Yasuo UKAI : STUDIES ON VARIETAL DIFFERENCES IN RADIOSENSITIVITY IN RICE. IV. Modification of Varietal Differences with Soaking of Seeds before Irradiation. (With English summary, p.266). Japan. J. Breeding Vol.18, No.5, 1968

Synopsis Dose-response curves for root growth could be approximated by the same general function as for dry seeds. Correlation of the sensitivity between soaked and dry seeds was significant with soaking up to 24 hours. The change in the sensitivity with increase in soaking time from 1 to 6 hours and with drying-back of seeds showed high negative correlation to the sensitivity in dry seeds.

稲における放射線感受性の品種間差異 に関する研究

Ⅳ 種子の照射前浸漬による品種間差異の変動

鵜飼 保雄

(東京大学農学部)*

序 言

放射線に対する感受性が、同じ植物でも品種または系統によつて、量的または質的に著しく異なることは、かなり以前から知られており (JOHNSON 1933 ; SMITH 1942) すでに多くの植物で報告されている。既報の通り栽培稲 (*Oryza sativa* L.) の品種の気乾種子に γ 線又は X 線を照射した場合にも、その後の生育過程で表現される諸形質での放射線効果に感受性について大きな品種間差異が認められた。また、品種間差異は、判定基準とした形質によつて特異的な行動を示した (鵜飼, 1967, 1968 a, b)。

既報の結果より、さらに、放射線感受性のこのような品種間差異の機構を解明することが課題となるが、そのためには照射における諸種の条件を変えた場合に品種間差異がどのように変動するかを調べることは解明への一つの有力な接近方法であると考えられる。

そこで、今回は変動条件として、種子照射において感受性を著しく変えることがよく知られている照射前浸漬をとりあげ、根長感受性の品種間差異が浸漬によつてどのように変化するかをたずねた。

ここで、品種間差異の認められた形質中、とくに根長をえらんだのは、単にこの形質が測定が容易でかつ照射後短時日に結果が得られるからだけでなく、線量反応曲

線が厳密に同反応型 (CR-type, 第1報参照) であり、かつその近似式が一つの明確な関数として求められている。数量的な表示がきわめて正確に行なえることが一つの理由である。さらに、突然変異を除いて、品種間差異を示した他の形質—草丈、鞘葉長、分裂細胞割合—での感受性が根長感受性と密接な相関をもつことから、根長感受性について得られた実験結果は、根長1形質だけでなく、それらの関連ある形質についての情報としてもよく役立つと考えられたからである。

なお、ここで、照射条件による感受性の変化と、品種間における感受性の差異とを区別して表現するため、前者を条件感受性、後者を品種感受性とよぶことにする。すなわち、或品種または諸品種全体の照射条件による放射線感受性の変化を問題にすると、一定の標準条件での結果を基準としてそれと比較して表わした感受性を条件感受性とよぶ。ここでは標準条件として、相対湿度75%の空气中に2週間以上種子を置いてから照射した場合をとることにし、これを「RH75」の条件と記すことにする。一方、品種感受性は、一定の照射条件での品種間の相対的な感受性の大きさをいう。条件感受性および品種感受性ともに、放射線効果の判定基準としてえらぶ形質ごとに定義されるべきものである。

この研究を行なうにあたり、終始懇切な御指導および御鞭撻を頂いた東京大学農学部育種学教室松尾孝嶺教授に心から感謝の意を表する。

材料と方法

栽培稲の品種より、気乾種子照射での根長感受性が異

* 現所属、農林省放射線育種場

この論文は、1965年度東京大学農学部提出された学位論文の一部である。

1967年3月20日受領

なる品種をえらび、その種子を種々の時間、蒸溜水中に浸漬後X線を照射して、浸漬開始後96時間目における種子根長を測定した。浸漬および照射後の発芽と生育はすべて $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 暗黒の恒温器中で行ない、浸漬は試験管中で、また照射後生育は沱紙を敷いたシャーレ中で行なった。浸漬時間が12時間以上の場合は浸漬開始から5時間、浸漬が6時間以下の場合は照射後の5時間、ウスプルンによる種子消毒を行なった。照射にあたっては、種子を各区30粒ずつ径42mmの小シャーレに入れ蒸溜水を4cc加え、その水中のまま室温 $13 \sim 16^\circ\text{C}$ で照射した。X線は190kVp, 25mAで1.0mm Al フィルターを通して、500R/分の線量率で与えた。根長に対する効果は、第1報の場合と同じく、各区での平均根長より3mmを差引いた残りについて、対照区に対する割合で示した（以下これを Er と記す）。なお、他の実験条件については、実験結果とあわせて述べる。

