米で多数の研究者によって行なわれている。そして、それが放射線と異なる変異 spectrum をもつことも明らかにされている (1, 3, 4, 7, 8, 12, 13, 16, 19 など)。しかし、この試薬が入手困難であったためか、日本では今までほとんど実験が行なわれなかった。ところが、Washington 州立大学 R. A. Nilan 教授の御好意によって、EMS が当研究所高橋隆平教授のもとに贈られて来た。著者はこの試薬を用い、まず、日本の大麦について EMS の突然変異誘発効果を確認するとともに、変異発生の状況を観察し、また、変異体の遺伝的研究を行なうことを目的として実験を開始した。本報では、葉緑素変異に関する結果の概略を報告する。

稿を草するに当り、終始懇篤な御指導を賜った当研究所高橋隆平教授、安田昭三助教授、ならびに実験遂行に多大の御協力を惜しまれなかった作物遺伝研究室の各位に、心から感謝の意を表する。

実験材料と方法

日本の主要品種の 1 つである渦性裸麦「赤神力」を材料とし、その気乾種子を縦目篩でふるい、粒厚 2.2~2.5 mm の部分の粒だけを取り、水分の均一化のために、塩素酸ナトリウム飽和水溶液を底に入れたデシケーターに 10 日間貯蔵した。処理直前の種子の水分は 12.8 % であり、1000 粒重は 27.78 g であった。

この実験に用いた EMS は Eastman 社製のものである。これを蒸留水で希釈し、tris-maleit-NaOH 緩衝液 (pH=7.0) を加えて、0.010, 0.025 および 0.050 M の 3 階級の濃度に調製した。なお、標準区として EMS を加えない処理液 (緩衝液は含む) も用意した。そして、これらの各処理液 200 cc に上記の大麦種子 600 粒ずつを浸漬し、第 1 表に示すように 20°C 24 時間または 2°C 72 時間で処理した。処理した種子は直ちに 20°C の蒸留水で 5 時間洗滌し、湿った濾紙上に並べ、20°C で催芽させた後、温室内の砂床に植えた。

EMS 処理による処理当代 (M_1 世代) の障害程度を知るために、第 2 葉が完全に展開した頃 (播種後 25 日)、第 1 葉長、草丈および葉令を測定した。そして、幼苗は 9×9 cm 2

第 1 表 EMS 処理の濃度, 温度および期間

処理 区分	濃 度 (M)	温 度 (°C)	期 間 (時間)	処理 区分	濃 度 (M)	温 度 (°C)	期 間 (時間)
A	0.010	20	24	D	0.010	2	72
B	0.025	"	"	E	0.025	"	"
C	0.050	"	"	F	0.050	"	"
S-1*	0.000	"	"	S-2*	0.000	"	"

* S-1 および S-2 は標準区.

条千鳥植で移植した。また, 収穫時には, 生存個体数, 稈長, 穂数を調査するとともに, 各個体別に分けつ系の標識を附けて採種し, 各穂の主列の稔性を調べた。

処理次代 (M_2 世代) の葉緑素変異を調査するために, 各処理区から任意抽出した 100 個体の全穂を冬期戸外の検定圃に穂播きし, ビニール被覆下で育てた。そして, 穂別系統ごとに葉緑素変異を調査した。

実 験 結 果

第 2 表 M_1 世代における生理的障害

A. 発芽および幼苗期

処理 区分	平均発芽 日 (日)	発芽率 (%)	第 1 葉長* (cm)	草 丈* (cm)	葉 令* (葉)	縞出現個体頻度 (%)		
						白 縞	黄 縞	計
A	2.57	94.8	6.16	9.97	2.11	1.58	3.35	4.93
B	2.71	90.0	5.20	7.24	2.49	8.18	9.43	17.61
C	3.79	56.9	2.83	3.05	1.05	—	—	—
D	1.72	98.2	6.01	10.76	2.12	0.00	0.18	0.18
E	1.86	98.7	5.97	10.77	2.12	0.76	1.32	2.08
F	2.35	95.9	5.43	7.94	2.05	1.13	4.98	6.11
S	1.87	98.2	6.35	12.48	2.16	0.00	0.00	0.00

B. 成熟期および生存率

処理 区分	稈 長 (cm)	穂 数 (本)	稔実穂率 (%)	主列稔性 (%)	生 存 率 (%)			
					移植前	移植後	出穂期	成熟期**
A	81.6	6.72	100.0	81.2	88.0	84.5	83.5	83.5
B	69.7	6.13	67.7	22.6	83.0	79.5	74.3	72.3
C	(44.5)§	(6.95)§	(0.0)§	(0.0)§	51.7	1.8	1.5	0.0
D	82.2	6.94	100.0	90.2	95.0	91.7	89.0	89.0
E	80.2	6.45	100.0	85.9	92.7	88.2	82.8	82.8
F	77.4	6.61	95.9	62.0	81.0	73.7	71.8	71.8
S	81.6	7.47	100.0	91.5	94.0	89.8	89.5	89.5

* 播種後 25 日目に調査. ** 稔実個体率. § () 内は調査個体数僅少.

