

論文

ヘリウムイオンのナタネ初期胚への照射効果

櫻井 昇^{*1)} 南 晴文^{*2)} 鹿園直哉^{*3)} 田中 淳^{*3)} 渡辺 宏^{*3)}Effects of Helium Ions of an Early Embryo on Postembryonic Leaf Development in *Brassica napus* L.

Noboru SAKURAI, Harufumi MINAMI, Naoya SHIKAZONO, Atsushi TANAKA and Hiroshi WATANABE

Abstract We examined postembryonic effects after helium ion and gamma ray irradiation of an isolated whole flower (a flower with pedicel) of *Brassica napus* through a flower organ culture, and estimated the effects of irradiation on embryogenesis in sexual reproductive stages. The whole flowers were irradiated with 30 Gy of helium ions and gamma rays in the early globular embryo and/or torpedo embryo stages. The helium ion and gamma ray irradiation of early globular embryos caused some drastic malformations in the first true leaves. Those malformations were classified into four types: cup-shaped, funnel-shaped, shrunk and the other varied leaves. The types were observed in 40 % of plants that developed first true leaves. Both cup-shaped and funnel-shaped types were observed in over 15 %. On the other hand, the irradiation of gamma rays of torpedo embryos caused sectors lacking chlorophyll in first true leaves.

Keywords *Brassica napus* L., Cup-shaped leaf, Embryo, Flower organ culture, Funnel-shaped Leaf, Gamma rays, Helium ions, Postembryonic development

1. はじめに

動物の放射線感受性に関する研究は、医療関連分野で多くの研究がなされてきた。特に、胚子や胎児への照射が、奇形およびがん発生におよぼす影響について研究されてきた¹⁾。一方、胚発生期間中の植物への放射線照射が胚発生後の形態形成および体細胞突然変異におよぼす影響についてはほとんど報告がなく未解明の状況である。

エックス線およびガンマ線照射を中心に生物影響について調べられてきたが、近年、線エネルギー付与(LET)の高いイオンビームが使われ始めた。イオンビームはエックス線およびガンマ線に比べて生物効果比(RBE)が高く、生物利用への大きな期待がもたれている²⁾。

われわれは、ナタネを実験植物として胚発生期間中の花にイオンビームおよびガンマ線を照射し、照射が胚発生後の形態形成および体細胞突然変異の誘発におよぼす影響について調べている。ナタネの開花は、1つの植物

個体内で同調しないので、同一の胚発生期の花だけを選択して照射を行うことができない。しかしながら、切り花培養では、同一期に開花した切り花の花梗部だけを培地に活けることによって授粉50日後に採種することができ、その間の胚発生が同調する。

本研究では、切り花培養法によって球状胚初期および魚雷胚期に胚発生を同調させたナタネ切り花を材料にしてヘリウムイオンを照射し、照射時期が胚発生後の形態形成におよぼす影響を調べた。また、ガンマ線を比較線種として使い、初期胚への放射線照射による形態制御について考察する。

2. 方法

2.1 植物材料

材料として、*Brassica napus cv. Lisandra*を用いた。材料は、野外において8号鉢で本葉4~5枚まで栽培して、その後人工気象室内で温度条件は15/10℃、日長条件は蛍光灯で補光を行い17時間として材料の開花を誘導した。切り花培養に用いた花は、開花中期頃の9個体から採取した。ナタネ切り花培養とは、当日開花した切り

*1) 放射線応用技術グループ

*2) 東京都農業試験場

*3) 日本原子力研究所高崎研究所

花の花梗部を，Murashige & Skoogの基本培地の無機塩に3%のシュクロースを加えた液体培地（pH5.8）を含む1.5mlチューブに活けることで，授粉培養（25 /24時間照明）50日後に採種可能となる器官培養法のことである³⁾。この培養法における莢当たりの成熟種子の採種数は生体の約1/2から1/3である。

2.2 切り花培養における授粉後日数と胚発生ステージ
切り花培養における供試材料の授粉後の胚発生ステージは，授粉5日目が球状胚初期，授粉6日目が球状胚期，授粉8日目が心臓胚期，授粉10日目が魚雷胚期である（図1）。

