

クロマツおよびアカマツの吸水種子に対する X-線の影響

稲森 幸雄・橋本 英二・渡辺 政俊

Yukio INAMORI, Eiji HASHIMOTO, and Masatoshi WATANABE

The Influence of X-rays upon Presoaked Seeds of *Pinus Thunbergii* and *Pinus densiflora*.

目 次

I ま え が き.....97	IV 摘 要.....103
II 材料および方法.....98	参 考 文 献.....104
III 実験結果および考察.....98	Summary104

ま え が き

放射線による人為突然変異の基礎研究とその実際の育種への利用による可能性はすでに多くの研究者によって、研究、論議されて来た。

林木における突然変異体の利用については、いままでにほとんど実用的価値は見出されていない。外山（1938）はアカマツ・クロマツ・スギ・ヒノキ各種とも約6000～7000粒の乾燥種子に対し X-線を処理した結果、幼令樹まで育て得た突然変異体はわずかに2本に過ぎなかった。しかも現在のところいずれも実用的価値は見出していない。佐藤、仁科（1951）らはアカマツの種子に中性子（速中性子）を照射し、種子の発芽力、生存率および幼苗の生長について調査している。また上田、吉川、飯塚（1957）らはアカマツおよびクロマツの休眠種子に X-線、 Co^{60} による γ -線および中性子（主として速中性子）の照射を行い、種子の発芽率と発芽後の枯死率を調査している。さらに大庭、Simak（1961）らはことなつた産地から得た *Scots* マツの種子に対する X-線の影響について発芽時、枯死率および幼苗の発達を調査している。外国においては Miiller-Olsen および Simak（1954）、Miiller-Olsen（1956）らは *Scotch* マツと *Norway* トウヒ種子を用い、Simak および Gustafson（1953）らは *Scotch* マツ種子で、Heimbürger（1960）は *white* マツ種子を用いて、いずれも X-線を照射し、種子の発芽および LD-50 について調査している。May および Posey（1958）らは *slash* マツ種子に γ -線を照射し、発芽力を調査している。Gustafson および Simak（1958）らは *Scotch* マツ種子に X-線と γ -線を照射して LD-50 について研究している。Snyder, Grigsby および Hidalgo（1961）らは南部マツ類を用いて、色々な水分を与えた種子に X-線を処理し、発芽および一年後の生重量を調査している。しかしながらクロマツおよびアカマツ種子の吸水した種子に対する X-線の影響についてはほとんど明らかにされていない。

本実験は林木育種を進めていくうえの一つの育種法として、突然変異の利用によって、生来の有効なる育種の資料を得るために、クロマツおよびアカマツの吸水種子に X-線を照射し、幼苗の生存率、LD-50 および初期生育調査を行った。

材料および方法

クロマツ種子は1961年秋、樹令13年生の3本の木（個体別）から採種した。室内に貯蔵後、1962年1月16日～1月19日まで72時間、水に浸漬し、その後沈んだものを供試した。1月19日、直径11.5cmのシャーレに汙紙を敷き、その上に播種し、適当に水分を与えた。吸水後22日目（2月6日）にX-線照射（電圧200kV、電流19mA、距離55cm、1.0mmアルミニウムフィルター）を行った。線量は採種した個体によりことなるが、100, 200, 300, 400, 600, および1200rまで照射した。照射後直径15cmの鉢に移植した。その後の発芽状態、幼苗の生存率および苗高を調査した。生存率は発芽種子に対して220日目の生存数で求めた。LD-50は播種後220日目の生存率で求めた。

アカマツ種子は1961年秋、樹令約60年生の5本の木（個体別）から採種した。室内に貯蔵後、供試種子は風選したものを用いた。1962年12月13日に直径11.5cmのシャーレーに汙紙を敷き、その上に播種し、適当に水分を与えた。吸水後12日目（2月24日）にクロマツと同様の方法で照射した。線量は採種した個体によりことなるが、300, 400, 600, 800, 900, 1200, 1600, および2000rまで照射した。照射時の芽の伸長は不規則であったが、早いものは約5mmであった。照射後クロマツと同様に播種、調査を行った。生存率は発芽種子に対し190日目の生存数で求めた。LD-50は播種後190日目の生存率で求めた。