1. 処理当代 (M₁ 世代) の生理的障害

EMS 処理の当代植物に及ぼす生理的障害を知るために、発芽率、植物体の生育程度、稔性、生存個体率などを調べた。この場合、標準区の各調査形質とも、20°C 24 時間処理と 2°C 72 時間処理との間には有意な差異が認められなかったので、両者の平均値をもって標準区として表示した。また、各処理区の 20°C 24 時間処理は高温短時間処理、2°C 72 時間処理は低温長時間処理として、以下述べることにする。

まず、第 2 表に示された平均発芽日数と発芽率をみると、全般に処理濃度が増すにつれて、平均発芽日数は増加し、発芽率は低下した。とくに、0.050M 高温短時間処理区〔C〕(括弧内の記号は処理区分を示す) の発芽の様相は異常であり、発芽開始も遅れ、発芽率は 60% にも達しなかった。また、低温長時間処理区〔D, E, F〕は高温短時間処理区〔A, B, C〕に比べて、比較的短時間のうちに大部分の種子が発芽した。これは処理時間を含めた吸水時間の差によるとも考えられるが、標準区の発芽速度については高温短時間処理と低温長時間処理との間に有意な差異が認められなかったことから、EMS 処理の発芽遅延に及ぼす影響は高温短時間処理の方が大きいものと解される。発芽率については、0.050M 高温短時間処理区〔C〕を除いて、処理区間に大差なかった。

次に、同じく第 2 表において、播種後 25 日目の第 1 葉長、草丈および葉令の調査結果をみると、全般に高い濃度で処理したもののほど幼苗の生育は劣った。とくに、前述の発芽異常を呈した 0.050M 高温短時間処理区〔C〕では、幼芽、幼根の伸長悪く、芽鞘は肥大短縮し、根端は瘤状となった。さらに、第 1 葉の伸長も著しく悪く、第 2 葉の先端が僅かに見え始めた頃、多くの個体はほぼ生育を停止し、葉は濃緑色に変わり、次第に蠟白色を帯びて固化し、枯死するに至った。一方、他の処理区でも標準区に比べて草丈は低く、0.025M 高温短時間処理区〔B〕および 0.050M 低温長時間処理区〔F〕の第 1 葉長は明らかに短かった。また、葉令は各処理区とも標準区に対して、やや遅れる傾向にあった。ただ、0.025M 高温短時間処理区〔B〕では逆に葉令は進んでいたが、これは当該処理区の葉の伸長が早いというよりも、第 2 葉長も他の処理区に比べて、やや短かったためとみられる。

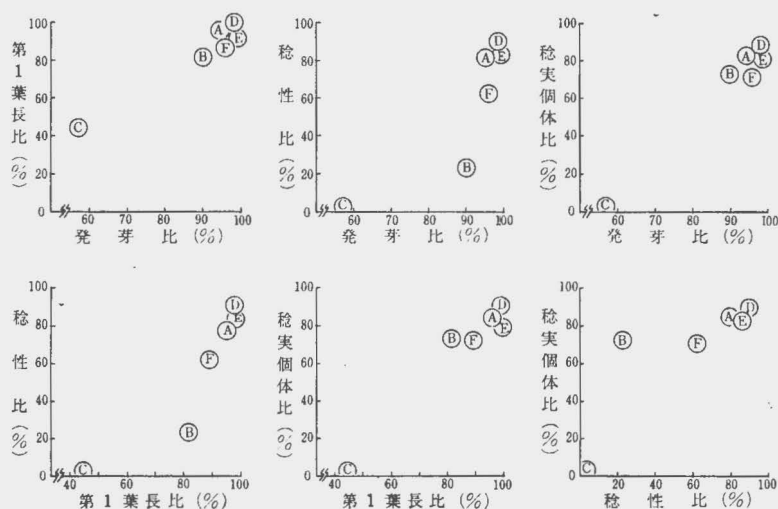
EMS 処理の場合、処理当代において、おもに第 3～5 葉、ときとして茎、穂にまで黄色または白色の縞状の葉緑素変異を示す個体が相当見出された。これらの個体頻度は処理濃度が増すにつれて高まった。なお、どの処理区においても、黄縞の方が白縞より多く見出された。しかし、これら両種の縞が同時に存在する個体はなかった。

