化学物質処理による突然変異誘起に際しての 内的外的条件の相違の効果について

1. エチレンイミンの稲麦種子処理における処理温度と 種子水分含量の相違の影響

安 達 一 明

Kazuaki Adachi

Effect of Different Temperature of Treatment and Various Water Content of Seeds on Treatment of Ethylene-imine of Some Cereals.

緒 言

作物育種上の今日最大の問題の一つは,人為突然変異の誘起である。その有効な手段として,各種の放射線,特にX線・r線を用いた研究が,最近極めて 盛ん と なり,その成果も次第にあがりつつある。

この放射線照射法のほかに、かなり有効な方法として、化学物質を処理する手段がある。これに用いられる化学物質は今迄に10数種にのぼるが、最近はアルキル化化合物がよく使用されて、高い効果を収めることが知られている。

しかしながら、これら種々の化学物質によって確実な 処理の効果を得るのに、一定の濃度とか時間が明らかで ない場合が多い、これは今迄の実験が、処理される植物 体の種々の状態と、処理の際の各種の環境条件とを、明 確におさえることなしに実施されていた為である。

著者は、突然変異をひき起す目的で、作物種子に対して化学物質処理を行なった場合、処理に供した種子の持つ内的条件と、処理時及び処理後の外的条件の相違が、種子の生死と発芽したものの生育ならびに M1幼苗時代の変異の発現に及ばす影響を明らかにする目的で実験を行ないつつある。本研究はその一環として、化学物質としてエチレンイミンを用い、内的要因の一として種子の水分含量を、外的要因の一として処理時の温度をとりあげ、これらの要因の変化に伴なう処理効果の現われ方の相違について実験をしたものである。

本実験の実施にあたっては専攻学生村上圭一君の全面的な協力をえたので、こゝに謝意を表する。

実 験 方 法

第1表 供試材料一覧表

作物の	D種類	品種名	入	手	先	採種時期
水	稲	近畿33号	島根農	大附属 (枢	農場 江市)	1966年9月
小	麦	農林73号	島根県	農事試 (出	験場 (雲市)	1966年6月
裸	麦	赤神力		//		"
皮麦(2条)	交 A		″		"

実験方法の概要 水稲及び小麦・裸麦・皮麦の 種子を,エチレンイミン浸漬処理し,播種・栽培して発芽とその後の M_1 幼苗時代の生育ならびに変異の発現について調査した。

供試材料 第1表の通りである。

供試薬品 エチレンイミン (ethylene-imine, 以下 EIと略す) H₂C—CH₂ NH

処理の条件

- (1) 供試種子の乾湿処理: 種子の水分含量を変化させるため、乾燥処理としては生石灰を入れたデシケーター内で、また湿潤処理としては底部に水を入れた瓶の中空に、それぞれ風乾種子を貯蔵した。
 - (2) 薬液処理の諸条件
 - i) 溶液温度 30°C, 10°C
 - ii) 浸漬時間 0,3,4,5,6,7各時間
 - iii) 溶液濃度 水稲 0.2, 0.3, 0.5 各% 麦類 0.15%
 - iv) 諸条件の組合せ 第1・第2・第3実験における

これら条件の組合せは、試験区一覧に記す。

処理後の管理 種子浸漬後は水道水流で1時間水洗してから播種した。

(1) 水稲: $38 \times 26 \times 18cm$ の合成樹脂製箱に、約 12cm の深さに壊土を入れ、1 箱100粒又は150粒播種し、これをファイトトロン内に置いて、以後の管理としては灌水に注意した。気象条件は、6 \sim 19時は 12,000 1ux で30° C、 $19 \sim 6$ 時は暗黒で10° Cとした。