実験結果および考察

林木の吸水種子に対する放射線の影響についての研究報告は少ない。一般に Ehremberg (1955) および Konzack (1955) その他多くの研究者が指摘しているように植物の水分含量が放射線感受性に影響することは認められている。佐藤、仁科 (1951) らによると、マツ種子の中性子（速中性子）照射における感受性は1～3日間、水に浸漬した吸水種子は乾燥種子よりも高かったと報告している。また、Snnyder (1960) らは *longleaf* マツ, *slash* マツおよび *shortleaf* マツ種子を用い、色々な方法で水分を与えてX-線処理をしたなかで、3週間、湿層処理をし、800rを照射した種子の発芽率は高い有意差をしめした。またこれらの三つの種子に対してLD-50は平均1600rであった。

本実験におけるクロマツ吸水種子の生存率は第1表、第1図に示すとおり、採種した個体によってことなるが、一般に線量の増加に伴って低くなる傾向がみられ、800rで25%、1200rで11%をしめた。しかしT. IIIの個体のなかで100rを照射したものの生存率は55%をしめし、他の100rを照射した個体の生存率（83～95%）よりもとくに低いようにみられた。これは採種した個体によるものか、種子の吸水差によるものかわからない（Fig. 7参照）。

LD-50は個体によってかなりことなるが、300rと800rとの範囲にあると思われる。また、このLD-50の低いのは吸水期間と芽の伸長に伴って影響されたものと思われる。

苗高については第2表、第2図に示すとおり個体によってことなり様でない。これも種子の吸

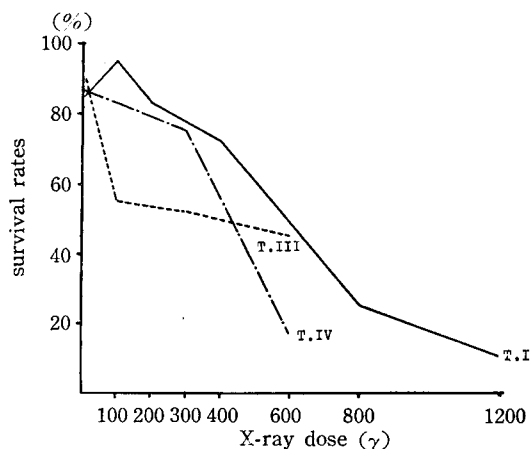


Fig. 1. Survival rates of young seedlings on the 220th day after sowing in X-irradiated presoaked seeds of *Pinus Thunbergii*.

Table 1. Germination and survival rates in X-rays irradiated
pres soaked seeds of *Pinus Thunbergii*

Individual	X-ray dose	No. of sowing	Germination of X-rays irradiated time		Survival on the 220th day after sowing	
			No. of germination	Germination percentage	No. of survival	survival rates
	γ			%		%
T. I	cont.	150	149	99	128	85
	100	150	150	100	143	95
	200	150	150	100	124	83
	400	150	150	100	108	72
	800	150	150	100	37	25
	1200	150	147	98	17	11
T. III	cont.	130	129	99	117	90
	100	150	143	95	83	55
	300	150	142	95	78	52
	600	150	149	99	68	45
T. IV	cont.	50	44	88	43	86
	100	150	139	93	125	83
	300	150	97	65	113	75
	600	150	123	82	26	17

Table 2. Height of young seedlings and abnormal character on the 220th day
after sowing in X-irradiated pres soaked seeds of *Pinus Thunbergii*.