処理当代の生理的障害は成熟期においても認められた。すなわち、第 2 表 B 欄に示すように、処理濃度が高まるにつれて稈長は短く、穂数は減少し、稔実率および主列稔性は低下した。とくに、処理の強い 0.050M 高温短時間処理区〔C〕では成熟期の個体数は非常に少なくなり、それらの個体は矮化し、出穂は遅れ、穂数だけは標準区について多かったが、すべて不稔となった。また、0.025M 高温短時間処理区〔B〕および 0.050M 低温長時間処理区〔F〕でも可なり障害がみられ、前者〔B〕の稔性低下は著しかった。一方、表には示さなかったが、これら処理の強い区では芒および穎が粗剛となる傾向が認められ、とくに 0.050M 高温短時間処理区〔C〕では顕著であった。

次に、成熟期に至るまで生存した個体の割合は、やはり高濃度の処理区ほど低下が著しかった。0.050M 高温短時間区〔C〕では苗床ですでに半数近くの個体が枯死し、僅かの

個体は移植後活着したが、出穂した穂は完全に不稔となった。結局、この処理区では次代の種子をまったく得ることができず、稔実個体率で示した成熟期の生存個体率は0となった。また、幼苗時の生理的障害の比較的大きかった0.025M 高温短時間処理〔B〕と0.050M 低温長時間処理〔F〕の両区では、移植前の生存個体率は僅かに標準区〔S〕より低い程度であったが、次第に他の処理区との差が大きくなり、成熟期には約72%となった。

以上述べて来た各時期の生理的障害の間に、何んらかの関連性があれば、早期に処理方法の適否を判定することができるかも知れない。そこで、発芽率、第1葉長、稔性および稔実個体率について、標準区の値に対する各処理区の比率を求め、相対的な障害程度として表わした。第1図は各形質間の障害程度の関係を示したものであり、いずれの形質間にも



第1図 EMS 処理による M_1 世代の各種生理的障害の関係

各形質の障害程度は標準区の値に対する処理区の比率で示した。

○内の記号は第1表に示した処理区分である (以下同様)。

も高い相関関係が認められた。すなわち、発芽率の低下する処理区では第1葉長も短くなり、稔性も低下し、稔実個体率は減少した。とくに、発芽比70~80%の処理区では稔性が著しく低下し、60%の発芽比では稔実個体は0となった。また、同じような関係が第1葉長でもみられた。第1葉長比が70~80%では稔性低下が著しく、50~60%の処理区ではおそらく稔実個体率はなくなるであろう。従って、処理方法の早期判定基準として、少なくとも本実験の結果からは、発芽比、第1葉長比のいずれも70%以上を確保することが必要であり、それ以下では次代種子を生産することができず、処理方法としては強過ぎるといえよう。

2. 処理次代 (M_2 世代) の葉緑素変異

検定圃に穂播きした種子の発芽は良好であった。葉緑素変異については穂別系統ごとに変異個体とその変異型を調べ、 M_1 個体、 M_1 穂および M_2 個体単位の突然変異率を第3表に示した。ただし、ここでいう変異率とは便宜上、調査系統数または個体数に対する変

第3表 M_2 世代における葉緑素
変異率* (%)

処理 区分	M_1 個体	M_1 穂	M_2 個体
A	72.0	12.7	1.71
B	95.3	37.6	12.08
D	12.0	2.0	0.29
E	38.0	6.1	0.99
F	122.0	26.1	6.54
S	0.0	0.0	0.00

* 変異率は便宜上、調査個体数または穂数に対する葉緑素変異型の割合で示した。

個体数よりも変異型数が多いことであり、平均して M_1 世代の1個体内に少なくとも違った2種類以上の葉緑素変異が生じたことを示している。また、 M_1 個体単位と M_1 穂単位の変異率について、B区とF区とで変異率の大小の順位が逆転した。これは高 dose 処理によって M_1 個体内の不稔穂率が増大したことが関係し、変異を表型的に摺む確率が低下したものと考えられる。従って、葉緑素の変異率からみた処理方法としては、本実験の範囲内では、0.025M 20°C 24時間処理 [B] がもっとも期待できるといえよう。

また、葉緑素変異を *albina*, *xantha*, *viridis*, 混合型, *striata* およびその他の6種の変異型に類別し、処理区別に全変異型数に対する各種の変異型の割合を M_1 穂単位で求め、第4表に示した。ここに、「混合型」とは1葉中の先端部と基部とで表型の異なるもので、