第2表 第1実験の諸条件と試験区記号

種子	処理		処	理	時	間	
種子乾湿	温度	0	3	4	5	6	7
乾燥	30°C 10°C	Od	3 ³ _d 3 ¹ _d	4^3_{d} 4^1_{d}	5 ³ _d 5 ¹ _d	$6^3_{\mathbf{d}}$ $6^1_{\mathbf{d}}$	7 ³ _d 7 ¹ _d
湿潤	30°C 10°C	0w	3 ³ 3 ¹	4 ³ _w 4 ¹ _w	5 ³ _w 5 ¹ _w	$6^3_{\mathbf{w}}$ $6^1_{\mathbf{w}}$	7 ³ _w 7 ¹ _w

- 注 1. 試験区記号は水稲・麦類に共通.
 - 2. 処理濃度は水稲は0.5%, 麦類は0.15%.

第3表 第2実験の諸条件と試験区記号

実験	第	1実験。	より低濃	農度で草	左燥種	子に対す	-る		
目的		効果を知る							
処理	処 理		処	理	時	間			
処理濃度	理温度	0	3	4	5	6	7		
0.00/	30° C		₂ 3 ³	243	₂ 53	26 ³	273		
U.2%	10°C		231	241	₂ 5 ¹	261	271		
	30°C	U	33 ³	₃ 4 ³	35 ³	36 ³	₃ 73		
U.5%	30° C 10° C		3 ³¹	₃ 4 ¹	35 ¹	36 ¹	₃ 71		

- 注 1. 作物は水稲のみ.
 - 2. 種子は乾燥種子.

第4表 第3実験の諸条件と試験区記号

実験目的		種子の水分含量の各種段階のものに 対する効果を知る									
処 理			乾	燥	貯	蔵	日	数	(
処 理 温度	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
30° C	0	13	23	3 3	43	5 3	6 ³	7 3	83	93	10³
10°C	U	11	21	31	41	51	61	71	81	91	10¹

- 注 1. 作物は水稲のみ。
 - 2. 乾燥種子について0.3%5時間処理.

第5表 乾燥・湿潤貯蔵による種子の水分含量

브로 #수 다니	<i>l/</i> c ·	物別	水	分 含	量
実験別	TF	120 200	風乾種子	乾燥種子	湿潤種子
	水	稲	16.0%	8.4%	26.1%
第1実験	小	麦	15.7	8.7	32.1
A 1 X 0 X 1	裸	麦	16.3	9.6	34.2
	皮	麦	16.5	9.7	33.3
第2実験	水	稲	16.0	9.8	

- 注 1. 貯蔵期間は第1実験が36日間,第2が12日
 - 間であった。 2. 第3実験の分は第9表に記す。

第6表 発芽·生存調査結果(1) 第1実験水稲

	A3 O .			ユルロント(リ	213 1 200	DC/J (11D
		発力	丰 数	発芽率	生存数	生存率
	区別	10日目	14日目	14日目	30日目	30日目
	0 а	140	141	94.0%	140	93.3%
	3^3_d	0	0	0	0	0
	4^3_{d}	0	0	0	0	0
	$5^3_{\mathbf{d}}$	0	0	0	0	0
	$6^3_{ m d}$	0	0	0	0	0
	7^3_{d}	0	0	0	0	0
	3^1_{d}	14	20	13.3	14	9.3
	4^1_d	0	2	1.3	1	0.7
	$5^1_{\mathbf{d}}$	1	1	0.7	1	0.7
	6^1_{d}	0	0	0	0	0
	7^1_{d}	$7^1_{\mathbf{d}}$ 0		0	0	0
	0w	140	141	94.0	138	92.0
	3 ³ w	88	88	58.7	88	58.7
	4_{w}^{3}	42	42	28.0	42	28.0
	$5^3_{\rm w}$	25	28	18.7	29	19.3
	6w	11	11	7.3	10	6.7
	7_{w}^{3}	5	6	4.0	4	2.7
	3 ¹	135	137	91.3	136	90.7
	4_{w}^{1}	93	100	66.7	97	64.7
	$5^1_{\mathbf{w}}$	105	102	68.0	98	65.3
	$6^1_{\mathbf{w}}$	94	91	60.7	91	60.7
	$7^1_{\mathbf{w}}$	85	84	56.0	83	55.3
-						