Individual	X-ray dose	Height of young seedlings	Index number against 100 of control	Abnormal character			
				Branching of main stem		Others abnormal character	
				Number	Percentage*	Number	Percentage*
	γ	cm			%		%
T. I	cont.	5.7 ± 1.3	100	0	—	0	—
	100	2.9 ± 1.0	51	0	—	0	—
	200	3.8 ± 0.9	67	3	2	0	—
	400	4.3 ± 1.1	75	6	6	0	—
	800	4.1 ± 1.4	72	8	22	0	—
	1200	2.8 ± 1.4	49	10	59	0	—
T. III	cont.	5.0 ± 0.8	100	0	—	0	—
	100	4.3 ± 1.3	86	0	—	1	1
	300	4.1 ± 1.5	82	30	38	2	3
	600	3.6 ± 1.2	72	10	15	1	1
T. IV	cont.	4.7 ± 1.0	100	0	—	0	—
	100	6.3 ± 1.8	136	2	2	1	1
	300	4.8 ± 2.0	102	15	13	0	—
	600	3.2 ± 1.0	68	7	27	1	4

* Percentage against the number of survival seedlings

水差，個体の遺伝的なものおよび生存数に対する生育密度などがことなり，伸長に影響されたものと思われる。例えば T. I の個体で 100r を照射したものは 2.9 ± 1.0 cm をしめし，T. IV の個体の

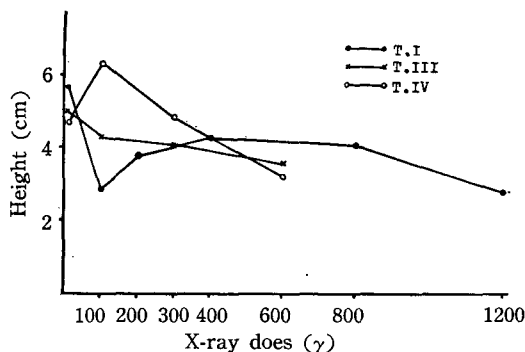


Fig. 2. Height of young seedlings on the 220th day after sowing in X-irradiated presoaked seeds of *Pinus Thunbergii*.

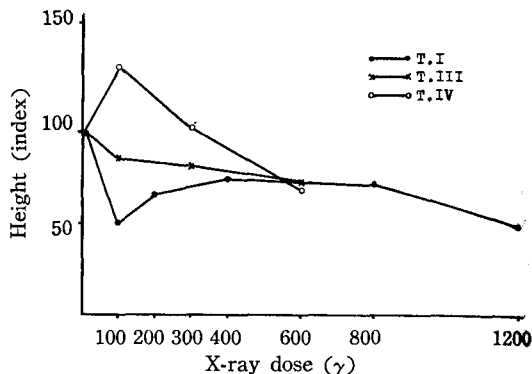


Fig. 3. Relation between X-rays dosages and height of young seedlings in *Pinus Thunbergii* on the 220th day after sowing

100r は 6.3 ± 1.8 cm をしめし、前者は後者よりも低く、また無処理よりも低く、後者は無処理よりも高い傾向がみられた。無処理を 100 とした苗高の指数をみると T. IV の個体の 100r および 300r は無処理よりも高い傾向がみられた (Table 2, Fig. 3 参照)。これについてはアカマツ吸水種子に対する X-線照射の場合にも同様の傾向をしめす個体がみられた。また佐藤、仁科 (1951) らのアカマツ中性子照射においても低い線量が無処理よりも苗の生長が良好である。さらに Snyder (1961) らの報告によると *shortleaf* マツ種子に対し、3 週間、湿層処理し、300r および 400r を照射したものは、低い線量および無処理よりも種子の発芽と一年後の生重量は良好であった。この現象については吸水種子が発芽と幼苗の生長に対して 300r および 400r 照射が適正な刺激効果があるかもしれない。つぎに形質の変形している個体については、とくに主軸が枝分れしているのがみられた。これは緑の枝分れか、或は多胚植物によって発生したものか明確でないが、多少出現数の多いことからみて X-線の影響に関与しているかもしれない。例えば T. III の個体で 300r で 30 本、600r で 10 本の出現がみられた。この出現については他の高等植物にもしばしば認められている。その他の変形については子葉が線状を呈しているもの、幼茎が屈曲しているものおよび委縮しているものがわずかに出現した。

アカマツ種子の播種後 190 日目の生存率は第 3 表、第 4 図にしめすとおり、個体によってこととなるが、クロマツと同様に線量の増加に伴って低くなる傾向がみられ、900r で 27%, 1200r で 3~0%, 1500r, 1600r および 2000r で 0% をしめた (Fig. 8 参照)。

