

イネにおける2種の矮性遺伝子(大黒矮性(d1)と農林28号矮性(d11))の形質発現

誌名	北海道大学農学部農場研究報告 = Research bulletin of the University Farm Hokkaido University
ISSN	03856445
著者名	林,宏信 高牟禮,逸朗
発行元	北海道大学農学部附属農場
巻/号	31号
巻号補足	
掲載ページ	p. 13-27
発行年月	1999年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



イネにおける2種の矮性遺伝子(大黒矮性(*d1*) と農林28号矮性(*d11*))の形質発現

林 宏信*・高牟禮 逸朗

(北海道大学農学部植物育種学講座, *現:タキイ種苗(株)研究農場)

(1999年2月9日受理)

緒 言

植物において栄養成長から生殖成長にかけて起こる劇的な変化を誘導する機構の解明は、重要な研究課題であり、これまでに多くの解析が行われてきた。生殖成長への移行に伴う形態変化のひとつに茎の伸長が挙げられる。この現象は多くの植物種で普遍的にみられることから、生殖成長への誘導と茎伸長には、これらに関連した植物に共通の発育制御機構の存在が考えられる。しかし、茎の伸長を発育制御の観点から解析した事例は少ない。

イネではこれまでに多数の矮性突然変異体について遺伝子分析が行われ、約60種の矮性遺伝子が報告されている¹⁾。矮性突然変異体は節間長比により、上部伸長型、下部伸長型および正常型の3型に類別できることが報告された²⁾。さらに、矮性突然変異体の節間長比にはいくつかのパターンが存在し、遺伝形質としてとらえられることが明らかとなり、正常型をN型として変異体を節間長比によってdn型(正常型と節間長比は相似的で各節間伸長を抑制する型)、dm型(第2節間を特異的に抑制する型)、d6型(第2節間以下の節間伸長を抑制する型)、n1型(各伸長節間の伸長量がほぼ等しい型)、shp型(第1節間の伸長を特異的に抑制する型)の5群に分類された^{3,4)}。

dm型矮性に分類される*d1*(大黒矮性遺伝子)は第2節間を特異的に短縮するほかに、植物体の全体的な矮化や短粒等の多面発現を示す。これまでに、*d1*の第2節間で起こる伸長抑制の発現機構については遺伝的、生理的に比較的良好に解析されてきた。すなわち、*d1*による第2節間の伸長抑制

は遺伝的背景の違いによって大きく変動することが知られており、*d1*による第2節間の伸長抑制の表現度(個体内での第2節間の伸長抑制の頻度)には、少なくとも2遺伝子の関与することが明らかにされている⁵⁾。また、*d1*による第2節間の伸長抑制には温度、日長、肥料などの環境条件の関与することが報告されている⁶⁾。さらに生理的解析により、*d1*の第2節間はIAA処理によって伸長率が上がり、GA処理によって伸長量が増大すること、また、伸長が抑制された節間ではIAAオキシダーゼ活性が著しく低下していることが報告されている⁷⁾。一方、第2節間の伸長抑制との関係は調べられていないが、GA処理によって誘導される α -アミラーゼ活性を測定したところ、*d1*変異体ではほとんどGA処理に反応せず、ジベレリン非感受性であることが明らかにされている⁸⁾。さらに、*d1*の野生型遺伝子である*D1*がmap-based cloning(染色体歩行)法によって単離され、*D1*遺伝子はGTP-binding protein α subunitをコードしており、*d1*変異体ではこの遺伝子が発現できないために、矮性の表現型を示すことが報告された⁹⁾。

dm型の他に特定の節間に作用を示す変異体としては、shp型に分類され、第1、2節間の伸長を抑制する*Shp1*、*shp2*^{10,11)}や、第1節間の伸長を顕著に増大する*eui*¹²⁾が報告されている。このように特定の節間での伸長異常を示す変異体の形質発現が第1、2節間で認められることは興味深い。