注 1区150粒

(2) 麦類: ガラス室内の播種床に, 播巾 10cm うねの 長さ 1 m間に 150粒の割で播種し、 灌水に注意するほか 自然状態においた。

調査項目

観察によるもの:毎日の発芽個体数,生存個体数,葉 緑異常個体数

算出によるもの:発芽勢,発芽歩合,生存歩合,葉緑 異常発現歩合

試験区一覧 第2~第4表に示した通りであるか, 第 2・第3実験は、それぞれ追試的の意味をもって行なわ れたので,実験の目的を記した。

第7表 発芽調査結果(2) 第1実験麦類

□ □ □	小	麦	裸	麦	皮	麦
区別	発芽数	発芽率	発芽数	発芽率	発芽数	発芽率
0 _d	127	81.3%	120	80.0%	144	96.0%
$3^3_{\mathbf{d}}$	59	39.3	32	21.3	69	46.0
$4^3_{\mathbf{d}}$	35	23.3	15	10.0	20	13.3
$5^3_{ m d}$	14	9.3	6	4.0	5	3.3
$6^3_{\mathbf{d}}$	13	8.7	6	4.0	U	0
$7^3_{ m d}$	7	4.7	1	0.7	0	0
3^1_d	115	76.7	96	64.0	145	96.7
4_{d}^{1}	87	58.0	101	67.3	129	82.7
$5^1_{\mathbf{d}}$	100	66.7	84	56.0	123	82.0
6 ¹	95	63.3	79	52.7	117	78.0
7 ¹ _d	93	62.0	66	44.0	112	74.7
0w	109	72.7	96	64.0	147	98.0
$3_{\mathbf{w}}^3$	90	60.0	57	38.0	124	82.7
4_{w}^{3}	54	36.0	8	5.3	75	50.0
$5^3_{\mathbf{w}}$	47	31.3	6	4.0	23	15.3
$6^3_{\mathbf{w}}$	32	21.3	8	5.3	12	8.0
$7^3_{\mathbf{w}}$	19	12.7	0	0	1	0.7
$3^1_{\mathbf{w}}$	102	68.0	85	56.7	146	97.3
$4_{\mathbf{w}}^{1}$	98	65.3	92	61.3	147	98.0
$5^1_{\mathbf{w}}$	96	64.0	77	51.3	148	98.7
$6^1_{\mathbf{w}}$	93	62.0	66	44.0	141	94.0
$7^1_{\mathbf{w}}$	95	63.3	54	36.0	137	91.3
注 1	区150粒	30 🗆 E	日の調査	にトス		

第8表 発芽調査結果(3) 第2実験水稲

区 別	発芽数	発芽率	生存数	生存率
	14日目	14日目	30日目	30日目
0	48	96%	48	96%
233	41	82	40	80
243	40	80	37	74
₂ 53	34	68	25	50
263	17	34	11	22
273	10	20	5	10
231	50	100	50	100
241	43	86	43	86
₂ 5 ¹	43	86	42	84
261	36	72	72 34	
271	30	60	32	64
33 ³	9	18	8	16
₃ 4 ³	0	0	0	0
₃ 53	0	0	0	0
36 ³	0	0	0	0
₃ 73	0	0	0	0
331	22	44	18	36
34 ¹	15	30	14	28
35 ¹	0	0	0	0
36 ¹	1	2	1	2
3 ⁷¹	0	0	0	0

注 1区50粒。

第9表 発芽調査結果(4) 第3実験水稲

	70.5	7023 MASENTAL			C-3 -11H		
	別	種 子	発芽	数	発 3	芽 率	
区	נים	水分含量	14 ⊑	目	14	日目	
	0	16.0%		48		96%	
13	∼10³	14.0~ 9.9		0		0	
	11	14.0		39		78	
	21	13.0	1	25	50		
	31	12.3	2	26		52	
	41	11.7	2	22		44	
	5 1	11.2		25		50	
	61	10.8		19		38	
	7 1	10.5		18		36	
	81	10.3		17		34	
	91	10.0		13		26	
	101	9.9		16		32	

注 1区50粒。

注 1区150粒,30日目の調査による.