第4表 M_2 世代における M_1 穂別葉緑素変異型割合

処理 区分	変異 型数	変 異 型 割 合 (%)					
		<i>albina</i>	<i>xantha</i>	<i>viridis</i>	混合型*	<i>striata</i>	その他
A	85	37.6	16.5	35.2	7.2	3.5	0.0
B	118	42.4	13.6	27.1	3.4	8.5	5.0
D	14	64.3	21.4	0.0	7.2	7.1	0.0
E	39	28.2	7.6	43.5	5.3	12.8	2.6
F	160	36.3	9.4	31.3	5.5	12.5	5.0

* *albina*, *xantha*, *viridis* の混合型で, *alboxantha*, *viridoxantha* の如きもの。

alboxantha, *viridoxantha* の如きものをさす。また、「その他」の変異型には *tigrina* と *maculata* が含まれた。一般に、1葉すべてが単色表型を示す *albina*, *xantha* および *viridis* の方が、複色表型のものより多い。また、単色表型では *albina* と *viridis* の割合が多く、*xantha* の変異は少なかった（ただし、0.010M 低温長時間処理区 [D] の変異型数は少なく、変異型割合は参考までに止めた）。0.025M および 0.050M の低温長時間処理区 [E および F] での *striata* 割合は *albina*, *viridis* に次いで高かった。しかし、全体として、これらの処理区間では大きな変異型割合の差異は認められなかった ($\chi^2=27.864$,

$P=0.50\sim0.20$).

次に、 M_1 個体または M_1 穂内での葉緑素変異の様相を知るために、 M_1 穂別の次代 M_2 系統について変異系統数と変異型数とを調べた。こうした M_1 世代単位での変異率は、調査系統数に対する変異系統数の割合と 1 系統あたりの平均変異型数とに分割して考えることができる。すなわち、

$$\text{変異率} = \text{変異系統割合} \times \text{平均変異型数} \cdots \cdots (1)$$

である。ここに、

$$\text{変異系統割合 } (p) = l/N \cdots \cdots (2)$$

$$\text{平均変異型数 } (\bar{m}) = m/l \cdots \cdots (3)$$

ただし、

l : M_2 世代における M_1 個体 (または穂) 単位の変異系統数、

m : M_2 世代における M_1 個体 (または穂) 単位の変異型数、

N : M_2 世代における M_1 個体 (または穂) 単位の調査系統数、

従って、(1) 式から

$$\text{変異率 } (r) = m/N = l/N \times m/l \cdots \cdots (4)$$

いま、 M_1 1 個体 (または穂) 内で 1 つの変異が他の変異とは全く無関係に生じし、個々の変異はそれぞれ異った変異型を M_2 世代で示すものと仮定すれば、次の等式が成り立つ。すなわち、

$$\begin{aligned} \text{変異系統割合 } (p) &= x + x^2 + \cdots \cdots + x^n \\ &= \sum_{i=1}^n x^i \cdots \cdots (5) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{変異率 } (r) &= x + 2x^2 + \cdots \cdots + nx^n \\ &= \sum_{i=1}^n i x^i \cdots \cdots (6) \end{aligned}$$

ただし、

x^i : i 個の異なった変異型を示す系統割合、

また、

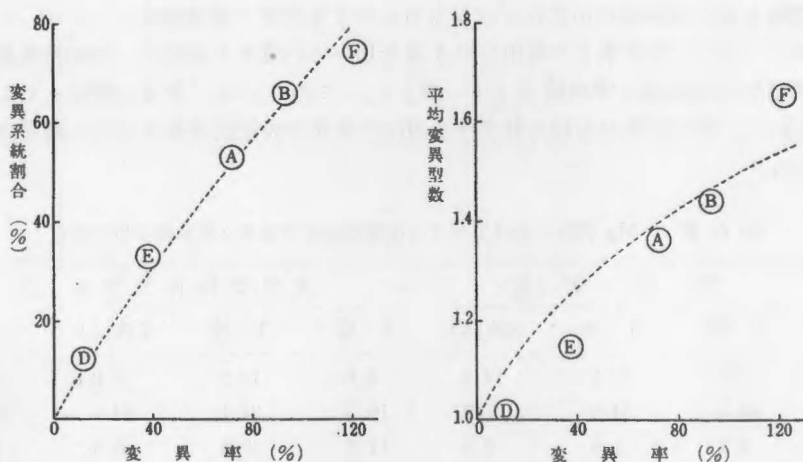
$$\text{平均変異型数 } (\bar{m}) = \text{変異率 } (r) / \text{変異系統割合 } (p) \cdots \cdots (7)$$

であるから、(5) と (6) 式から

$$\text{平均変異型数 } (\bar{m}) = \frac{\sum_{i=1}^n i x^i}{\sum_{i=1}^n x^i} \cdots \cdots (8)$$