LD-50 は個体によってかなりこととなるが、300r と 600r との間にあると思われる。

苗高については第 4 表、第 5 図にしめすとおり、同じ線量でも個体によってことなり一様でない。しかし各個体とも 800r および 900r は他の線量よりも低い傾向がみられた。無処理を

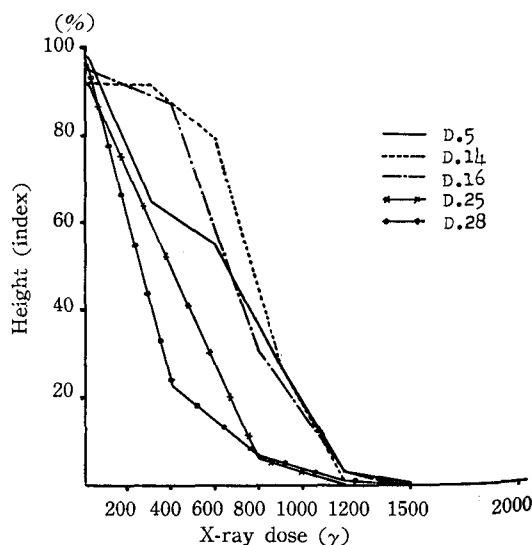


Fig. 4. Survival rates of young seedlings on the 190th day after sowing in X-irradiated presoaked seeds of *Pinus densiflora*.

Table 3. Germination and survival rates in X-rays irradiated
presooked seeds of *Pinus densiflora*

Individual	X-ray dose	No. of sowing	Germination of X-rays irradiated time		Survival on the 190th day after sowing	
			No. of germination	Germination percentage	No. of survival	Survival rates
				%		%
D. 5	cont.	150	2	1	147	98
	300	150	29	19	98	65
	600	150	13	9	82	55
	900	150	7	5	40	27
	1200	150	4	3	4	3
	1500	150	1	1	1	1
D. 14	cont.	150	73	49	138	92
	300	150	8	5	137	91
	600	150	6	4	119	79
	900	150	3	2	40	27
	1200	150	17	11	1	1
	1500	150	53	35	0	0
D. 16	cont.	150	86	56	142	95
	400	150	11	7	131	87
	800	150	22	15	47	31
	1200	150	36	24	5	3
	1600	150	64	43	0	0
	2000	150	103	69	0	0
D. 25	cont.	150	136	91	138	92
	400	150	54	36	74	49
	800	150	56	37	9	6
	1200	150	109	73	0	0
	1600	150	122	81	0	0
	2000	150	125	83	0	0
D. 28	cont.	150	24	16	144	96
	400	150	101	67	34	23
	800	150	92	61	10	7
	1200	150	75	50	1	1
	1600	150	52	35	0	0
	2000	150	27	18	0	0

100とした苗高は第6図にしめすとおり、とくにD. 28の個体は各線量とも他の個体よりも高いようにみられた。これは種子の吸水差、個体の遺伝的なちがいによるかもしれない。またD. 5の個体を除いて他の個体の300rおよび400rは無処理よりもやや高く、クロマツと同様に生長は良好のようにみられた(Fig. 9参照)。形質の変形しているもの、とくに主軸の枝分れしているものについてはクロマツと同様に出現し、X-線の影響によるものか明確でない(Fig. 10参照)。その他の変形しているものについてもクロマツと同様にわずかに出現した。

今回の実験は予備実験として、個体別に採種したクロマツおよびアカマツの吸水種子に対しX-線を照射し、幼苗の生存率、LD-50および初期生育調査について検討することが出来た。その結果、これらはとくに採種した個体によってかなり相違がみられた。著者らの実験結果と同様の傾向として、

Table 4. Height of young seedlings and abnormal character on the 190th day after sowing in X-irradiated presoaked seeds of *Pinus densiflora*.

