γ 線照射によるタマネギの発芽抑制と内芽における 2, 3 の還元性物質の含量との関連性

茶 珍 和 雄*・緒 方 邦 安*・本 條 均**

Relationships between Some Reducing Compounds Levels in the Inner Buds of Onions and the Effect of Sprout-inhibition by Gamma Irradiation

KAZUO CHACHIN*, KUNIYASU OGATA* and HITOSHI HONJO**

The content of reducing compounds, ascorbic acid and SH compounds such as glutathione and cysteine, increased rapidly in inner buds of both Senshu-ki onions and Sapporo-ki onions as they began to elongate, but did not increase in the irradiated onions (irradiated with the doses of 5, 7 or 15 Krad). When onions were irradiated at the low levels of reducing compounds in their inner buds, the sprouting of the onions was completely inhibited. However, after the content of reducing compounds increased, the inhibitory effect of gamma irradiation was considerably reduced. From these results, the relationships between the contents of reducing compounds in inner buds of onions and the inhibitory effect of gamma irradiation on the sprouting of onions were discussed.

(Received Feb. 26, 1976)

休眠期にあるタマネギに γ 線を照射するとその後の発芽が完全に抑制されるので、 γ 線照射はタマネギの貯蔵性を高める上で有効な手段となる^{2,8,9,11,12,14-17}。照射により発芽が抑制されるのはその被照射植物体の分裂組織における核酸、蛋白代謝の異常や植物生長調節物質の合成系における異常などによると考えられる^{4,13,17,18}。しかし、休眠期を過ぎ発芽期に入ったものに対しては、その発芽抑制効果はかなり低下する。つまり、このような現象は γ 線照射時期が遅れることにより、放射線に対する抵抗性ともいべき性質がタマネギの内芽に発現してくるために起こると考えられる。

また、電離放射線の直接的あるいは間接的な放射線障害を化学的に防御することができる物質として、種々の還元性物質、例えば、グルタチオン、システインなどのチオール基を持つ各種化合物や、アスコルビン酸などがあげられ、それらを施用した動物実験で放射線障害が軽減されうるといふ^{6,10}。

本実験では、そのような放射線抵抗性ともいべき性質

と還元性物質との関連についての検討を目的として、タマネギ鱗茎を用い、 γ 線照射時の還元性物質量とその後の発芽への影響などについて調べた。

実験材料および方法

1. 実験材料

大阪府産泉州黄タマネギ(品種: 大阪中高)を6月13日(1971年)に収穫し、室温下に貯蔵し適宜実験に供した。

また、北海道産札幌黄タマネギも同じく用いたが、その場合は、とくに収穫日が普通の収穫適期(9月14日)であるものと収穫適期の約2週間前(9月1日)に収穫したもの2区を設けた。

2. ^{60}Co γ 線照射

^{60}Co γ 線照射は、大阪府立放射線中央研究所で行なった。線量率は30 krad/hrで、貯蔵中の各時期に、泉州黄タマネギでは5および15 kradを、札幌黄タマネギでは7および15 kradを照射し、その後は室温下で貯蔵

* 大阪府立大学農学部(堺市百舌鳥梅町)

College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Mozu Umemachi, Sakai, Osaka-fu.

** 現在 農林省果樹試験場(平塚市大原 1の24)

Present address: Fruit Tree Research Station, Ohara, Hiratsuka, Kanagawa-ken.

し、適宜分析その他の試料として用いた。

3. 還元性物質の分画と測定

分析に用いた試料は、Fig. 1 に表わしたようにタマネギ鱗茎の内芽部および底盤部で、それぞれに含有される還元性物質を 2% HPO_3 で抽出し、sephadex G-10 column ($\phi 2.0 \times 45 \text{ cm}$) によりその抽出液中の還元性物質を 6°C 下で分画した。各画分の同定は標準試料での分画状態、紫外部の吸収特性、ペーパークロマトグラフィーなどから行った。各画分の還元性物質の定量はヨード酸化法により、さらにアスコルビン酸については、RoA 変法により、全アスコルビン酸と酸化型アスコルビン酸を定量し、その差より還元型アスコルビン酸量を求めた。

実験結果

1. Sephadex column による還元性物質の分画結果

グルタチオン (GSH)、システイン (Cys)、還元型アスコルビン酸 (AsA) などの分離に sephadex を用いる方法を検討した結果、数種の sephadex のうち “G-10” がこれらの分離には比較的良好であったが、GSH と Cys とは十分に分離できなかった (Fig. 2)。

試料の分画結果は、Fig. 3 に示したように2つのピークが得られ、peak 1 には、アミノ酸などニンヒドリン

Fig. 1. Tissues taken for the determination of ascorbic acid and SH compounds.