となる。

いま、第 3 表に示した M_1 個体または M_1 穂単位の変異率から、各処理区別に x ($i=1$) を (6) 式で求め (後述するように、 M_1 個体単位では $i \leq 3$, M_1 穂単位では $i \leq 2$ とした)、その x 値を (5) 式に代入して期待変異系統割合を推定した。また、(8) 式にも代入し、平均変異型数の期待値を求め、それぞれの実測値と比較した。第 2 図に M_1 個体単



第 2 図 M_2 世代における変異率と変異系統割合および平均変異型数との関係 (M_1 個体単位) (点線は理論曲線を示す)

位の M_2 世代における変異率と変異系統割合および平均変異型数との関係を示したが、期待値と実測値とはよく一致した。同様の結果が M_1 穂単位の場合でも得られた。ここに、変異系統割合は変異率の増加に伴って高まり、平均変異型数も多くなることを示している。従って、変異率を高めることは単に M_2 世代における変異系統数を増すだけでなく、変異系統内に数多くの変異型を含むことになる。

さらに、各処理区別に M_2 変異系統を系統内に含まれる変異型の数によって分級し、全変異系統数に対する割合—変異型数割合—を求め、第 5 表に M_1 個体および M_1 穂単位別に示した。表の上欄の数字は変異型数であり、 M_1 個体単位では最高 3 つの変異型が、 M_1 穂単位では 2 つまでの変異型がみられた。そして、変異率が高まるにつれて変異系統内の変異型数が増すと同時に、最高変異型数を含む系統数も増加した。ここに (6) 式から、処理区別に各変異型数に対する期待系統数 ($N \cdot i x^i$) を求め、実測値と比較してみるとよく一致した。ただ、表中の * または ** を附した処理区、すなわち、 M_1 個体単位では 0.025M 高温短時間処理区 [B]、 M_1 穂単位では 0.050M 低温長時間処理区 [F] では最

第 5 表 M_2 世代における葉緑素変異の平均変異型数と変異型数割合

処理 区分	M_1 個 体 内				M_1 穂 内		
	平 均 変異型数	変 異 型 数 割 合 (%)			平 均 変異型数	変 異 型 数 割 合 (%)	
		1	2	3		1	2
A	1.36	69.8	24.5	5.7	1.05	95.1	4.9
B	1.44	57.9	40.4	1.7*	1.19	80.8	19.2
C	1.00	100.0	0.0	0.0	1.00	100.0	0.0
E	1.15	84.8	15.2	0.0	1.03	97.4	2.6
F	1.65	52.7	29.8	17.5	1.07	93.3	6.7**

* $P=0.05-0.02$ ** $P=0.01-0.001$

高変異型数を含む系統割合がそれぞれ5%および1%水準で期待頻度より低かった。しかし、全体としては、変異率より算出した x 値を用いての変異系統割合、平均変異数および変異型数割合の期待値は実測値とよく一致した。このことは、先きに提示した2つの仮定、すなわち、突然変異の生起の独立性と遺伝的変異の表型的差異は可なり満足されたものと考ええる。

第 6 表 M_2 世代における分げつ次別葉緑素変異率と変異個体析出割合

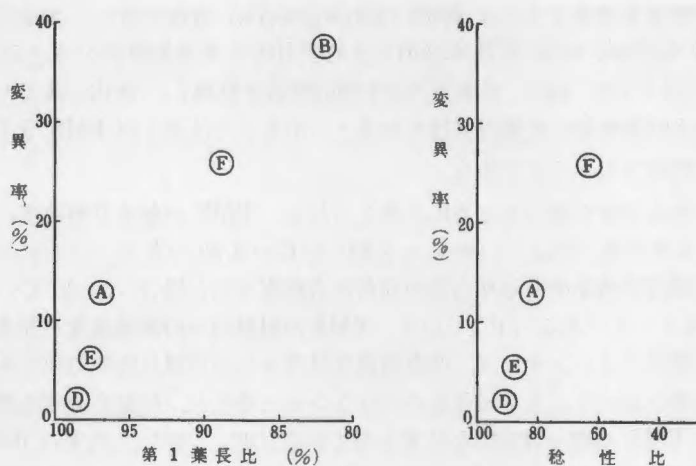
処理 区分	変 異 率 (%)			変 異 個 体 析 出 割 合 (%)			
	主 稈	1 次	2 次以上	主 稈	1 次	2 次以上	計
A	6.5	13.3	14.4	4.6	13.3	18.0	13.85
B	48.1	34.3	37.0	16.3	24.1	20.5	20.96
D	2.1	1.8	2.5	11.9	9.5	8.0	9.61
E	4.2	7.8	3.3	8.3	13.2	19.7	13.46
F	16.3	29.7	23.0	9.1	18.7	20.1	17.63