2.3 照射および影響評価

放射線種はイオンビームとしてヘリウムイオン（100MeV），比較線種としてコバルト60ガンマ線を使用した。ヘリウムイオンの照射時期は球状胚初期とし，ガンマ線照射の時期は球状胚初期および魚雷胚期とした。照射線量はヘリウムイオンおよびガンマ線ともに30 Gyとした。ヘリウムイオン照射は，日本原子力研究所高崎研究所のAVFサイクロトロン深度制御装置で行い，4分の照射とした。ガンマ線照射は30分の照射とし，当所コバルト60照射装置（⁶⁰Co 129.5TBq）で行った。図2に照射の手順を示す。照射が形態形成におよぼす影響は，第一本葉の形態異常を指標にして調べた。魚雷胚期の花への照射については第三葉まで調べた。

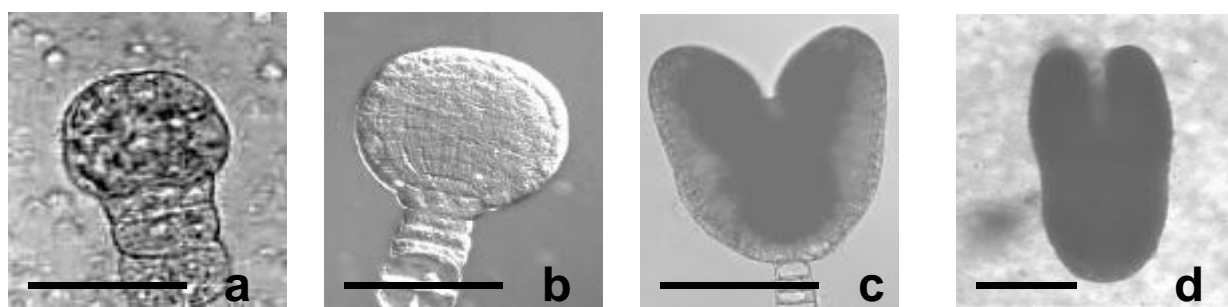


図1 授粉後の胚発生ステージ（：100μm）

a: 初期球状胚(授粉5日目) ; b: 球状胚(授粉6日目) ; c: 心臓胚(授粉8日目) ; d: 魚雷胚(授粉10日目)

