Hirotsada YAMAGATA, Katsumi SYAKUDO and Takao FURUKAWA: Studies on the utility of artificial mutations in plant breeding. V. Mutagenic effects of several chemicals on rice. (With English summary, p.270) Jap. J. Breeding Vol.15, No.4. 1965

人為突然変異の利用に関する育種学的研究

V. 水稻種子の化学物質処理による突然変異の誘起について*

山県弘忠・赤藤克己・古川孝夫

(京都大学農学部)

I. 緒 言

γ 線あるいはX線などの電離放射線が育種上有効な突然変異の誘起源であることはすでに疑いのないところであるが、多くの報告からもうかがえるように、遺伝物質に対する作用機作から考えて、変異の誘起率、誘起変異のスペクトラムなど、変異誘起の能力にはある程度の限界が感ぜられる。もちろん、放射線の種類や照射の方法などに工夫をこらすことによつて、その限界をある程度向上させる余地は充分あると考えられるが、一方、細胞核と細胞質間の平衡を破つたり (KOLLER, 1949) 核に直接作用することによつて (AUERBACH, 1961) 遺伝的変異を生ぜしめるような化学物質を用いて、放射線より効果的に突然変異を誘起することも可能ではないかと考えられる。

化学物質による突然変異の誘起に関しては、AUERBACH (1940) 以来数多くの研究が行なわれ、その結果突然変異誘起作用の認められた物質の種類もきわめて多い。もつとも高等植物については、いまだ比較的限られた物質が用いられているにすぎないが、大麦ではいくつかのアルキル化物質が電離放射線にくらべてかなり高い突然変異率を示したり、変異のスペクトラムを異にしたることが確かめられている (EHRENBERG *et al.*, 1957, 1958, 1959, 1961) ほか、特定の遺伝子座に選択的に作用しやすい性質 (FAVRET, 1960b) を利用して遺伝子座を同定することも試みられており (LUNDQVIST *et al.*, 1962), またアルキル化物質以外でも、たとえばフォルムアルデヒドによつてウドンコ病抵抗性変異体が誘起されている (FAVRET, 1960b)。このような化学物質の突然変異誘起効果は大麦のほか小麦 (D'AMATO *et al.*, 1962), ソラマメ (SJÖDIN, 1962), トウモロコシ

(GIBSON, 1950) などでも認められており、水稻においても、山口 (1958) はマスタード物質に突然変異誘起作用のあることを、西村ら (1963) は一、二のエチレン誘導体が高い頻度で葉緑変異体を生ぜしめることを報告している。このように化学物質による突然変異の誘起にも大きな希望が持たれる。しかし、多くの作物ことに水稻では用いるべき化学物質の種類、処理の方法その他がほとんど不明のままに放置されている。

以上の現状ならびに観点から、著者らは育種上効果的な突然変異の誘起法を明らかにする一端として、放射線処理に引続き化学物質による誘起法の研究に着手した。本報はその第1段階として、他作物でも比較的高い誘起効果の認められている二、三のアルキル化物質を含む数種の化合物を水稻の乾燥種子に作用させて、各化学物質の誘起効果を、処理当代の障害ならびに次代の葉緑突然変異の出現状態について述べたものである。

なお使用化学物質の一部は京大農薬化学研究室で合成して頂いたものである。ここに厚く御礼を申し上げる。

II. 実験材料および方法

水稻品種銀坊主の乾燥種子を、第1表に示す6種類の化学物質の種々の濃度の溶液に、第2表に示す如く一定時間浸漬して処理を行ない、同時に、放射線との違いをみるためにX線の照射を行なつた。

使用した化学物質はそれぞれ第1表の構造式で表わさ

Table 1. Chemical agents used

1. ethyleneimine (EI)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \end{array}$
2. ethylene oxide (EO)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{CH}_2 \\ \\ \text{O} \end{array}$
3. diethylsulfate (DS)	$\text{C}_2\text{H}_5\text{O} \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{O}$
4. methyl methanesulphonate (MMS)	$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{O} \cdot \text{CH}_3$
5. ethyl methanesulphonate (EMS)	$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{O} \cdot \text{CH}_2\text{CH}_3$
6. propyl methanesulphonate (PMS)	$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{O} \cdot \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$