次に、 M_1 穂別系統の変異率は、第6表に示すように、 M_1 世代の分げつ系によってかなり異なった。すなわち、全般に主稈の穂よりも分げつ穂で高い変異率を示したが、分げつ内での分げつ次間または分げつ節位間の変異率の差異は明瞭でなかった。その1つの例外は最も処理の強い0.025M 高温短時間処理区〔B〕であって、これでは分げつ穂よりも主稈穂の変異率が高かった。一方、変異系統について、調査個体数に対する変異型別変異個体の析出割合を求めてみると、多くの系統で25.0%以下であった。もしも、 M_1 世代において1穂全体に1つの劣性変異が起きていたとすれば、当然、次代系統内の変異個体の析出割合は25.0%になるはずである。従って、 M_1 世代における1穂内の変異が部分キメラ状を呈していたことを示している。また、分げつ系別にみると、変異個体の析出割合は主稈穂よりも分げつ穂で、分げつ穂内では高次分げつの穂で高くなる傾向がみられた。このことは高次分げつほど1穂内の変異部分が大きくなることを示している。また、処理区間では M_1 穂単位の変異率が高まるにつれて、1穂系統内の変異個体析出割合も高まった。

以上の結果から、高い変異率を得る処理方法は M_2 世代で変異系統数を多くするばかりでなく、変異系統内の変異個体数を増し、変異体を選抜する確率を高めると同時に、違った変異型を掘むことができるので一層有利であろう。

3. 生理的障害と葉緑素変異との関係

一般に、人為突然変異の誘発において、処理当代の生理的障害をできるだけ軽減し、次代に多くの変異を得ることが望ましい。しかし、第3図に示すように、生理的障害と変異率との間には高い相関関係がある。このことは逆に、変異誘発のための処理方法の適否を処理当代の生理的障害の程度から早期に判定予測することが可能となろう。例えば、本実験の結果の範囲内では、第1葉長の標準区に対する比率—第1葉長比—から、少なくとも90%以下のような処理方法であれば、 M_1 穂単位の葉緑素変異率は20%以上が期待されよう。しかし、60%以下の第1葉長比を示す処理では次代種子を確保することが困難なの



第 3 図 生理的障害と変異率 (M₁ 穂単位) との関係

で (第 1 図参照), 大体, 第 1 葉長比で 60~90 % の処理が適当であろう. また, 稈性比については, 70 % 以下になるような処理を行なえば, 変異率は 20 % 以上が期待され, 処理方法としては望ましいようである.

最後に, 生理的障害程度に対する変異率の割合—変異誘発効率—を種々の方法で求めて, 第 7 表に示した. 本実験の範囲内では, いずれの場合も, 高温短時間処理と低温長時間処理との間には大差なかった. しかし, 処理濃度間では多くの場合, 一定の傾向がみられ, 高濃度 (高温短時間処理の場合は 0.025 M [B], 低温長時間処理の場合は 0.050 M [F] まで) になるにつれて変異誘発効率は高まった. このことから, 変異率および変異誘発効率の両面からみて, 高濃度処理の方が望ましいようである.

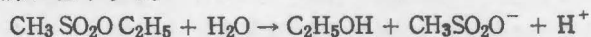
第 7 表 生理的障害程度に対する変異率の割合—変異誘発効率

処理 区分	M ₁ 穂 変 異 率				M ₂ 個 体 変 異 率			
	発芽比	第 1 葉長比	稈性比	着粒個体比	発芽比	第 1 葉長比	稈性比	着粒個体比
A	2.33	4.03	0.64	0.104	0.329	0.57	0.091	0.104
B	3.15	1.74	0.41	0.436	1.208	0.67	0.156	0.436
D	1.11	1.25	0.20	0.026	0.016	0.18	0.030	0.026
E	4.54	2.57	0.42	0.058	0.076	0.43	0.070	0.058
F	5.98	2.21	0.65	0.232	1.595	0.59	0.172	0.232

考 察

1. 処理条件と生物学的効果

EMS は水で希釈した場合, 次のような加水分解が第 1 段階として起り, 処理溶液中の pH は次第に低下する.



ここに、突然変異を誘発するのは EMS ($\text{CH}_3\text{SO}_2\text{OC}_2\text{H}_5$) 自体であり、加水分解産物の 1 つ、methane sulfonic acid ($\text{CH}_3\text{SO}_2\text{OH}$) は処理当代で生理的障害を与えるが、変異誘発には関係しない (7, 15). 処理当代の生理的障害を軽減し、次代に多くの変異を得るためには、加水分解産物の組織内滲透をおさえ、出来るだけ多くの EMS 分子を大麦種子の胚組織内に吸収させることである.