Individual	X-ray dose	Height of young seedlings	Index number against 100 of control	Abnormal character			
				Branching of main stem		Others abnormal character	
				Number	Percentage*	Number	Percentage*
D. 5	cont.	6.7±1.4	100	0	—	0	—
	300	4.5±2.0	67	3	3	0	—
	600	5.0±1.5	75	13	16	1	1
	900	3.2±1.6	48	14	35	0	—
	1200	4.3±1.9	64	0	—	0	—
	1500	4.5±	67	0	—	0	—
D. 14	cont.	5.4±1.3	100	0	—	0	—
	300	7.3±1.6	135	1	1	1	1
	600	3.2±1.4	59	8	7	2	1
	900	2.8±1.4	52	10	25	1	3
	1200	2.5±0.6	46	0	—	0	—
	1500	—	—	—	—	—	—
D. 16	cont.	4.5±0.9	100	0	—	0	—
	400	5.0±1.5	111	1	1	3	2
	800	2.0±0.8	44	10	21	1	2
	1200	2.3	51	3	60	0	—
	1600	—	—	—	—	—	—
	2000	—	—	—	—	—	—
D. 25	cont.	5.8±1.3	100	0	—	0	—
	400	6.1±1.9	105	4	5	1	1
	800	3.9±2.1	67	3	33	1	11
	1200	—	—	—	—	—	—
	1600	—	—	—	—	—	—
	2000	—	—	—	—	—	—
D. 28	cont.	3.9±0.6	100	0	—	0	—
	400	8.4±2.5	215	6	18	0	—
	800	4.7±2.1	121	3	30	0	—
	1200	4.0	103	0	—	0	—
	1600	—	—	—	—	—	—
	2000	—	—	—	—	—	—

* Percentage against the number of survival seedlings

Simak (未発表) らによると *Scots* マツの放射線感受性は一つの木における種子の大小、集団の個体間の変異によってもかなり相違していることがわかった (大庭, Simak, 1961)。また大庭, Simak らにとると、種子の感受性は原産地における生態的要素に関係し、*Scots* マツ (*Pinus silvestris* L. 種子) の放射線感受性は産地別によってかなりことになっていた。さらに高緯度で高い標高の種子は、低緯度で低い標高の種子よりも X-線に対する低抗性は一層高かったと報告している。これらの結果から、放射線感受性は、植物の種のみならず、さらに変種や品種の差、個体の差などによってことなると思われる。すなわちわずかの遺伝的組成のちがいでいによってもことなることが知られている (藤井,

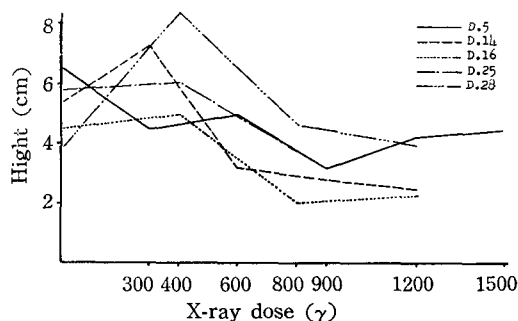


Fig. 5. Height of young seedlings on the 190th day after sowing in X-irradiated presoaked seeds of *Pinus densiflora*.

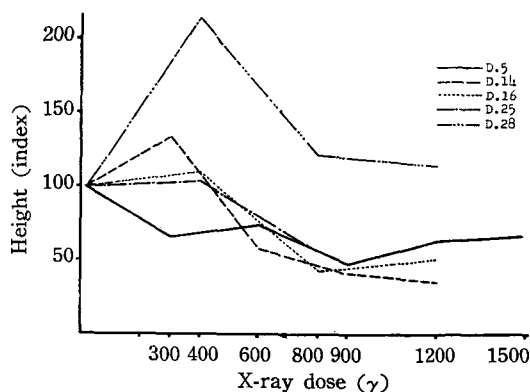


Fig. 6. Relation between X-rays dosages and height of young seedlings in *Pinus densiflora* on the 220th day after sowing

松村, 1958)。また植物の生理的条件, たとえば水分含量, 休眠性や生化学的反應の程度によって影響されることは一般に知られている。マツ類は永年進化をへて現在に到っており, 異質接合体であるといわれている。その遺伝子の組成については判明し難い。しかし X-線を利用することによって人為的に因子突然変異を或程度起すことが出来, また特定の目的によっては有用な育種の利用価値が見出されるかもしれない。しかしマツ類の人為突然変異体の生存率は非常に低いことが外山 (1950) らによって知られている。それ故に我々は高率にそして有利な突然変異体を得るためにさらに有効な処理方法を考え, 再実験を試みる必要がある。