Fig. 2. Separation of ascorbic acid (AsA, glutathione (GSH) and cysteine (Cys) by Sephadex G-10 column chromatography

反応陽性の物質、その他波長 245 nm での吸収を持つ物質などが入っていた。ペーパークロマトグラフィーによる検定から、peak I の還元性物質は、GSH, Cys が主成分であると推定し、peak II には紫外線による蛍光などから、AsA が存在していることを確認した。

2. 泉州黄タマネギにおける還元性物質の変化

泉州黄タマネギにおける還元性物質量的変化は、内芽部、底盤部でその傾向が異なった。対照の非照射タマネギの内芽部では、Table 1 に示したように peak I は、休眠覚醒期から発芽期にかけ増加し、発芽が始まるといく分減少した。peak II および RoA 変法による AsA は (Fig. 4)、休眠覚醒期から発芽期にかけて急激に増加した。一方、照射区の内芽の AsA 量は、休眠期の終りから発芽期初期にかけては対照区と同様に増加の傾向を示すが、その内芽に放射線障害によるか変が発生しはじめる9月中下旬になると、その増加はとまり逆に減少の傾向を示した。一方、非照射の底盤部では、sephadex により分離した peak I, peak II とともにそれほどの変動はなく、peak I のほうが、peak II より貯蔵中に増加した (Table 1)。RoA 変法による AsA 量は (Fig. 5)、

Fig. 3. Separation of reducing compounds in inner buds of onions by Sephadex G-10 column chromatography

Fig. 4. Effect of gamma irradiation on ascorbic acid (AsA) content of inner buds of Senshu-ki onions (harvested June 15 and irradiated August 7)

Table 1. The changes of reducing compounds in the inner buds and disks of Senshu-ki onions

Tissues	Peaks	Date		
		8.18	9.11	9.30
Inner buds	I *	14.3	22.1	15.6
	II *	10.7	26.1	26.2
Disks	I	19.9	21.7	24.7
	II	12.7	14.6	13.5

Reducing compounds were separated on a Sephadex G-10 column (2.0×45 cm) with 2% HPO₃.

* Peak I: Expressed as glutathione mg/100 g fw.

** Peak II: Expressed as ascorbic acid mg/100 g fw.

Fig. 5. Effect of gamma irradiation on ascorbic acid (AsA) content of disks of Senshu-ki onions (harvested June 15 and irradiated August 7)

対照区との間に差はみられなかった。

3. 札幌黄タマネギにおける還元性物質の変化

札幌黄タマネギの場合は、収穫日が普通の適期であるものと適期の2週間前に収穫したものについて、内芽における還元性物質量が、どのように変化するかを比較検討した。収穫適期の2週間前に収穫した区の対照区では (Fig. 6), peak I, II とも収穫後1カ月以降は急増するのに対し、照射区の増加は抑制された。AsA としてあらわした peak II の含量は、11月中旬 (照射2ヶ月後) において、対照区のそれは照射区のほぼ3倍であったが、peak I のほうでは約1.5倍であった。

収穫適期に収穫した場合 (Fig. 7) は、早期収穫のものに比べ、peak I 画分が対照区では貯蔵初期からいく分多く、また peak I および peak II 画分の照射区における含量は12月中旬で対照区の約1/2であった。

4. γ 線照射による発芽抑制と還元性物質との関連性

1) 泉州黄タマネギの場合

Fig. 6. Effects of gamma irradiation on the content of peak I (expressed as glutathione, GSH) and peak II (expressed as ascorbic acid, AsA) in inner buds of Sapporo-ki onions (harvested September 1 and irradiated September 13).

Fig. 7. Effects of gamma irradiation on the content of peak I (GSH) and peak II (AsA) in inner buds of Sapporo-ki onions (harvested September 14 and irradiated September 27).

Fig. 8. Relation between AsA content in inner buds of Senshu-ki onions and the inhibitory effect of gamma irradiation (5 krad) on the sprouting of the onions.

放射線防御作用のある還元性物質と発芽抑制効果との関連を明らかにするために、その照射時期における還元性物質量が、その後の発芽率にどのような影響を与えるかを照射時期を変えることにより検討した。Fig. 8 にお

Fig. 9. Relation between the AsA content in inner buds of Sapporo-kii onions (A) and the inhibitory effect of gamma irradiation on the sprouting of the onions.