そのために、加水分解を遅らせる方法が考えられる. EMS の加水分解速度は温度によって影響され、温度係数 (Q_{10}) は 20°C で 3.83, 5°C で 4.53 である. これに対して、加水分解産物の組織内滲透速度を処理当代の幼苗障害程度でみた場合、 $0\sim 40^\circ\text{C}$ の範囲内では $Q_{10}=2.7$ とほぼ一定である (6). いま、EMS の組織内への滲透速度が加水分解よりも温度による影響が小さいとすれば、低温高濃度処理または低温長時間処理で生理的障害を軽減し、変異率を高めることができるのではないかと考えた. 低温高濃度処理については、エンドウの EMS 処理で肯定的な結果を得ている (22). また、大麦の diethyl sulfate 処理では低温長時間処理の有利性が認められている (19). しかし、本実験の結果からは、EMS の大麦に対する低温長時間処理の利点は見出せなかった. こうした相違が加水分解速度の異なる変異誘発源の差異によるものか、あるいは供試材料の違いによるものかは明らかでない. EMS の加水分解速度は他のアルキル化物質に比べて遅く、半減期は 20°C で 93.2 時間、 5°C で 796.6 時間である (6). 従って、本実験のような 2°C 72 時間処理期間中に、EMS の突然変異誘発効果が激減したとも考えられない. 一方、小麦の実験では、 20°C 処理よりも 25°C で methane sulfonic acid に対する EMS の種子内吸収比が幾分高い結果も得ている (2). このように、温度によって EMS と加水分解産物との組織内への滲透速度が異なるものとすれば、当然、EMS の DNA 塩基—guanine—のアルキル化速度の温度係数と加水分解産物の滲透速度のそれとは異なるものと考えられる. しかしながら、変異機構に関する温度の影響は極めて複雑であり、いまのところよく判らない.

その他、EMS をできるだけ早期に多量組織内へ滲透させるための試みもある. 例えば、EMS の処理前に予め水に浸種し、種子に吸水させて置く方法、減圧条件での浸種処理法などが考えられている. 前者の種子予措によって、ある程度の効果を挙げており (17, 18), 減圧法での diethyl sulfate 処理では効果が認められない (15, 19). こうした突然変異誘発源と加水分解産物の組織内滲透速度と量 (dose) との関係は、処理当代の生理的障害と次代の変異誘発効果との問題に関連しており、今後、さらに、究明されるべきである.

2. EMS 処理と放射線照射との突然変異部位の差異

放射線照射による変異部位の組織発生学的研究は大麦でも可なり進められており、 M_1 個体の分げつ別葉緑素変異については、次のような結果を得ている (9, 10, 11, 21). すなわち、 M_1 個体の分げつ節位が上るにつれて M_1 穂別変異率は減少し、1 穂内の変異部分は増大する. また、線量増加に伴って上位下位分げつ間における上述の差異は消失するか、または減少する. こうした結果は水稻でもみられ、主穂や他節位の 1 次分げつの変異率は高く、2 次分げつや高節位の 1 次分げつでは低い (20). しかし、本実験の EMS 処理は多くの場合、放射線照射の結果とは異なり、分げつ別の変異率は主穂より分げつ穂で高

かった。同じようなことが、水稻種子の ^{32}P 吸収の高 dose 処理でもみられた (14, 23). これは放射線の外部照射とは異なり、組織内部への突然変異誘発源の透過量とその効果の持続性、 M_1 穂原基の分化程度の違いによる感受性の差異、処理後の細胞間競争などが関係しているものと考ええる。

摘

要

1) 日本産の大麦に対する EMS の突然変異誘発効果を知るために、裸麦渦性品種「赤神力」の気乾種子を 0.010, 0.025 および 0.050M の 3 種の濃度の EMS 液で、 20°C 24 時間または 2°C 72 時間処理した、

2) 処理当代の生理的障害は処理の強さに比例して増大した。障害は発芽遅延、発芽率低下、生育抑制、稔性および生存率低下などの形でみられた。

3) 処理次代の葉緑素変異率については、 M_1 個体単位で 122.0%, M_1 穂単位で 37.6%, および M_2 個体単位で 12.08% であった。また、変異型では *albina*, *viridis* が多く、 2°C 72 時間処理区では *striata* がこれに次いで多かった。

4) M_1 個体または M_1 穂単位の変異率より推定した M_2 世代における変異系統割合、平均変異型数および変異型数割合の推定値は実測値とよく一致した。このことから、変異は主として独立的に生起したものと推測される。

5) 分げつ別の変異率については、主稈穂よりも分げつ穂で高く、1 穂内の変異部分は分げつ穂で大きかった。

6) 生理的障害程度と変異率との間には高い相関関係がみられた。このことから、処理当代における処理方法の適否の判定が可能であろう。

7) 変異誘発効率 (変異率/障害程度) に関して、本実験の範囲内では 20°C 24 時間処理と 2°C 72 時間処理との間には大差なかった。しかし、高濃度になるにつれて変異誘発効率は高まった。