摘 要

本実験は突然変異誘発を目的として, クロマツおよびアカマツの吸水種子を用い, X-線照射を行い, 幼苗の生存率, LD-50 および初期生育調査を行った。

(1) クロマツ種子は個体別に 3 本の木 (13年生) から採種し, 吸水後 22 日目に X-線 (電圧 200kV, 電流 19mA, 距離 55cm, 1.0mm アルミニウムフィルタ) を照射した。

(2) アカマツ種子は個体別に 5 本の木 (約 60年生) から採種し, 吸水後 12 日目に X-線 (クロマツと同様) を照射した。

(3) 線量はクロマツについて 100, 200, 300, 400, 600 および 1200r まで, アカマツは 300, 400, 600, 800, 900, 1200, 1600 および 2000r まで照射した。

(4) クロマツ吸水種子の X-線照射後, 播種してから 220 日目における幼苗の生存率は, 個体によってことなるが, 線量の増加にともなって低くなる傾向がみられた。LD-50 は個体によってかなりことなるが 300r と 800r との範囲にあると思われる。苗高についても個体によってことなり様でない。とくに 100r および 300r は無処理よりも高い個体がみられ, 生育は良好である。形質の変形しているものについてはとくに主軸が枝分れしているものがみられた。しかし X-線の影響によって出現したかは明確でない。

(5) アカマツ吸水種子の X-線照射後, 播種してから 190 日目における幼苗の生存率は, 個体によってことなるが, 線量の増加にともなって低くなる傾向がみられた。1500r, 1600r および 2000r では各個体とも完全に致死である。LD-50 は個体によってかなりことなるが, 300r と 600r との間にあると思われる。苗高についても個体によってことなり様でない。とくに 300r および 400r は無

処理よりも高い個体がみられ、生育は良好である。形質の変形しているものについてはとくに主軸が枝分れしているものがクロマツと同様に出現した。

参 考 文 献

- Baldwin, H. I.: 1936. X-ray treatment of tree seeds. Jour. For. 34 1069-1070.
- Snyder, E. B., Grigsby, H. C. and Hidalgo, J. U.: 1961. X-radiation of *Southern Pine* seed at various moisture contents.
- Fuji, T. and Matsumura, S.: 1959. Radiosensitivity in plant 111. Experiment with several poliploid plant. Jap. Soc. Breed. Vol. 9, No. 4.
- Gustafsson, A.: 1941. Mutation experiments in *barley*. Hereditas, 27: 225-242.
- : 1941. Preliminary yield experiments with ten induced mutant in *barley*. Hereditas. 27, 337-359.
- Gustafsson, A., and Simak, M.: 1958. Effect of X- and Gamma-rays on *Conifer* seed. Medd. Stat. Skogsforskinst. 48(5).
- Heimbürger, C.: 1960. Irradiation of *white Pine* seeds with X-rays. In progress report No. 10. On the development of blister rust resistance in *white Pine* through coordinated effort of participating agencies U. S. Forest Ser. 21 PP.
- Sato, K. and Nishina, Y.: 1951. Effects of fast neutrons upon forest tree seeds, 11. Relations between the intensities of irradiations and the germinations of seeds, the growth of seedlings of *Pinus densiflora*. Sci. Bul. Fac. Agr. Kyushu Univ. 13. 238-242.
- Matsumura, S. and Fujii, T.: 1959. Radiosensitivity in plant 11. Rep. Kihara Inst. Biol. Res. 10.
- May, J. T. and Posey, H. G.: 1958. The effect of radiation by Cobalt-60 Gamma rays on germination of *slash Pine* seed. Jour. For. 56: 854-855.
- Muller-Olsen, C., and Simax, M.: 1954. X-ray photography employed in germination analysis of *Scots Pine* (*Pinus Silvestris* L.) Medd. Stat. Skogsforskinst. 44(6) 1-19.
- Muller-Olsen, C., Simak, M., and Gustafson, A.: 1956. Germination analyses by the X-ray method *Picea abies* (L.). Karst Medd. Stat. Skogsforskinst 46(1): 1-12.
- Nishina, Y., and Sato, K.: 1943. Effects of fast neutrons upon forest tree seeds, 1. Four. For. Soc. 25: 313-322 (in Japanese).
- Sato, K., and Nishina, Y.: 1951. Effects of fast neutrons upon forest tree seeds. 11. Relations between the intensities of irradiations and the germinations of seeds, the growth of seedlings of *Pinus densiflora*. Sci. Bul. Fac. Agr. Kyushu Univ. 13. 238-242.
- Simak, M., and Gustafsson, A.: X-ray Photography and sensitivity in forest tree species. Hereditas (Lund) 39: 458-468.
- Ohba, K. and Simak, M.: 1961. Effect of X-rays on Seeds of *Scots pine* (*pinus silvestris* L.) from different provenances. silvae Gene. 10, Heft 3, 84-90.
- Smith, H. H.: 1958. Radiation in the production of useful mutations. Bot. Rev. 24: 1-24.
- 外山三郎: 1950. X-線による杉突然変異体(林木の育種および其基礎研究 第14報) 日林九支研究抄報 1: 74-75.
- : 1954. 林木育種に関する知見(林木の育種およびその基礎的研究 第24報) 林試研究報告 No. 66.
- 上田弘一郎・吉川勝好・飯塚宗夫: 1957. 放射線および中性子照射と林木種子の発芽, 日林関西支講 (7).