実 験 結 果

発芽状況

乾燥および湿潤貯蔵した結果,水分含量の異なる種子 を得たが,その水分含量は第5表に示した通りである。

(1) 第1実験

i) 水 稲

播種後早いもので2日目から発芽を始めたが、湿潤区は乾燥区に比し、低温区は高温区に比し、短時間区は長時間区に比して、何れも発芽が早かった。そして乾燥高温区では全く発芽しなかった。

発芽数は10~14日目で最大に達し、その後は減少する 区を生じた。第6表はこの状況を示したものである。

ii) 麦類

第7表に発芽状況を示したが、水稲に比して多くの日数を要したので、発芽調査の締切は30日目とした。その結果は、水稲と同一傾向を示したが、低温処理において乾湿条件の差異は、水稲ほど大きく生じなかった。

(2) 第2実験

本実験での発芽の状況は、第1実験と全く同一の傾向を示したが、第8表に示した通りに、発芽後に枯死するものが強処理区に生じることが、更に明らかであった。

(3) 第3実験

第10表 葉緑異常発現調査結果(1) 第1実験水稲

Z Z	別	葉緑異常	葉緑異常	葉緑異常	
		発現個体数	発 現 率	発現歩台	
3	l d	4	38.6%	3.6%	
4	l d	1	100.0	0.7	
5	l d	1	100.0	0.7	
3		8	9.1	5.3	
4	W W	11	21.4	6.0	
5	w w	11	34.6	6.7	
6	w w	7	60.0	4.0	
7	w	4	100.0	2.7	
3,	W	8	3.7	3.4	
4,1	W	5	5.2	3.4	
6,1	v	10	11.0	6.7	
$7^1_{\mathbf{v}}$	v	22	24.1	13.3	

注 1. 播種後45日目までの調査.

- 2. 葉緑異常発現率は発芽数に対する百分率.
- 3. 葉緑異常発現歩合=発芽率×発現率/102.

第9表には、乾燥貯蔵日数の増加に伴なう種子水分含量の変化も合せ記した。本実験では高温区が全く発芽せず、一方低温区の発芽率は種子水分量の少ないものほど良好な結果を示した。

変異の発現状況

稲・麦ともに M₁ 幼苗時代に, 葉緑異常個体の発現が 認められた。その発現時期は, 早いもので播種後18日目 に認められ, 以後生育期間をとおして随時発現した。

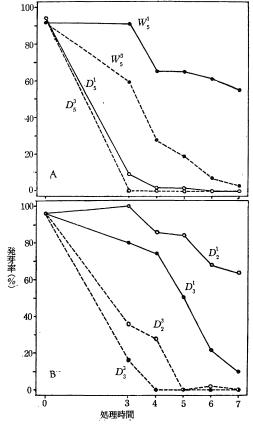
葉緑異常の種類は,稲では stratum, maculata, viridis に,麦では viridis, stratum, xantha, albino に類似したものがそれぞれ発現した.