結 果

まず3品種をもちいて、予め24時間浸漬後、5～15

Fig. 1. Dose-response curves for root growth in three rice varieties after X-irradiation of seeds soaked for 24 hours. ○ Senshō; ● Muyōzetsu-tō; ◐ Shimotsuki

Fig. 2. Root length as a function of dose D divided by D_{50r} (the dose at which Er is 0.5) and an approximate curve for the observed points. ○ Senshō; ● Muyōzetsu-tō; ◐ Shimotsuki

kR を照射して、根長の線量反応曲線を求めた（第1図）。図のように供試した品種すべてにつきシグモイド型の曲線となることが見られた。品種間差異は浸漬種子でも認められ、その順位も気乾種子の場合と同じであつたが、品種間での相対的差異は比較的小さかつた。

さらに、各品種で Er が 0.5 になる線量 D_{50r} を求め、その D_{50r} を単位として測つた線量に対して Er をプロットした（第2図）。これより、線量反応は品種の感受性の差に関係なく一定の型の曲線を示すことが認められ、さらに、気乾種子の場合と全く同じに次の関数が線量反応曲線の近似式として有効に成立つことがわかつた。

$$Er = 1 - (1 - e^{-KD})^4 \quad (1)$$

ここに D は与えられた線量、 e は自然対数の底、そして K は品種に固有の定数で、浸漬種子での品種の根長感受性の測度となるものである。浸漬種子においても少なくとも24時間までの浸漬では、気乾種子の場合と同じ線量反応曲線が有効であることから、浸漬種子の条件感受性の表示も、 K の値によつて正確に行なえることがわかり、以下の実験ではすべて感受性は K 値によつて表わすことにした。

つぎに、浸漬時間の増加による感受性の変化を見るため、「RH 75」における根長感受性が互いに大きく異なる2品種、戦捷およびシモツキを用い、1, 6, 12, 24 および 48 時間浸漬した種子にX線を照射した（第3図）。これにより、一般に、浸漬時間の増加に伴ない放射線感受性の著しい増加が見られた。唯1～6時間の区間では例外的で、感受性の小さい戦捷ではごく僅かながら感受性の増加がみられたのに対し、感受性大の品種シモツキでは逆に明らかな減少が認められた。品種

Fig. 3. Change in the radiosensitivity with the increase in soaking time before irradiation. ○ Senshō; ● Shimotsuki

間の感受性の順位は、24 時間目までは「RH 75」の場合と同じであるが 48 時間目に至ると逆転した。2 品種間の感受性係数の比は浸漬によつて 1 時間目に気乾種子の場合より増加した後は急速に減少した。以上より、浸漬に伴う感受性の変化は品種および浸漬時間により特異な行動をとることがわかる。

なお、この実験と関連して、予備的に 2 品種をえらび、1 および 3 日間浸漬した種子に ^{137}Cs γ 線を 51 R/分の線量率でそれぞれ 10 および 5 kR 与えて、10 日目草丈の抑制程度を品種間で比較した (第 1 表)。この表

Table 1. Comparison of the sensitivity with respect to the reduction in plant height between two rice varieties after γ -irradiation of soaked seeds.

Soaking period	Exposure dose (kR)	Plant height* Senshō	Muyōzetsu-tō
1 day	10	.729	.797
3 day	5	.630	.700

* fraction of control height.

† The dose at which plant height as fraction of control is 0.5 after γ -irradiation of dry seeds is 48.8 and 32.6 kR for Senshō and Muyōzetsu-tō, respectively.