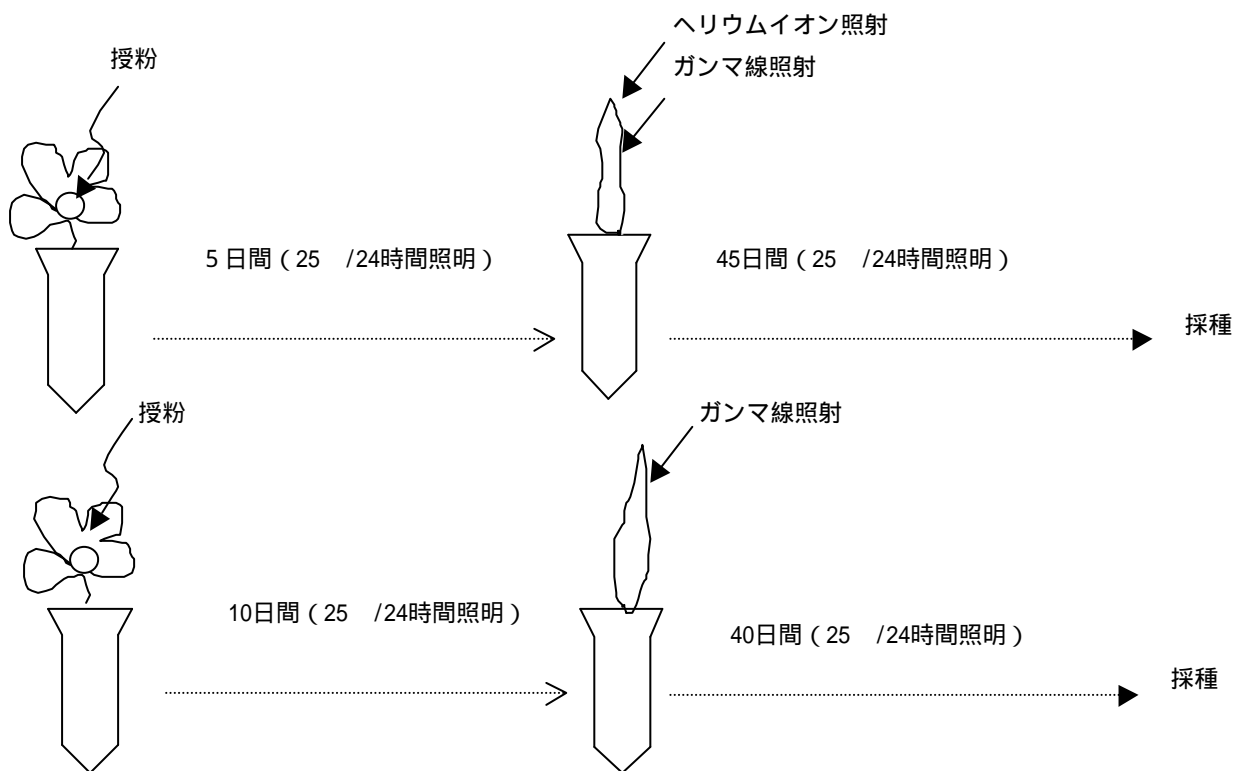


図2 切り花培養法を用いた照射手順

3. 結果

3.1 ヘリウムイオン照射の影響

ヘリウムイオンの球状胚初期の花への照射は、第一本葉の形態に大きな影響をおよぼした。それらの影響は、4種類に分類できた：カップ型、ロート型、縮れ型およびその他の型の奇形である（図3）。その他の型には、生長が第二本葉の発達以後停止する型および第一本葉が内側あるいは外側にそる型の2種類がある。それら奇形を持つ個体は、第一本葉を発達させた個体のうちの40%を占めた（表1）。そのうちカップ型およびロート型の第一本葉を持つ個体は、30%であった。

3.2 ガンマ線照射の影響

ガンマ線の球状胚初期の花への照射は、ヘリウムイオンの球状胚初期の花への照射と同様の結果を示した。すなわち、それらの影響は、カップ型、ロート型、縮れ型およびその他の型に分類できた（図3）。それら第一本葉に奇形を持つ個体は、第一本葉を発達させた個体のうちの40%に現れ、そのうちカップ型およびロート型の第一本葉を持つ個体は40%で、ヘリウムイオンの球状胚初期の花への照射と同様の影響を示した（表2）。さらに、本葉を発達させなかった4個体のうちの1個体については、根元が認められなかった。