発芽数に対するこれら異常個体の発現の割合を,異常 発現変異率として第10・第11表に示したが,長時間・高 濃度・高温処理および乾燥種子になるほど高くなる傾向

第11表 葉緑変異発現調査結果(2) 第1実験麦類

	小		麦	稞		麦	皮	麦
区別	個体	率	発現 歩合	個体	葉緑異 常発現 率	同左 発現 歩合	変異 個体数	常発現発現 率 歩合
$3^3_{\mathbf{d}}$	4	6.8	2.7	4	% 12.4	2.6	14	% % 20.3 9.3
4_{d}^{3}	5	14.3	3.3	6	40.0	4.0	3	15.0 2.0
$5^3_{\mathbf{d}}$	2	14.3	1.3	1	16.7	0.6	1	20.0 0.7
$6^3_{ m d}$	0	0	0	2	33.3	1.3	0	0 0
$7^3_{\mathbf{d}}$	0	0	0	0	0	0	0	0 0
3^1_d	0	0	0	2	2.1	1.3	3	2.1 2.0
4^{1}_{d}	0	0	0	4	4.0	2.7	5	3.9 3.2
$5^1_{\mathbf{d}}$	0	0	0	4	4.8	2.7	9	7.9 6.5
6^1_d	0	0	0	3	3.8	2.0	16	13.7,10.7
7 ¹ _d	2	2.2	1.4	4	6.1	1.4	17	15.2 11.4
$3_{\mathbf{w}}^{3}$	3	0.3	1.8	3	5.3	2.0	18	14.5 12.0
$4_{\rm w}^3$	2	3.7	1.3	0	0	0	11	14.7 7.4
$5^3_{\mathbf{w}}$	2	4.3	1.3	0	0	0	5	21.7 3.3
6 ³	1	3.1	0.7	1	12.5	0.7	3	25.0 2.0
$7^3_{\mathbf{w}}$	1	5.3	0.7	0	0	0	1	100.0 0
$3^1_{\mathbf{w}}$	2	2.0	1.4	2	2.4	1.4	1	0.7 0.7
4 ¹ _w	1	1.0	0.7	0	0	0	1	0.7 0.7
$5^1_{\mathbf{w}}$	0	0	0	1	1.3	0.7	2	1.4 1.4
6 ¹ _w	0	0	0	3	4.5	2.0	5	3.4 3.2
$7^1_{\mathbf{w}}$	0	0	0	3	5.6	2.0	9	6.6 6.0

注 播種後50日目までの調査による.

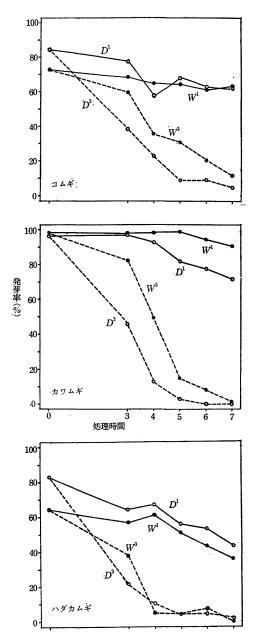


第1図 処理の条件と発芽率の関係-水稲-乾燥種子 30°C,2% 乾燥種子 10°C, 2% D^{1} D^{i} 湿潤種子 湿潤種子

があった. そしてこれらの変異は、 xantha. albino な どを除いて, 発現後しばらくして除々に消えていった.

以上の実験の結果を図示したのが,第1~第3図であ る. これらの図で明らかなとおり、EI処理の発芽に及 ぼす影響は、一口にいうと、湿潤種子よりも 乾 燥 種子 で,低温よりも高温で,低濃度よりも高濃度で,短時間 よりも長時間で、大きく現われているといってよい。

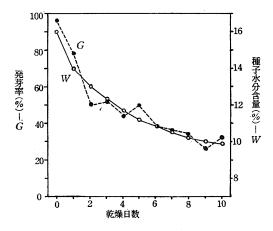
これらの要因のうち,種子の乾湿については,稲に対 するジエチル硫酸などの処理, 大麦に対するエチレンイ ミン処理などの若干の同様の報告が既にある. しかしこ れらの実験では、本報の第1実験と同様な乾湿両対照条 件の設定だけであった。これに対して第3実験では、種 子の水分含量を連続的に異にするものにEI処理を行な



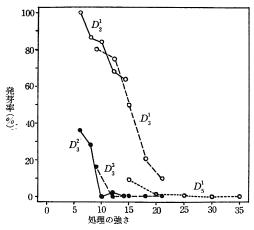
第2図 処理の条件と発芽率の関係一麦類一 D¹ 乾燥種子, 10°C, 0.15% 湿潤種子, 10°C, 0.15% ″ ,30°C, ″

ったのであるが、発芽率は全く平行して増減する結果を 示した (第3図). この理由は何といっても, 低水分含 量種子の方が高水分含量種子よりも同一時間内に多量の 薬液を吸着し得ることにあると考える.