* 要旨は昭和39年4月7日 日本育種学会第25回講演会にて発表

1964年5月13日受領

れるアルキル化合物であつて、このうち EI, EO, DS は市販のもの、MMS, EMS, PMS は京大農薬化学研究室で methanesulphonyl-chloride と methyl-, ethyl-, または propyl-alcohol とから合成したものである。ここで EI および EO を除く 4 物質は水には不溶性であるが、DS は 25 倍容、他の 3 物質は 5 倍容以上のエチルアルコールに溶解することが認められたので、それぞれ必要最低量のアルコールに溶かしたのち、これを水で稀釈して処理液とした。その結果、処理液中のアルコール濃度は DS が約 25%, MMS, EMS, PMS では約 5% となつたが、別に行なつた種子のアルコール浸漬試験の結果によれば、少なくとも発芽および幼植物の生育に関してはアルコールによる障害は考慮する必要がないと考えられる。なお、処理液量は材料種子容積の 10 倍以上とした。

処理は 1963 年 5 月 25~26 日と 6 月 5~6 日の 2 回に分けて行なつたが、処理設計は第 2 表に示すとおりであつて、化学物質については容積% でそれぞれ 0.01~1% の 9 濃度区を、X 線 (200 kV, 19 mA, 1.0 mmAl フィルター使用、線量率 113~360 r/min) については 5~50kr の 9 線量区を設け、各区に 200 粒 (X 線の第 2 回照射各区は 100 粒) を供試した。ただし MMS については合成収量が少なかつたため、0.4% 以上の濃度区は省略した。なお、X 線は化学物質処理開始直前に終るように照射し、照射種子は無処理の対照区種子とともに化学物質処理と同時に浸種した。

処理ならびに水洗終了後、各濃度区、各線量区 (以下ともに処理区と称する) ごとに供試種子を等分し、一方はシャーレ上で発芽あるいは幼植物の生育状態をしらべ、他方は苗床に播種して処理当代植物を培養した。ただし X 線照射区および対照区の苗床播種には第 1 回処理時のもののみを用いた。

苗床播種の材料については、生育個体の不稔発現の状

態を調べたのち、各処理区より任意に約 30 個体を選抜し、1963 年冬、次代鑑定の一部としてその中の 10 個体について葉緑突然変異の調査を行なつた。調査に際しては、各個体より稔性を異にする 3 穂を選んでそれぞれ 1 系統となし、30°C 自然日長の制御温室を利用して沱紙上で幼苗を培養した。

なお、化学物質処理世代の表示法としてここでは、放射線の場合とおなじく、処理当代を X_1 、次代を X_2 と称することにする。

III. 実験結果

1. X_1 に生ずる処理障害

(1) 発芽および幼苗の生育

発芽ならびに幼苗に現われる処理障害は第 1 図に示すようである。ただし EO の高濃度区、DS の低濃度区の生存率はカビのためこれを確認することが出来なかつた。また EO の 0.4% 以上の処理区には、水洗の不均一が影響しているとみられたので、この部分については以下参考の程度に止めた。

第 1 図においてまず、X 線と化学物質間に大きな違いが認められる。すなわち X 線では 100% 致死の高線量でも発芽率には全く変化が現われないが、化学物質では発芽率、生存率 (生存数/播種数 $\times 100$) は処理量に応じてほぼ平行的に低下する傾向が、また X 線では線量に関係なく発芽が速やかに行なわれるのに対して、化学物質では、種類によつてその程度は異なるが、一般に処理量の増加に伴つて発芽遅延を生ずる傾向が認められる。処理条件の等しいメタンスルホン酸系の 3 物質についてみると、EMS の発芽勢が 1% 近い高濃度でやや低くなるほかは EMS, PMS 両者間に大きな違いは認められないが、MMS の場合、ごく低い濃度で著しい影響が現われ、0.2% で発芽不能の状態となるだけではなく、発芽勢と発芽率の差がきわめて大きく、0.1% 区の発芽個体はすべて播種後 7 日以降に発芽している。つぎに播種後 12~

