テクニカルニュースNo.27

Technical News No.27

放射線育種場,Institute of Radiation Breeding

昭和60年3月

March,1985

## ベニバナ(Carthamus tinctorius L.)のカルスの放射線感受性

Radiosensitivity of callus of safflower, Carthamus tinctorius L.

組織培養によって突然変異が生じることは知られているが、培養組織に変異原を処理して積極的に突然変異を誘発する方法はごく近年に始まったにすぎない。これまでにいくつかの変異原が利用されてきたが、培養組織の変異原に対する反応については充分な調査がなされていない。このために 60 Coのガンマ線を変異原として用い、ベニバナ (Carthamus tinctorius L.) のカルスのガンマ線に対する反応を調査した。

NAA  $10^{-5}$  Mおよび BAP  $5 \times 10^{-6}$  Mを加えた MS培地上で、幼苗の葉からカルスを誘導し増殖させ、継代培養した。生育量が飽和に達した状態のカルスにガンマ線を 1 KR/hの線量率で照射し、生体重の増加を 測定した。

照射約20日後の生育量では、生育半減線量(RD  $_{50}$ )はカルス、幼苗および種子でそれぞれ $_{12,6}$  40, kRで、カルスの放射線感受性は幼苗の約 $_{1}$   $_{2}$  、また種子の約  $_{3}$  、3倍だった(第1図)。

生体照射の場合と同様にカルスでも照射線量率の効果がみられた(第2図)放射線障害は照射線量率が低いほど小さく、またこの線量率効果は照射総線量が小さいほど大きかった。また線量率の高い4kR/hrの照射では放射線障害が大きく、カルスの生育は照射総線量にかかわらず対照の約20%まで低下した。

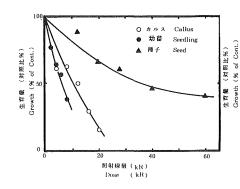
照射カルスと無照射カルスの生育を比較した場合,照射直後の培養では、照射カルスで生育速度の低下がみられたが、生育のパターンはほぼ等しかった(第3図)。一方、これらのカルスの培養次代では、照射カルスは無照射カルスと同等かまたはそれ以上の生育率を示した(第3図)。これは、継代培養操作が障害を受けた細胞に対して強い選抜効果を与えたためと考えられる。

移植後の日数をかえてカルスの放射線感受性を調査した(第4図)。照射約20日後の調査では移植後の日数の少ないカルスほど生長が強く抑制され,感受性が高かった。すなわち、一継代培養期間のカルスの生長ステージにより大きな放射線感受性の差異がみられた。しかしさらに約30日以上培養を続けた場合,いずれの照射でも照射後の生育量はほぼ等しく、照射カルスでの生長の回復がみられた。

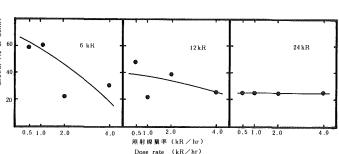
以上のように、突然変異の誘発を目的としたカルスの 照射総量の決定にあたっては、放射線の照射方法および カルスの生長ステージによって、放射線感受性が異なる ことを考慮しなければならない。

なお, 当研究は科学技術庁科学技術振興調整費によって行なわれたことを付記する。

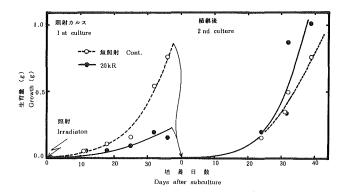
(矢頭 治)

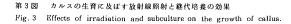


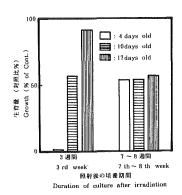
第1図 カルス、幼苗および種子の放射線感受性 Fig. 1 Radiosensitivities of callus, seedling and seed.



第2図 カルスの生育に及ぼす照射線量率の効果 Fig. 2 Effect of dose rate on growth of callus.







第4回 継代培地移植後の日数によるカルスの 放射線感受性の差異と生長の回復 Fig. 4 Radiosensitivity of callus at different pre-incubation time, Calluses were irradiated with l0kR.

Many observations have been reported on genetical instabilities in cultured plant cells, but few analyses have been made on *in vitro* mutagen treatment.

To develop methods of *in vitro* radiation mutagenesis in cultured plant cells, the response of callus of safflower, *Carthamus tinctorius* L., to gamma-ray irradiation was examined. Callus was induced from a young leaf of seedling and cultured on MS media with NAA 10<sup>-5</sup> M and BA5×10<sup>-6</sup>M. Callus was irradiated with gamma-rays from <sup>60</sup>Co source at the rate of 1 kR/hr, and their effects of irradiation on growth were examined by measuring its fresh weight.

RD<sub>50</sub> values of callus, seedling and seed were 12,6 and 40kR respectively, when irradiated with the dose rate of 1kR/hr (Fig.1). At lower dose range, considerable dose rate effect was observed, showing less suppression of growth in lower dose rate (Fig.2).

Pattern of growth curve of irradiated callus was similar to unirradiated callus except for decreased growth rate. Depression of growth rate not recovered in the first subculture after irradiation, however in the second subculture irradiated callus grew at similler or even higher rate than unirradiated callus (Fig. 3).

Conspicuous difference of radiosensitivities was observed depending on the duration of preincubation of callus at three weeks after irradiation. But after more than 50 days of subculture, this difference in radiosensitivity was decreased due to the recovery of callus growth (Fig. 4).

In conclusion, it is suggested that, in case of irradiation of callus, it must be taken into consideration that radiosensitivity depends on both irradiation method and growth stage of callus to be irradiated.

This study was performed through special coordination fund of the Science and Technology Agency of Japanese government.

(Osamu Yatou)

農林水産省農業生物資源研究所放射線育種場 Institute of Radiation Breeding, NIAR, MAFF