なお作物別に検討すると,種子の乾湿の影響が最も強



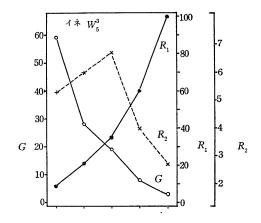
第3図 種子水分含量の相違と発芽率の変化

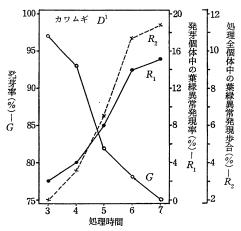


第4図 温度系列別の処理の強さと発芽の関係 記号は第1図と同一(D³は発芽率は全区0)

く現われるのは水稲で、皮麦これにつぎ、小麦・裸麦は比較的乾湿による差が少ない。これは作物の種類による種子の生理的機能の差によるものであろうが、単純には吸水速度の相違とか、稲種子における籾殻とか皮麦種子における外皮(類)の存在が、その原因となっているのかも知れない。これと別に第2図でも分るように、小麦および裸麦は標準区の0時間処理で湿潤種子の方が低発芽率を示したが、これは湿潤貯蔵により30%以上の高水分含量となったこと自体が、発芽力を失わせる原因となったものと解される。

つぎに高温処理が低温処理よりも発芽が低下したが、その原因としては、高温下に種子内部の物質たとえば酵素などの働きがより活性化することの外に、元来有毒性であり安定性を欠くEIが、高温下で変性して有毒性を増したり種子細胞内に侵入し易くなったりすることが考





第5図 処理の強弱と葉緑異常発現程度 W_5^3 , D_1 は第1, 2図と同-

えられる。作物の種類と処理温度の関係は,種子の乾湿 と反対に,水稲の方が麦類よりも高低の差が少ない。

上述の種子の水分含量とか処理時の温度は、処理の効果を左右するいわば2次的要因である。それに先立つ1次的要因として当然考えられるものに処理の強さがある。そして処理の強さは、濃度と時間の積として現わすことができる。その場合、濃度と時間はそれぞれ異なっていても積の数値が等しければ、果して同一効果を示すものであろうか。

濃度・時間の組合せの多い第 $1 \cdot 第 2$ 実験の水稲について、処理の強さ=濃度×時間×10として、まとめた結果が第 4 図である。これによると、他の要因こゝでは処理温度が同一である限り、処理の強さが等しければ発芽率はほゞ等しい。そして 10° C 群と 30° C 群が、それぞれ別個の系列をしてまとまって推移している。こゝでは第

1・第2実験に共通した乾燥種子についてだけしかまと め得なかったが, 湿潤種子すなわち種子水分含量を異に することにより又別の系列が示されることであろう。そ して処理温度および種子の水分含量の異なることによる それぞれの系列の回帰線が、更に実験を進めていくこと により得られるものと考えられる。 つまりこれらの間の 関係はつぎの式で与えられる.

発芽率= $f(D\times T\times$ 処理の強さ)

D:種子水分含量系列の相違による常数

T:処理温度系列の相違による常数

もちろんこれ以外に他の要因、たとえば種子の年令な ども考慮に入れる必要がある訳で, それにより別個の系 列が明らかにされよう. いずれにせよ突然変異誘起のた め化学物質による処理を行なう際に、 LD50 を目標にす るには、上記の系列のどれに属するかを知れば、おのず から処理の強さは定まってくるというものである.