Résumé

For the purpose of inducing mutation, in this experiment presoaked seeds of *Pinus Thunbergii* (Japanese black Pine) and *Pinus densiflora* (Japanese red Pine) were irradiated with X-rays. The influences of X-rays were investigated on survival rates, LD-50 and initial growth of young seedlings.

1. The seeds of *Pinus Thunbergii* were collected from three trees (13 years old), and they were X-rays irradiated on the 22nd day after soaking.

2. The seeds of *Pinus densiflora* were collected from five trees (ca. 60 years old), and were

irradiated with X-rays on the 12th day after soaking.

3. Presoaked seeds of *Pinus Thunbergii* were irradiated with 100, 200, 300, 400, 600, and 1200r of X-rays, and presoaked seeds of *Pinus densiflora* 300, 400, 600, 800, 900, 1200, 1600, and 200r of X-rays.

4. Survival rates, LD-50 and height of young seedlings in *Pinus Thunbergii* and *Pinus densiflora* on the 220th and 190th day after X-ray irradiation respectively, were considerably different according to the tree which gave the seeds. But the following tendencies could be observed. In *Pinus Thunbergii* the survival rate seemed to decrease with increasing dosages, and LD-50 seemed to range between 300r and 800r. And also seedling heights were not uniform. 100r and 300r especially seemed to have a tendency to make seedlings higher than the controls. Among the plants with abnormal characters, those with branching main stem were frequently observed. It is not clear whether this is due to direct effect of X-rays or not.

5. The survival rates of presoaked seeds of *Pinus densiflora* seemed to decrease with an increase of dosage as in the case of *Pinus Thunbergii*, and 1500r, 1600r and 2000r completely killed them. And LD-50 seemed to range between 300r and 600r. Also, the seedling heights were not uniform. 300r and 400r especially seemed to have a tendency of making seedlings higher than the controls. Among the plants with abnormal characters, those with branching main stem were frequently observed as in the case of *Pinus Thunbergii*.