Fig. 10. Relation between the AsA content in inner buds Sapporo-kii onions (B) and the inhibitory effect of gamma irradiation on the sprouting of the onions.

いて 1 から 6 へ照射時間を遅延させると対照区の AsA 量が倍増する 9 月中旬以降照射の区 (図中番号 4~6) では、翌年 1 月の時点で明らかに発芽抑制効果が低下していることが観察された。

2) 札幌黄タマネギの場合

札幌黄タマネギの場合は、前述のように収穫日、照射日がそれぞれ 2 週間程度異なる 2 区を設定し、同様に γ 線照射による発芽抑制効果と照射時の還元性物質量との関係を調べた。早期収穫のものでは (Fig. 9), AsA 含量の急激な増加がはじまるまでに照射した区 (図中番号 1~3) は、翌年の 2 月中旬でも、対照区が 60% 程の発芽率を示しているのに対して、0~5% しか発芽せず、それに対して 5, 6 と照射時期が遅延すると発芽抑制効果は減少し、7 krad よりも 15 krad の方がより多く発芽するようであった。また、普通の収穫適期に収穫したものも早期収穫のものの場合とよく似た傾向が得られた (Fig. 10)。

考 察

放射線照射によりタマネギ鱗茎が発芽抑制される機構については、古くから多くの研究がある^{1-8, 7, 9, 11, 12, 14-16)}。しかし、その機構は、完全には解明されていない。しかも、収穫後照射までの期間が長期になるほどその発芽抑制効果は低下してくる。換言すれば、照射時期の遅延により、放射線に対し抵抗性ともいべき性質が発現してくる。また、タマネギの品種によっても γ 線による発芽抑制効果に差があることが知られている¹⁸⁾。

泉州黄タマネギに比べて札幌黄タマネギが γ 線照射により発芽が抑制されにくいのは、その一因として休眠期間に差があることによると考えられる。その理由として、著者らは札幌黄タマネギは収穫後約 2~3 週間で、その内芽の形態や核酸の MAK カラム・クロマトグラフィーでの分画状態などが、泉州黄タマネギの休眠期のものよりは、むしろ休眠覚醒期のものに酷似していることを報告した¹⁾。さらに札幌黄タマネギでは早期に収穫する区も設定して収穫適期に収穫したものと比較したところ、より早期に収穫した区でさえ、その内芽の状態は収穫 2 週間後で、泉州黄タマネギの休眠覚醒期のものと同じような形態であった⁹⁾ ことから、札幌黄タマネギは形態的变化からみると、収穫直後すでに休眠が覚醒しはじめた状態にあることになり、このことが従来、 γ 線照射により発芽抑制することが難しいとされていた原因であると考えられる。

タマネギ内芽部における還元性物質の動向を調べるために、常法の RoA 変法による AsA 量の測定と sephadex column を用いる還元性物質のカラムクロマトグラフィーによる分画、定量も行なった。その結果、sephadex のタイプとしては、“G-10” がグルタチオンとアスコルビン酸を良好に分画できた。試料で分画を行なうとグルタチオンとシステインなどのチオール基を持つ還元性物質グループとアスコルビン酸のグループの二つのピークが得られた。

還元性物質の変化と発芽抑制効果の関連性を泉州黄タマネギで調べた結果から、大体の傾向として完全な休眠中はそれらの含量が少なく、休眠が覚醒してくるにつれてその含量が増加するという知見が得られた。そのような含量増加後に γ 線を照射しても、完全な発芽抑制効果はみられない。また、札幌黄タマネギの還元性物質も収穫後、シグモイド曲線をえがいて増加していき、そのような含量増加が始まってから照射しても、発芽抑制効果は十分に得られなかった。

KÜNKEL, H. A.⁷⁾ の実験では、ヤマネの冬眠中の照射と覚醒前のシステイン投与 (500 mg/kg) により、照射後の防御効果が認められた。また、3000 r で照射したソラマメ (*Vicia faba*) の乾燥種子では、照射後 2.5% システイン溶液処理により、有糸分裂の阻害はほとんどみられなかった (対照区は 40% 阻害) という⁸⁾。また、そのような化学的防御物質が有効であるためには、それが照射時に存在しなければならないことは多くの実験で確かめられている。防御物質として多くのものがあるが、なかでも効果のある含硫化合物は照射により生じる遊離基と反応すると考えられており、Cysteine, Cysteamine, Cystamine, Glutathione, AET (S, 2-Aminoethyl isothiuronium) などがある⁶⁾。