つぎに発芽数中の葉緑異常個体発現の割合は,長時間 ・高濃度・高温処理ほど、また乾燥種子ほど高くなる傾 向が認められた。ところがこのような傾向は、既述の通 りに、発芽率の傾向とは逆行するものである。第5図は 水稲と皮麦の一部のシリーズを示したものであるが、G・ R_1 の両線がX字状に交っているのはこれを物語ってい る. すなわちある処理において,多くの発芽個体を得れ ばその個体中の異常個体の発現程度は低く、その発現程 度が高ければ致死率の増大が伴なって多数個体を残さな い。 これは放射線照射などの突然変異発現の場合と同様 である. したがってその異常個体が当初の処理全数の何 %出現するかということが問題となる。これを葉緑異常 発現歩台とすれば, この数値は発芽率と発芽個体中の異 常発現率の積として表現できる(第10表・第11表)。とこ ろが両率は相反する傾向線であるため、両者の積である 葉緑異常発現歩合は、どこかに1つの山のある2次曲線と なるはずである(第5図). すなわちどこかに maximum があるわけで、処理に際しては、上記の系列ごとに、 max. が出現し得る処理の強さをおさえて実施すること が極めて必要となる。このことは、 M_2 以後の真の突然 変異個体の出現に際してもいえるであろう.

摛 要

化学物質による突然変異誘起で,処理される作物側の 内的要因と, 処理手段側の外的要因との種々の相違が, どのような効果の差をもたらすかを知る目的で 実験 し た. 供用した化学物質はエチレンイミンで, 供試作物は 水稲・小麦・裸麦皮麦である.

- 1. 内的要因の一として種子の水分含量を変え、乾燥種 子と湿潤種子を用い,外的要因の一として処理温度を高 温(30°C)と低温(10°C)とし、これに処理濃度を0.15 ~0.5%, 処理時間を最高7時間までとして, これらの 組合せによる試験区で実験した.
- 2. 種子の発芽に及ぼすEI処理の障害は、種子の水分 含量の少ないほど、また処理温度が高いほど大きかっ た. このうち水稲では種子の乾湿が、麦類では温度の高 低が効果上の大きな差をもたらした.
- 3. 処理時間と濃度の異なりでは、処理の強さ(=濃度 ×時間)の等しい限り発芽率はほゞ等しく,一定の関係 が認められた. それらの関係は, 処理温度および種子の 乾湿条件により支配されており、これらの要因の相違ご とに別個の系列を形成することがうかがわれた。
- 発芽個体中の葉縁異常個体の発現率は、発芽率と逆 比例的関係にあり,乾燥種子,高温処理,高濃度処理, 長時間処理ほど高くなった. したがって処理全個体に対 する葉緑異常の発現率は,処理の強さに対して極大点の 1つある2次曲線状を呈した。

引用文献

- 1. HILDERING, G. J.; Euphytica 12(1): 113-120, 1963
- 2. 松尾孝嶺:育種学 1959 養賢堂, 東京 p.232
- 松尾孝嶺・小野沢芳郎・塩見正衛:育雑14(3):173 -176, 1964
- 4. 佐藤尚雄・河合武:第28回育種学会講演要旨:46, 1965
- 赤藤克己・山県弘忠・古川孝夫:育雑14(3):206— 211, 1965
- 6. 山県弘忠・赤藤克己・古川孝夫:育雑15(4):263-270, 1965

Summary

On inducing artificial mutation with ethylene-imine, the effect of inner and outer factors, differed in degree, had been studied, using rice, wheat and barley.

- 1. Poor water content (ca. 9%) of seeds after dry storage or high temperature (30°C) of treatment showed the decrease of germinating ability by the soaking treatment of ethylene-imine. And the former had rather more influence in rice, the latter in wheat and barley.
- 2. The intensity of treatment, concentration of solution x treated hours, were to decide germination percentage relatively. Then high (30°C) or low (10°C) temperature made another definite series in their relationships.
- 3. Various kinds of chlorophyll variation of M1 seedlings appeared more under the treatments of drier seeds, higher temperature, higher concentration and longer hours.