より草丈感受性はすでに 24 時間の浸漬で感受性が逆転し、3 日目でもその逆転した順位が保たれることが認められる。ただし、品種間差異はこの場合も気乾種子での草丈感受性差異に比べて両浸漬区とも非常に小さい。

75 RH での感受性の品種間差異のパターンが、浸漬時間によつてどう変化するかを、より広範囲の品種で調べるため、7~10 品種を用いて 12, 24 および 48 時間浸漬後、それぞれの場合で 15, 10 および 6 kR の X 線を照射した。用いた品種は戦捷、陸稲農林モチ 1 号、越路早生、紫稲、黄金錦、金南風、無葉舌稲、ハマユウ、シモツキ、シロガネである。各浸漬区で品種感受性 (K 値) を求め、RH 75 の場合との相関を求めた (第 4 図)。

その結果、12 および 24 時間区では相関は非常に高く共に 1% 水準で有意であつたが、48 時間区になると相関係数は負値を示し有意でなかつた。なお、感受性の浸漬による増加を、用いた品種全体での平均で見ると、12, 24 および 48 時間区でそれぞれ RH 75 の場合の 1.8, 2.9, および 4.7 倍であつた。ただし、これはおおその目安であり、その増加率は個々の品種によつて大きく異なつていた。

第 3 図において、1~6 時間の浸漬時間区で、感受性の小さい戦捷では感受性が増しているのに、感受性の大きいシモツキでは逆に減少している。このような条件感

Fig. 4. Relationship between the relative radiosensitivities of rice varieties in dry seeds and those in seeds soaked for 12, 24 and 48 hours.

Fig. 5. Change in the sensitivity (K) with increase of soaking time from 1 to 6 hours as a function of the sensitivity in dry seeds. Each point represents one variety.

受性についての 2 品種間の行動のちがいが、RH 75 での感受性の差と関連があるのかどうかを調べるため、さらに多くの品種で 1 または 6 時間浸漬した種子に 20 kR

のX線を与えて、浸漬時間の増加による感受性の変化を求めて RH 75 でのK値に対しプロットした。用いた品種は、戦捷、シモツキ、無葉舌稲、陸羽132号、ハマユウ、越路早生、農林25号、陸稲農林12号、大黒紫、陸稲農林モチ1号、新栄、農林1号、農林20号、南国早生、ワセニシキ、巴勝である(第5図)。これより、例外的な行動を示した2品種を除けば、1~6時間の区間での感受性の増加量と、RH 75 での感受性とは高い負の相関があり ($r = -0.844$, $P < 0.01$)、感受性の大きい品種ほど、6時間区間で感受性の減少が著しいことが分った。例外的な2品種、農林20号と大黒紫(図には示されていない)は、一般的傾向とは全く異なる行動を取り浸漬による感受性の増加が特異的に大きかった。なお、大黒紫は「RH 75」での感受性係数値は 8.99×10^{-2} で、浸漬によるKの変化量は 6.47×10^{-2} であった。

最後に、上記にみられたような浸漬による条件感受性の変化の品種間での特異的差異が、浸漬種子だけに存在するのか、それとも一度生じた感受性の変化はその種子を再び気乾状態に戻してもなお残存するものかを調べた。すなわち、11品種を用い1カ月間以上予め RH 75 の条件においた後、各品種32粒ずつとり、ゴム栓をした試験管中の蒸留水中に12時間浸漬した。浸漬後、濾紙で水分をよく拭取ってから再び14日間 RH 75 に保つてからX線を照射した。別に対照区として、不再乾+不照射、再乾+不照射、不再乾+照射の3区を設けた。以下、この実験方法のように、浸漬後再び気乾状態におく操作を再乾(dry-back)、またその処理をした種子を再乾種子とよぶことにする。第6図は再乾種子と気乾種子との感受性の差を、気乾種子での感受性に対してプロットしたものである。用いた品種は、戦捷、無葉舌稲、ハマユウ、シモツキ、越路早生、陸羽132号、農林1号、陸稲農林12号、大黒紫、農林25号、新栄である。

この図より両者の間には非常に高い負の相関が存在することが認められる ($r = -0.973$, $P < 0.01$)。また、感

Fig. 6. Relationship between change in the radiosensitivity with drying-back of seeds and the sensitivity in dry seeds. Each point represents one variety.