Table 2. The dosages of chemicals and X rays

Date of treatment	Dosage Agent	% volume concentration (chemicals) or kr dose (X rays)										Time (hr)	Temperature (°C)
(I) May 25~26	Cont. ¹⁾	0										—	—
	X rays	5 10 15 20 25 30 35 40 50										—	17~18
	EI	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	2.5	17	"
	EO	"	"	"	"	"	"	"	"	"	17	"	"
	DS	"	"	"	"	"	"	"	"	"	2	"	"
(II) June 5~6	Cont. ²⁾	0										—	—
	X rays ³⁾	5 10 15 20 25 30 35 40 50										—	20~21
	MMS	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2	—	—	—	—	17	"	"
	EMS	"	"	"	"	"	0.4	0.6	0.8	1.0	17	"	"
	PMS	"	"	"	"	"	"	"	"	"	17	"	"

Number of seeds used.....1): 1,700, 2): 400, 3): 100 respectively,

Others: 200 for each treatment

(I) Treated on May 25~26 (II) Treated on June 5~6
 ● Germination rate at 6 days after treatment
 ○ Germination rate at 21 days after treatment
 △ Survival rate (100×no. of surviving plants/no. of seeds sown)
 × Seedling height at 14 days (I) or 12 days (II) after treatment
 Fig. 1. Direct effects of chemical or X-ray treatment on germination, survival rate and seedling height in rice.

14日の幼苗についてみると、X線を含めて各作因(agent)とも処理量の増加に伴い草丈の低下が認められ、低下の状態は一定の処理量まではほぼ直線的である。また第1図より、LD₅₀処理量はX線が30~35 kr、EIが0.5%

(2.5時間)程度、MMSが0.1% (17時間)程度とみられるが、その他の作因についてはDSが1% (2時間)以上、EMS、PMSがともに1% (17時間)以上と推察されるが詳細は明らかでない。

(2) 種子稔性

成熟後のX₁植物に生ずる著しい処理障害は種子稔性の低下である。放射線の場合とおなじく、化学物質もまたキメラの状態では稔性を発現し、キメラの程度が作因間で特に異なる傾向はみられない。X₁に生ずる不稔の状態を、不稔個体の出現率および個体稔性によって示すと第2図のようである。ここにいう不稔個体とは、多少にかかわらず不稔が誘発されている個体のことを(山県ほか, 1960)、個体稔性とは、1個体内の正常に発育した穂のうち稔性をもつとも良好とみられる1穂、もつとも不良とみられる1穂およびその中間にあるとみられる1穂の各稔性の平均値をもつて表わしたものである。

不稔個体の出現率は各作因とも一般に処理量に対してS字的ないし直線的に増加し、X線では20 kr以上、EI (2.5時間)では0.6%以上、EMS (17時間)では0.8%以上でほとんどすべての個体に不稔を生ずる。また不稔個体のうち、稔性

が20%程度以下の高不稔穂をもつた個体の頻度は第2図に点線をもつて示すように処理量とともに増加するが、不稔個体の出現率とは必ずしも平行的ではなく、DS、MMSではこのような高不稔個体はみられない。

Fig. 2. Effects of chemical or X-ray treatment on the seed fertility of X_1 plants.

つぎに各作因とも、個体稔性が処理量に比例して低下する傾向が認められるが、個体稔性と不稔個体出現率との関係は作因によってやや異なり、X線あるいはEIにくらべてEMSでは不稔個体の増加に対する個体稔性低下の程度は少ない。またMMSの特殊性のため、メタン

スルホン酸系3物質間の比較は困難であるが、不稔個

体の出現率、ならびに個体稔性に対する影響はEMSの方がPMSより大きい。

2. X_2 における葉緑突然変異の出現

MMS処理の次代には葉緑突然変異(以下突然変異と称する)を生じなかったが、MMS以外の各作因については、第3表で示すように処理量に応じて突然変異の出現をみた。各作因間でそれぞれの最高の突然変異率を比較すると、 X_1 穂別突然変異率ではEIの33.3%を最高にX線、EMS、PMS、DS、EOの順に、また X_2 個体別突然変異率ではEIの4.83%を最高にX線、PMS、DS、EMS、EOと続いており、実験範囲では突然変異率に関するかぎりEIの効率がもつとも高い。また第3表でalbina以外の変異体とはviridis(EI、PMS)、albo-viridis(EI、EMS)、xantha(EMS)およびstriata(EO)であつて、X線ならびにDS処理では得られなかった。