文

献

1. Arnason, T. J., Mohammed, L., Koehler, D. and Renneberg, F. M. 1962. Mutation frequencies in barley after treatment with γ -radiation, ethylene imine, ethyl methanesulfonate and maleic hydrazid. *Can. J. Genet. Cytol.* 4: 172—178.
2. Belli, M. L. and Cervigni, T. 1964. Treatment of seeds with ethyl methanesulphonate and diethyl sulphate. *Nature* 240: 1199—1200.
3. Ehrenberg, L. Gustafsson, Å. and Lundqvist, U. 1961. Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas* 47: 243—282.
4. Favret, E. A. 1960. Somatic mutations of four genes for albinism in barley induced by X-rays and ethyl methanesulphonate. *Hereditas* 46: 622—634.
5. Favret, E. A. 1964. Genetic effects of single and combined treatment of ionizing radiations and ethyl methanesulphonate on barley seeds. *Barley Genetics I*: 68—81.
6. Froese-Gertzen, E. E., Konzak, C. F., Foster, R. and Nilan, R. A. 1963. Correlation between some chemical and biological reactions of ethyl methanesulphonate.

Nature 198 : 447—448.

7. Froese-Gertzen, E. E., Konzak, C. F., Nilan, R. A. and Heiner, R. E. 1964. Effect of ethyl methanesulfonate on the growth response, chromosome structure and mutation rate in barley. *Rad. Bot.* 4 : 61—69.
8. Froese-Gertzen, E. E., Nilan, R. A., Konzak, C. F. and Legault, R. R. 1963. Effects of n-butyl methanesulfonate and related mutagens on barley. *Nature* 200 : 714—715.
9. Frydenberg, O., Doll, H. and Sandfaer, J. 1964. The mutation frequency in different spike categories in barley. *Rad. Bot.* 4 : 13—25.
10. Gaul, H. 1959. Über die Chimärenbildung in Gerstenpflanzen nach Röntgenbestrahlung von Samen. *Flora* 147 : 207—241.
11. Gaul, H. 1961. Studies on diplontic selection after X-irradiation of barley seeds. *Effects of Ionizing Radiations on Seeds* : 117—138.
12. Gaul, H. 1962. Ungewöhnlich hohe Mutationsraten bei Gerste nach Anwendung von Äthylmethanesulfonat und Röntgenstrahlen. *Naturwiss.* 49 : 431.
13. Gustafsson, Å. 1963. Productive mutations induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas* 50 : 211—263.
14. Kawai, T. 1963. Mutations in rice induced by radiation and their significance in rice breeding. I. Mutations by radiophosphorous. *Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. D-10* : 1—75.
15. Konzak, C. F., Nilan, R. A., Froese-Gertzen, E. E. and Foster, R. J. 1965. Factors affecting the biological action of mutagens. *Induction of Mutations and the Mutation Process* : 1—9.
16. Konzak, C. F., Nilan, R. A., Harle, J. R. and Heiner, R. E. 1961. Control of factors affecting the response of plants to mutagens. *Fundamental Aspects of Radio-sensitivity* : 128—157.
17. Konzak, C. F., Nilan, R. A., Froese-Gertzen, E. E. and Foster, R. J. 1965. Efficient chemical mutagenesis. *The Use of Induced Mutations in Plant Breeding* : 49—70.
18. Natarajan, A. T. and Shivasankar, G. 1965. Studies on modification of mutation response of barley seeds to ethyl methanesulfonate. *Z. Vereblehre.* 96 : 13—21.
19. Nilan, R. A., Konzak, C. F., Heiner, R. E. and Froese-Gertzen, E. E. 1964. Chemical mutagenesis in barley. *Barley Genetics I* : 35—54.
20. Osone, K. 1963. Studies on the developmental mechanism of the mutations induced in irradiated rice seeds. *Jap. J. Breed.* 13 : 1—13.
21. Sarvella, P., Nilan, R. A. and Konzak, C. F. 1962. Relation of embryo structure, node position, tillering and depth of planting to the effects of X-rays in barley. *Rad. Bot.* 2 : 89—108.
22. Speckmann, G. J. 1964. The mutagenic effect of treatment with EMS at different temperatures in *Pisum sativum*. *Euphytica* 13 : 337—344.
23. 鳥山国土・蓬原雄三 1959. 水稻における人為突然変異育種に関する研究. 第1報 放射性P-32処理個体の分蘖と突然変異との関係について. *育種雑* 8 : 209—214.