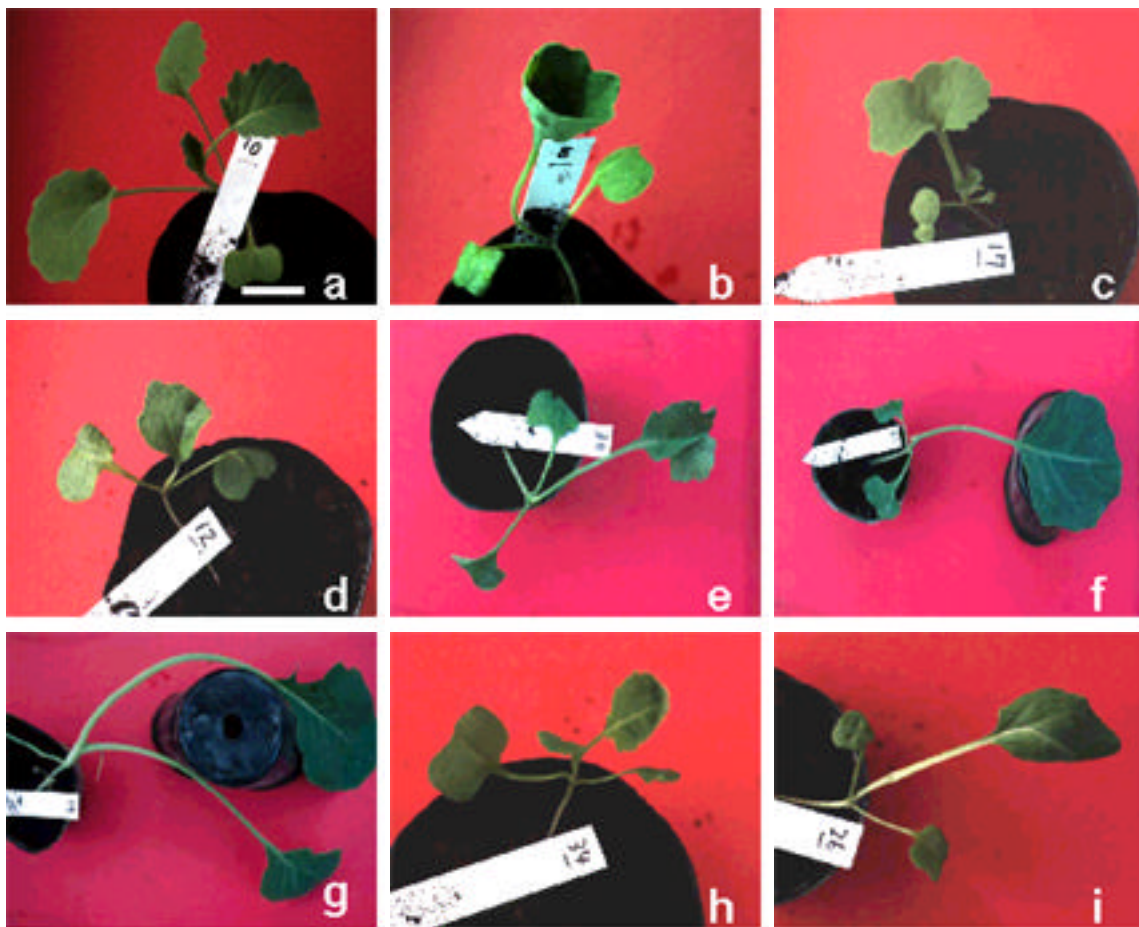


図3 ヘリウムイオンおよびガンマ線の初期球状胚への照射が第一本葉におよぼす影響（ : 10mm）
 a : 正常個体 ; b : カップ状奇形 ; c : ロート状奇形 d, e : 縮れ型奇形 ; f, g, h, i : その他の奇形

表1 ヘリウムイオンの球状胚初期の花への照射が第一本葉の形態形成におよぼす影響

第一本葉の発達		奇形のタイプおよび個体数			
発達個体数	未発達個体数	カップ	ロート	縮れ	その他
55	2	3	3	7	6

は種数 : 57粒 ; 発芽率 : 98%

表2 ガンマ線の初期球状胚の花への照射が第一本葉の形態形成におよぼす影響

第一本葉の発達		奇形のタイプおよび個体数			
発達個体数	未発達個体数	カップ	ロート	縮れ	その他
54	4	5	3	7	5

は種数：60粒；発芽率：90%

表3 ガンマ線の魚雷胚期の花への照射が本葉（第一，第二あるいは第三本葉）の形態形成におよぼす影響

第一本葉の発達		奇形のタイプおよび個体数				
発達個体数	未発達個体数	斑入り			縮れ	その他
		+縮れ	+その他	+縮れ，その他		
28	0	3	1	1	1	2