Table 2. The influence of drying-back on root growth of non-irradiated control

	Variety (mm)						
	1	2	3	4	5	6	7
control	56.0	68.7	66.4	55.9	46.6	64.7	68.5
dry-back	54.4	78.1**	67.1	52.1	49.1	61.7	64.1

Variety-1, Koshiji-wase; 2, Rikuu No. 132; 3, Nōrin No. 1; 4, Rikutō-Nōrin No. 12; 5, Daikoku-murasaki; 6, Nōrin No. 25; 7, Shinēi

** represents significance at 1 per cent level.

受性係数が7を超える品種でだけ、再乾による感受性の減少が見られる。なお、感受性小の品種でも再乾による感受性の変化が0にはならず正の値をとりかつ感受性の大きさに応じてその品種群の中で負の相関の傾向が観察された。

再乾種子の感受性と関連して、上記の結果での再乾の操作によつて対照区での根長が変化するかどうかを調べた結果(第2表)7品種中1品種を除いて、再乾区と不再乾区で有意差が認められなかった。その後さらに少なくとも24時間浸漬までは、浸漬後気乾状態に戻せばその根長は浸漬を全く行なわなかった場合と変りなくなる事が確かめられた。

考 察

種子の照射前浸漬によつて、放射線感受性が著しく変動することはよく知られている。ここに示された通り、稲の場合でも48時間の浸漬で供試品種平均で約5倍に増大した。

根長の線量反応曲線は、浸漬種子の場合でも少なくとも24時間までの浸漬では、同反応型であり、かつ「RH 75」の場合と全く同じ近似式が有効に成立つた。このことは浸漬種子においても「RH 75」の場合と同じ放射線反応過程が根長抑制に働いていることを示唆する。

照射前浸漬という変動条件のように、代謝活性の増大などにより品種感受性に関係ない一般的な条件感受性に変化する場合には、品種感受性因子の働きの変化をそれと区別して考察する方法が見つけがたい。しかし、12および24時間浸漬でも依然として「RH 75」の場合に対して品種感受性の相関が高いことから「RH 75」で働いている感受性因子がなお24時間までの浸漬種子では有効に関与していることが明らかである。このことはまた同時に、「RH 75」での品種感受性は吸水開始時に決定されるものではなく、すでに照射中に決定されていることを示すものであろう。

一方、1~6時間の浸漬時間区間および再乾種子での

条件感受性の変化が、RH 75 での感受性と高い負の相関をもつことから、感受性因子は浸漬種子において「RH 75」における場合のまま保存された状態で働くのではなく、少なくとも浸漬開始 6 時間目までには品種感受性因子の消滅が開始され、ゆつくりではあるがその消滅は浸漬時間とともに進行して品種間差は次第に縮まるのであらうと推定される。それは 12 時間区よりも 24 時間区の方が「RH 75」との品種感受性の相関が小さくなることから、また第 3 図で供試 2 品種間で感受性の比が浸漬時間とともに小さくなることから考えられる。ただし、24 時間区でも品種間差異自体はかなり大きいことが見られるが、これには品種間での種子の吸水・発芽・成育の速さのちがい或いはそれと関連して代謝活性の増加の速さのちがい等から来る変動が含まれていると考えられる。なお、KAMRA *et al.* (1960 a, b) は大麦種子でアミノ酸その他のニンヒドリン陽性物質が種子の浸漬により溶出することを認め、このような浸漬時の物質の溶出が感受性の変化に関与していることが考えられると報告している。ここに観察された感受性因子の消滅が感受性化物質の種子外への溶出によるものか、そのままの位置で不活性化することによるものかは、今後調べるべき課題である。

放射線感受性に関与する因子には、その存在により感受性が増大するか減少するかにより、感受性化因子と保護化因子とに大別される。BOWEN and THICK (1960) は放射線感受性の互いに著しく異なるマツとカラシナを用い、その種子に互いに他方の種子からの抽出液を吸わせて照射した実験により、感受性大のマツには感受性化物質が、また、感受性小のカラシナには保護化物質が存在することを示した。ここで得られた 1~6 時間の浸漬時間区および再乾種子で感受性の大きい品種で、感受性の減少が認められたことから、感受性大の品種には少なくとも一種類の感受性化因子が実際に存在することがわかる。ことに 1~6 時間の区間での感受性大の品種の示す感受性の逆転現象は、浸漬時間の増加に伴う一般代謝活性の増大や水分含量の変化等では説明できないものである。保護化因子の存在については一般的条件感受性の変化と区別することができず未だ確証がない。しかし、第 3 報で示した通り根長感受性と対照区分割数との相関が感受性の全範囲にわたって存在したこと等から考えて、実際に根長感受性の決定に主役を演じている物質または機構の数は多くなく、おそらくここにその存在を確かめられた感受性化因子一種類だけであらうと考えられる。