なお、突然変異が出現した X_2 系統について、突然変異体の系統内出現率を各作因ごとに示すと第4表のようであつて、各作因とも系統内出現率の範囲は類似しており、平均値ではX線がやや高くEMSがやや低くなつてゐる。ただし、各作因内では処理量による増減の傾向は認められなかった。

つぎに第3図は突然変異率が X_1 穂の稔性によってかわるかどうかをみたものであつて、EIの場合、 X_1 穂の稔性が25%程度および75%程度のところで突然変異率がやや高くなる傾向がうかがわれるが、一般に

各作因とも突然変異率と X_1 穂稔性との間には特定の関係は認め難い。

IV. 考 察

化学物質の突然変異誘起効果のちがいを処理量(濃度、時間、温度)によつて直接比較することは、育種の面からすればあまり意味がない。したがつてここでは突然変

Table 3. Chlorophyll mutations in the X_2 generation

Agent and dosage		No. of panicle progenies	No. of seedlings	Mutated				Mutation rate	
				panicle progenies	seedlings			a ²⁾	b ³⁾
					albina	others ¹⁾	total		
X-rays	5 kr	30	1,349	1	9	—	9	3.3 %	0.67 %
	25	30	949	1	10	—	10	3.3	1.05
	30	26	495	1	10	—	10	3.8	2.02
	35	26	500	6	12	—	12	23.1	2.40
E I	%								
	0.1	30	1,239	2	14	—	14	6.7	1.13
	0.2	30	1,101	1	3	—	3	3.3	0.27
	0.4	30	1,099	8	35	16	51	26.7	4.64
	0.6	15	299	5	10	—	10	33.3	3.34
	0.8	11	145	1	—	7	7	9.1	4.83
EO	0.2	30	1,337	1	—	3	3	3.3	0.24
DS	0.8	30	1,370	4	30	—	30	13.3	2.19
EMS	0.4	30	1,257	2	6	—	6	6.7	0.48
	0.8	30	1,215	5	15	2	17	16.7	1.40
	0.8	30	1,195	2	—	3	3	6.7	0.25
	1.0	30	1,157	1	13	—	13	3.3	1.12
PMS	0.6	30	1,264	4	5	4	9	13.3	0.71
	0.8	30	1,211	2	10	—	10	6.7	0.83
	1.0	30	1,102	5	24	1	25	16.7	2.27
Cont.	—	105	5,245	—	—	—	—	0.0	0.00

1) viridis, albo-viridis, xantha, or striata

2) Mutations per X_1 -panicle progeny (%) 3) Mutants per X_2 seedlings (%) Fig. 3. Relation between the mutation rate and the fertility of the X_1 panicle.

異誘起効果を、各作因に共通した標準、すなわち X_1 に現われる障害程度との関係より検討したい。このため各作因ごとに、突然変異率と二、三の X_1 障害との関係を図示すると第4図のようである。突然変異率は、 X_1 穂別の場合と X_2 個体別の場合とで処理量に対する増減傾向をやや異にするが前述のように突然変異の出現率が、作因間、処理量間でとくに異なる傾向がないので、ここでは前者を中心として総合的に考察することにする。

まず、X線の 35 kr 照射区でとくに高い突然変異率がみられるが、 γ 線種子照射の結果(山県ほか, 1960)とあわせ考えると、これは供試系統数が充分でなかったことによるやや偏った現象ではないかと考えられる。

つぎに EI では X_1 の生存率、稔性の状態からみて、17~18°C 2.5時間の処理条件下では1%以上の濃度を適用することは無意味であり、突然変異出現の傾向からすれば0.4~0.6%程度の濃度処理が適当と考えられる。すなわち EI では LD_{50} 程度の処理が適しているといえる。

DS(17~18°C, 2時間)では、0.8%区に比較的高い変異率がみられる。しかし、最高濃度1%区でも X_1 の生存率、稔性にはほとんど影響がなく、したがって DS のもつ突然変異誘起効果の決定には、EI の場合のように次代種子の採種可能限界まで処理量を増加する必要がある、このためにはおそらく本実験の10倍程度の処理量を要するのではないかと推察される。RIEGER *et al.* (1960) は、エチルアルコールに radiomimetic effect があつて $10^{-1}M$ 以下の濃度で染色体に異常を起させることを報告しているが、第3図および第4図の DS 処理区にみられる、処理濃度と密接な関係のない不稔個体の出