は種数：44粒；発芽率：64%

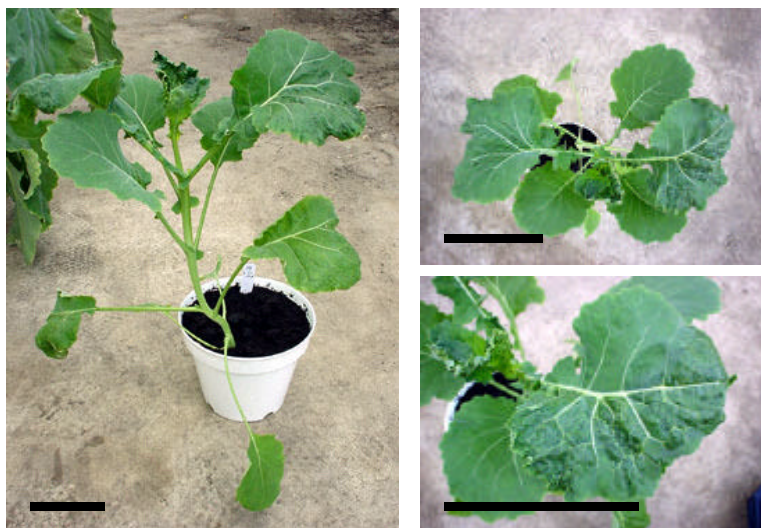


図4 ガンマ線の魚雷胚への照射が本葉におよぼす影響（：100mm）

ガンマ線の魚雷胚期の花への照射では、採種々子の発芽率が64%と低く、形態的特徴としては斑入り葉の個体が現れ、その頻度は20%であった（表3）。さらに、第三本葉以降の主脈右側部に縮れがキメラ状に現れた奇形個体も観察された（図4）。

4. 考察

ヘリウムイオンおよびガンマ線を有性生殖期のナタネ球状胚期および魚雷胚期の花に照射した。それら照射の影響を照射後完熟した種子の形態形成について調べた。その結果、初期の球状胚に照射した場合、第一本葉にカップ型およびロート型の特徴的な奇形葉が現れることが明らかになった。植物遺伝学の実験植物として扱われているナタネと同じ Brassicaceae 科の *Arabidopsis thaliana* の発育遺伝学的研究において、球状胚期の段階で初期の組織分化が完了していることが明らかにされて

いる⁴⁾。球状胚は、上半球部、下半球部（根冠部を含む）からなり、上半球部は子葉と頂部生頂点を持つ実生先端部で、一方、下半球部は胚軸と根になる部分である。このことから、第一本葉にカップ型およびロート型の奇形が現れたのは、球状胚の上半球部がヘリウムイオンあるいはガンマ線照射の影響を受けて、その部分が部分的に細胞分裂が停止あるいは抑制され次の組織分化に進めなかったことが原因と考えられる。同様に、根部および胚軸が発達せず実生だけが発達した個体は、下半球部が照射の影響を受けて分裂停止あるいは抑制が起こり、組織分化が進まなかったことが原因と考えられる。魚雷胚へのガンマ線照射では、球状胚への照射の特徴として現れたカップ型やロート型の奇形は現れず、斑入り葉が現れる特徴が認められ、照射時期によって形態形成におよぼす影響に特異性があることが明らかになった。本葉の縦半分に縮れがキメラ状に現れた個体については、そのキメ

ラが本葉に連続的にみられるので体細胞突然変異の可能性が考えられる。

5. まとめ

ヘリウムイオンおよびガンマ線を球状胚初期および魚雷胚期のナタネ切り花に照射し、採種々に現れる形態異常を指標にして初期胚への照射の影響を調べた。

球状胚期への照射において、特異的な影響が認められた。すなわち、カップ型およびロート型奇形の第一本葉を持つ個体が40%の頻度で出現した。

魚雷胚期への照射では、斑入りを持つ個体が高頻度で出現した。

今後、30Gyに比べて高い線量域での照射実験を行い、カップ型およびロート型の奇形の本葉が現れる頻度を調べ、線量依存性があるのかどうかを明らかにする。また切り花培養では細胞分裂速度が速いので、照射線量は変えずに照射時間を長くすることによる奇形への影響や種類におよぼす影響についても調べ、特異的な形態が出現する条件を明らかにし、初期胚への放射線照射による形態制御の可能性を探求する。

参考文献

- 1) 山口彦之:放射線生物学(1995).
- 2) N.Shikazono, Y.Yokota, A.Tanaka, H.Watanabe and S. Tano: "TIARA Annual Report 1996", (R.Tanaka, H.Omichi, I.Nashiyama, H.Naramoto, T.Suwa, Y.Morita, A.Toraishi, H.Watanabe, Y.Kusama, D. Nemoto and S.Okada eds),pp.24-26,Japan Atomic Energy Research Institute(1997).
- 3) Lardon, A. Triboui-Blondel, A.M. and Dumas, C., Sexual Plant Reproduction, 6, 52-56(1993).
- 4) G. Jurgens:"Arabidopsis", (E.M. Meyerowitz and C.R. Somerville eds.), pp.297-312, CSHL PRESS, New York(1994).

(原稿受付 平成12年8月2日)