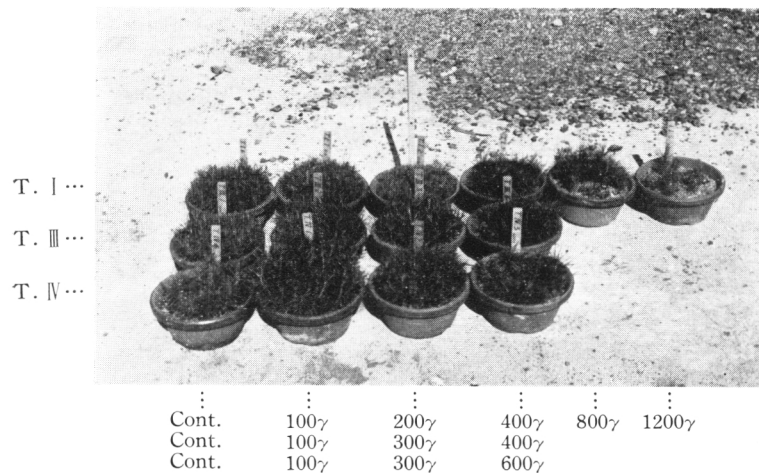


Fig. 7. Growth at various dosages of X-rays in presoaked seeds of *Pinus Thunbergii* on the 220th day after sowing

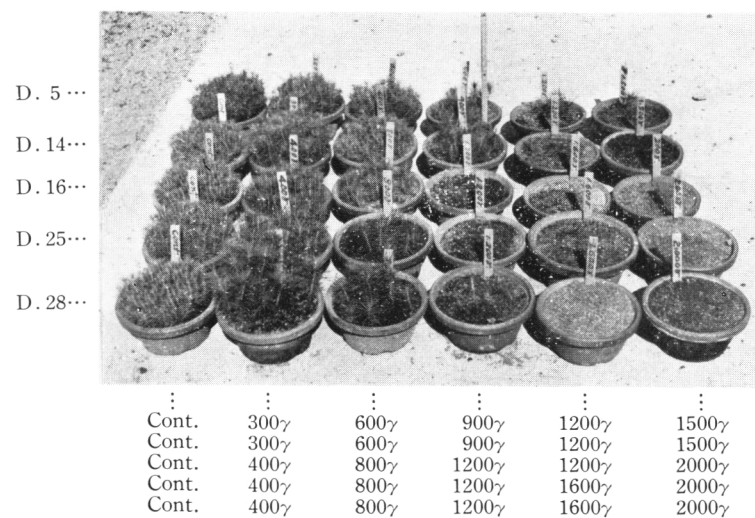


Fig. 8. Growth at various dosages of X-rays in presoaked seeds of *Pinus densiflora* on the 190th day after sowing

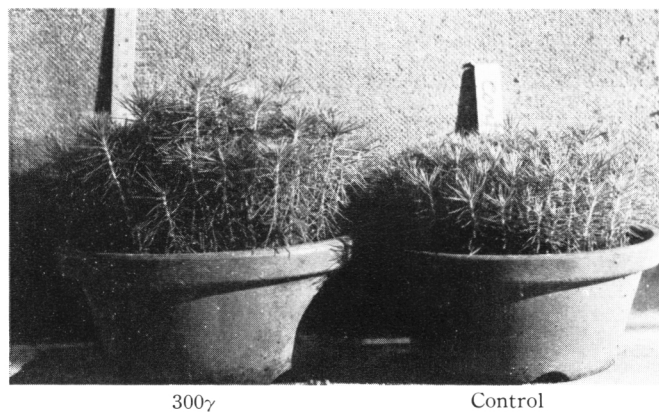


Fig. 9. Influence of X-ray irradiation upon height of young seedlings on the 190th day after sowing in presoaked seeds of *Pinus densiflora*.

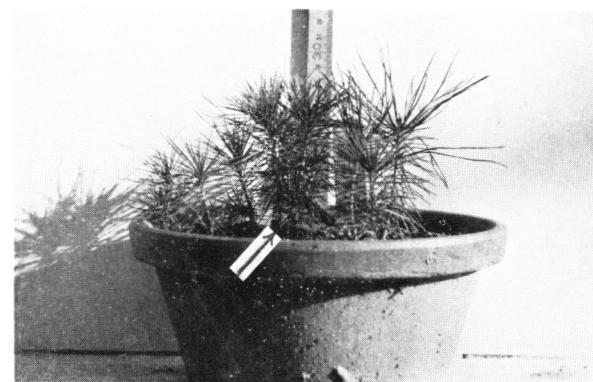


Fig. 10. Branching of main stem in X-rays (800γ) irradiated *Pinus densiflora*. (Arrow)