Table 4. Frequency of chlorophyll mutants in mutated X_1 -panicle progenies

Agent	No. of mutated X_1 -panicles	Frequency of mutants (%)	
		Range	Mean
X-rays	9	7.7~27.3	19.33
EI	17	5.3~31.8	15.19
EO	1	—	(6.1)
DS	4	2.9~34.8	16.25
EMS	10	2.1~28.3	10.08
PMS	11	2.3~26.9	13.21

Fig. 4. Relation between the mutation rate in the X_2 generation and the injury in the X_1 generation.

現は、このようなアルコールの影響によるものかも知れない。いずれにしても本実験のようにアルコールを溶媒としてこれを水で希釈する方法を用いる限り処理液濃度を高めることは必然的にアルコールの濃度を高くすることになるので処理には不適当かと思考される。

EMS (20~21°C, 17 時間) においては、0.8~1% 区では不稔個体の出現率は 90% を越えるが、その割合に個体稔性の低下は X 線あるいは EI より少なく、ことに X_1 の生存率にはほとんど影響が現われていない。したがって EMS のもつ突然変異誘起効果の決定には第 4 図の傾向からみて本実験の 2 倍程度の処理量を要するものと推察される。

PMS (20~21°C, 17 時間) では、 X_1 障害や突然変異出現の傾向が EMS とかなり類似しているが、同濃度の場合にくらべて不稔個体の出現率が少なく、個体稔性の低下もまた僅かであつて、突然変異誘起効果の決定には EMS 以上の処理量を要するものと思ふされる。

EMS あるいは EMS とおなじくメタンスルホン酸エステルで、しかも発芽勢、発芽率あるいは生存率に著しい影響を与えた MMS が、生存限界に近い処理区においてすらほとんど稔性に異常を来たさず、かつ全く突然変異を誘起しないのは予想外であつた。これはメチル基の反応が強くなりすぎ、核に対して選択的に作用する余地がなかつたためとも考えられるので、処理の方法によつては有効な誘起源となる可能性もあるのではないかと考えられる。なお EO については、前述のように処理後の水洗に欠陥があつたとみられるので、詳細は再検討にまたねばならない。

以上のように、X 線および EI 以外の各作因については、突然変異誘起の効果に関して最適処理量を決定し得るまでには至らなかつたが、水稻に対する遺伝子突然変異の誘起には、すくなくとも EI, EMS, PMS は X 線よりもかなりすぐれた効果を持つていないかと考えられる。

V. 摘 要

1. 化学物質による突然変異誘起の効果をj知るために, ethyleneimine (EI), ethylene oxide (EO), diethylsulphate (DS), methyl methanesulphonate (MMS), ethyl methanesulphonate (EMS) および propyl methanesulphonate (PMS) の各溶液 (0.01~1%) を用いて水稻品種銀坊主の乾燥種子に処理を行ない, X線照射 (5~50 kr) との比較を行なつた。本報は処理当代 (X_1) の障害と次代 (X_2) の葉緑突然変異の出現について述べたものである。

2. X_1 の発芽率と生存率との関係は化学物質と X線とでは著しく異り, X線では 100% 致死の高線量でも発芽率に異常はないが, 化学物質では両者はともに処理量の増加にともなつて減少する傾向があり, MMS, EI などでは発芽遅延が著しい。

3. X_1 稔性の低下は各作因とも処理量に対して直線的であるが, 不稔個体出現率との関係は一様でない。

4. MMS を除くすべての作因が葉緑突然変異を誘起し, 本実験の範囲では X_1 穂別突然変異率, X_2 個体別突然変異率ともに最高値は EI 処理区にあり, それぞれ 33.3%, 4.83% を示した。

5. 突然変異率と X_1 障害との関係から, EI は LD_{50} 程度の処理が適当であり, その他の化学物質は処理方法を究明することによつてさらに高い突然変異率が期待されるが, すくなくとも EI, EMS, PMS は X線よりすぐれた誘起効果を有するものと考えられる。