浸漬が 48 時間に及ぶと感受性の順位が逆転し、またその感受性は「RH 75」でのそれと相関をもたなくなる。

これは「RH 75」での品種感受性を決めている因子の消滅および根長抑制に関与している要因自体の変化が原因として考えられる。なお、このような感受性順位の逆転は草丈ではすでに 24 時間浸漬で生ずることが見られた。感受性化物質の消滅は種子胚の地上部では根部におけるより速く進行するのであらう。

最後に浸漬 3 日目のすでに発芽をした種子に照射した場合、「RH 75」の場合と異なる感受性順位が示されたことから、稲においては気乾種子照射と生体照射とで品種間差異の機構が異なるものであらうと推察される。

摘 要

稲の気乾種子に γ 線または X 線を照射した時に観察された根長での放射線感受性の品種間差異が、照射前の種子の浸漬によりどのように変化するかを調べた。線量反応曲線は同反応型であり、かつ、乾燥種子の場合と全く同じ近似式が有効に成立つた。気乾種子と浸漬種子との間の品種の感受性の相関は、12 および 24 時間では高い値を示したが 48 時間浸漬では有意でなくなつた。感受性は一般に浸漬時間の増加と共に大きくなつたが、浸漬時間が 1~6 時間の間で感受性の大きい品種では感受性の変動が気乾種子での感受性に対し高い負の相関を示した。また、再乾種子における感受性の変化も気乾種子での感受性とは高い負の相関をもつていた。以上の結果から次のことが推論された。

1. 浸漬種子においても気乾種子の場合と同じ機構が根長抑制に働いている。
2. 気乾種子での品種感受性を決定している要因は少なくとも 24 時間までの浸漬では浸漬種子の場合にも関与している。
3. 感受性決定要因は、浸漬時間の増加とともに次第に減少し 48 時間目までには失なわれる。
4. 感受性大の品種では明らかに感受性化物質が存在している。
5. 浸漬に伴う感受性の変化には、一般的な代謝活性の増加の他に、感受性化物質の減少が関係している。

参 考 文 献

- BOWEN, H. J. M. and J. THICK 1960. Factors from seed extracts that modify radiosensitivity. *Radiation Res.* 13 : 234~241.
- JOHNSON, E. L. 1933. The influence of X-radiation on *Atriplex hortensis* L. *The New Phytologist* 32 : 297~307.
- KAMRA, O. P., S. K. KAMRA, R. A. NILAN and C. F. KONZAK 1960. Radiation response of soaked barley seeds. I. Substances lost by leaching. II. Relation of radiobiological damage to substances lost by leaching. *Hereditas* 46 : 152~170, 261~273.
- SMITH, L. 1942. Hereditary susceptibility to X-

- ray injury in *Triticum monococcum*. Amer. J. Botany 29 : 189~191.
- UKAI, Y. 1967. Studies on varietal differences in radiosensitivity in rice. I. Dose-response curves for root growth and its varietal differences. Japan. J. Breeding 17 : 33~36.

- 鵜飼保雄 1968 a 稲における放射線感受性の品種間差異の研究 第Ⅱ報 幼苗長, 鞘葉長, 花粉稔性, 種子稔性の減少と葉緑素突然変異に示された放射線感受性 育種 18 : 127~138.
- 鵜飼保雄 1968 b 同 第Ⅲ報 細胞分裂及び染色体異常に関する放射線感受性 育種 18 : 221~228.

Summary

Seeds of rice varieties soaked for various hours were exposed to X-rays and the change in the pattern of varietal differences in the radiosensitivity with respect to the reduction in root length was studied. Dose-response curves were of sigmoid type for all the varieties tested and could be approximated by the same general function as for dry seeds.

Correlation of varietal differences in the radiosensitivity between soaked and dry seeds was high with 12 and 24 hours of soaking but was not observed with 48 hours of soaking.

Radiosensitivities generally increased as soaking

time increased for both sensitive and resistant varieties but an exceptional feature could be seen that the sensitive varieties showed decrease in the sensitivity with the increase in soaking time from 1 to 6 hours. The degree of this change was highly correlated to the sensitivity in dry seeds. A high negative correlation to the latter was demonstrated also for the change in the sensitivity after drying-back of seeds.

Nature of factors affecting the radiosensitivity in soaked seeds was discussed.

Y. UKAI Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo 113