また、高等植物の放射線感受性がアスコルビン酸量と相関しているという COOKE, A. R. の説もあるが、その反対例もあり、この相関関係は一般的ではない⁶⁾。しかし、筆者らの実験結果からは、GSH, Cys などの含量が増し、同時に AsA 量の増加がはじまると、 γ 線照射による発芽抑制効果は減少することが認められた。このような現象は AsA, GSH, Cys, などが γ 線照射により生じたフリーラジカルにより酸化され酸化型となるが、このためフリーラジカルが除かれ照射による障害が軽減され、発芽抑制効果が減少したとも考えられる。

要 約

本研究は、 γ 線照射時期の遅延に伴いタマネギ鱗茎において発現してくる放射線抵抗性ともいふべき性質とタマネギ鱗茎の内芽部における還元性物質含量の変化との関連性を調べたものである。

泉州黄タマネギでは、その内芽部において休眠が覚醒する時期から、AsA や GSH など還元性物質の急激な増加が認められた。これらの還元性物質量の少ない休眠期に γ 線を照射すると、発芽は完全に抑制できたが、照射時期が遅延して AsA などが増加しはじめてから照射すると、照射による発芽抑制効果は激減した。泉州黄タマネギとは栽培型や休眠期が異なる札幌黄タマネギを比較検討のため用いたが、札幌黄タマネギにおいても泉州黄タマネギと同様に、還元性物質の増加に伴い照射による発芽抑制効果は激減した。このような関係からこれら還

元性物質の増加が、放射線に対する抵抗性ともいふべき性質を発現する一因となることを推察した。

本研究を実施するにあたり、材料の入手に御配慮をいただいた北海道大学農学部の水谷純也教授に感謝するとともに、照射にあたり御便宜いただいた大阪府立放射線中央研究所の方々に厚く御礼申し上げる。

文 献:

- 1) 茶珍和雄・松塚正道・本條 均・緒方邦安: 食品工誌, **20**, 158 (1973).
- 2) DALLYN, S. L., SAWYER, R. L. and SPARROW, A. H.: *Nucleonics*, **13**, 48 (1955).
- 3) DALLYN, S. L. and SAWYER, R. L.: *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **73**, 390 (1959).
- 4) GORDON, S. A.: Oliver & Boyd edd. In progress in radiobiology, London England, p. 44 (1956).
- 5) 本條 均・茶珍和雄・緒方邦安: 食品工業学会第 19 回大会研究発表要旨, p. 19 (1972).
- 6) 本城市次郎・崔英哲: 基礎放射線生物学, 南江堂 (1966).
- 7) KORABLEVA, N. P. and METLITSKIJ, L. V.: 日本食品照射研究協議会刊行物第 10 集 (1967).
- 8) KÜNKEL, H. A. and SCHUBERT, G.: Progress in Nuclear Energy Ser. VI. Biological Science Vol. 2, J. G. Bughner, J. Coursaget and J. F. Loutit eds. (Pergamon Press, London), p. 217 (1967).
- 9) 松山 晃: 化学と生物, **5**, 378, (1967).
- 10) モズジュヒン, ラチンスキー, 稲葉弥之助訳: 放射線障害の化学的防御法, (産業図書, 東京), (1967).
- 11) OGATA, K., IWATA, T., and CHACHIN, K.: *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ*, **37**, 425 (1959).
- 12) 緒方邦安・岩田 隆・茶珍和雄: 園芸学雑誌, **28**, 143 (1959).
- 13) OGATA, K.: *Bull. Univ. Osaka prefecture, Sec. B*, **11**, 99 (1961).
- 14) 緒方邦安・茶珍和雄: 食品工誌, **16**, 167 (1969).
- 15) 佐藤友太郎: 食品工業, **8** (No. 10), 71 (1965).
- 16) 佐藤友太郎: 食品工業, **8** (No. 11), 63 (1965).
- 17) SAWYER, R. L. and DALLYN, S. L.: *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **67**, 514 (1956).
- 18) 梅田圭司・高野博幸・早川 昭・佐藤友太郎: 食研報, **25**, 24 (1970).
- 19) USSUF, K. K. and MADHUSUDAN NAIK, P.: *Phytochem.*, **10**, 929 (1971).

(昭和 51 年 2 月 26 日受理)