参 考 文 献

- AUERBACH, C. 1940. Test of carcinogenic substance in relation to the production of mutations in *D. m.* Proc. Roy. Soc. Edinb. 1940.
- 1961. Chemicals and their effects. Mutation and Plant Breeding. Washington, D. C. 1961: 120—144.
- D'AMATO, F., G. T. SCARACIA, L. M. MONTI and A. BOZZINI 1962. Types and frequencies of chlorophyll mutations in Durum wheat induced by radiations and chemicals. Rad. Bot. 2: 217—239.
- EHRENBERG, L. and Å. GUSTAFSSON 1957. On the

mutagenic action of ethylene oxide and diepoxybutane in barley. Hereditas. 43: 595—602.

———, ——— and U. LUNDQVIST 1959. The mutagenic effects of ionizing radiations and reactive ethylene derivatives in barley. Hereditas 45: 351—368.

———, ——— and ——— 1961. Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. Hereditas 47: 243—282.

———, U. LUNDQVIST and G. STRÖM 1958. The mutagenic action of ethyleneimine in barley. Hereditas 44: 330—336.

FAVRET, E. A. 1960 a. Spontaneous and induced mutations of barley for the reaction to mildew. Hereditas 46: 20—28.

——— 1960 b. Somatic mutations of four genes for albinism in barley induced by X-rays and ethyl methane-sulphonate. Hereditas 46: 622—634.

GIBSON, F. G., R. A. BRINK and M. A. STAHPMANN 1950. The mutagenic action of mustard gas on *Zea mays*. Jour. Hered. 41: 232—238.

KOLLER, P. C. 1949. The genetical effects of chemical agents on the cell. Hereditas (Suppl.) 1949: 320—324.

LUNDQVIST, U. and D. von WETTSTEIN 1962. Induction of eceriferum mutants in barley by ionizing radiation and chemical mutagens. Hereditas 48: 342—362.

西村米八・石井幸夫・成保俊一 1963. 薬剤による稻の葉緑素突然変異, 育雑, 13: 198.

RIEGER, R. and A. MICHAELIS 1960. Über die radiomimetische Wirkung vom Äthyl-alkohol bei *Vicia faba*. Chemische Mutagenese, Berlin 1960: 54—65.

SJÖDIN, J. 1962. Some observations in X_1 and X_2 of *Vicia faba* L. after treatment with different mutagens. Hereditas 48: 565—586.

山県弘忠・赤藤克己 1960. 人為突然変異の利用に関する育種学的研究 I. 水稻の r 線感受性ならびに照射次代に得られた可視的変異について, 育雑, 10: 153—162.

山口彦之 1958. 水稻乾燥種子の Mustard 物質および X線処理による突然変異について, 育雑, 7: 179—185.

Summary

The mutagenic effects of six chemical compounds, ethyleneimine (EI), ethyleneoxide (EO), diethyl-sulfate (DS), methyl methanesulphonate (MMS), ethyl methanesulphonate (EMS), and propyl methanesulphonate (PMS), were studied in rice. Dry seeds of the rice variety "Gimbozu" were treated with solutions of these chemicals at various concentrations (0.01~1%), or with X-rays (5~50 kr) for comparison.

In the treated generation (X_1), the chemical agents reduced both the germination rate and the survival rate ($100 \times \text{no. of surviving plants} / \text{no. of seeds sown}$) and also delayed the speed of germination, whereas X-rays had no apparent effect on the germination behavior even at the high doses when no plants survived (Fig. 1).

The chemical agents as well as X-rays induced chimerical sterility. The fertility of the X_1 plants

linearly decreased as the dosage of each agent was increased (Fig. 2).

Chlorophyll mutations were induced by all of the chemical agents except MMS. Within the limit of the dosage used in the present experiment, the maximum rates of chlorophyll mutation, 33.3% per X_1 -panicle progeny and 4.83% per X_2 seedlings respectively, were obtained at about the LD_{50} -dosage of EI.

Although the most effective dosages for the other chemical agents could not be determined, the mutagenic effects of EMS and PMS seemed to surpass those of X-rays. (Table 3, Fig. 4)

These results suggest that a higher mutation rate may be obtained from a more proper application of the chemical agents and that at least EI, EMS and PMS are more effective mutagens than X-rays in rice.