本研究では、生殖成長と関連する節間伸長の発育制御機構を明らかにすることを目的として、イネの節間伸長に関する突然変異体の解析を試みた。

解析には穂首から下2つめの節間(第2節間)の伸長を特異的に抑制することが報告されているdm型矮性のうち、*d1*, *d11*変異体を用いた。これらの変異体は葉数や伸長節間数に関係なく、上位節間で特異的な形質発現を示すことから、その伸長抑制を受ける節間の位置は幼穂側から決定されると推定される。したがって、これら突然変異体の上位節間で特異的に形質発現を起こすメカニズムが明らかになれば、穂と節間の関連性について何らかの情報が得られることが期待される。本研究ではこれらの突然変異体の形質発現を個体レベルと組織レベルで詳細に解析することにより、遺伝子作用を推定し、その遺伝子が節間伸長の発育にどのように関わっているかを検討した。

材料および方法

供試したID系統は北海道の栽培品種「しおかり」を反復親として、連続戻し交雑により矮性遺伝子を導入した準同質遺伝子系統である。ID-1は本教室の標識遺伝子系統であるH-86から、在来品種「赤毛」の自然突然変異による*d1*(大黒矮性遺伝子)を導入したB₁₁世代である。ID-11は農林28号の自然突然変異体である農林28号矮性から*d11*(農林28号矮性遺伝子)を導入したB₉世代である。

実験に用いた「しおかり」、ID-1、ID-11およびID-11×ID-1の交雑F₂集団は5月中旬に恒温器内(30℃)で催芽し、北大農学部世代短縮温室で播種・育苗した。これらを4葉期にビニールポットに移植し、北大農学部付属農場内に設置したビニールハウス内で出穂まで生育させた。栽培は直径8.5 cm、容積500 mlのビニールポットに1個体植えて行い、基肥として水稻7号(20 kg 当たり窒素1.6 kg、リン酸1.6 kg、カリ1.0 kg)を0.8 g施用した。また、種子根の根端分裂組織の観察を行うために、ファイトロン(22℃, 12時間日長)で「しおかり」、ID-1、ID-11を育苗し、3葉期に達したところで、根端を採取した。

組織観察にはビニールハウス条件で栽培した個体を用い、それらをほぼ4葉期にあたる6月13日と、生殖成長期に入る直前の6月21日から穎花形

成期にあたる7月13日にかけて、2・3日に1度、各系統の茎頂近傍を採取した。採取した試料はFAA(70%エタノール:酢酸:ホルムアルデヒド=18:1:1)で1晩固定した後、70%エタノールに移し、4℃で保存した。

組織観察はパラフィン切片法、樹脂切片法により行った。パラフィン切片法については、試料をエタノール-ブタノール系列で脱水した後、58℃でパラフィン浸透を行い、試料を包埋した。その後、回転式ミクロトームを用いて厚さ8-10 μmの切片を作成し、Haupt solutionを塗布したスライドガラス上に貼着した。試料を40℃で乾燥した後、0.1%の炭酸ナトリウムを含んだ0.1%トルイジンブルーO水溶液で約10分間染色し、カナダバルサムで封入後、顕微鏡観察を行った。樹脂切片についてはテクノビット樹脂を用いて作成した。茎頂および根端から採取した試料をエタノールシリーズで脱水した後、試料の樹脂浸漬を行った。試料を6-7日間、100%テクノビット溶液で浸漬した後、Kulzer社のプロトコールに従って樹脂の硬化を行い、樹脂ブロックを作成した。その後、回転式ミクロトームでタングステンナイフを用いて厚さ2-4 μmの切片を作成した。切片は50℃のホットプレート上で0.1%の炭酸ナトリウムを含んだ0.1%トルイジンブルーO水溶液で約2分間染色し、エンテランニューで封入後、顕微鏡観察を行った。

結 果

1. ID-1 および ID-11 の形質発現 (個体レベル)

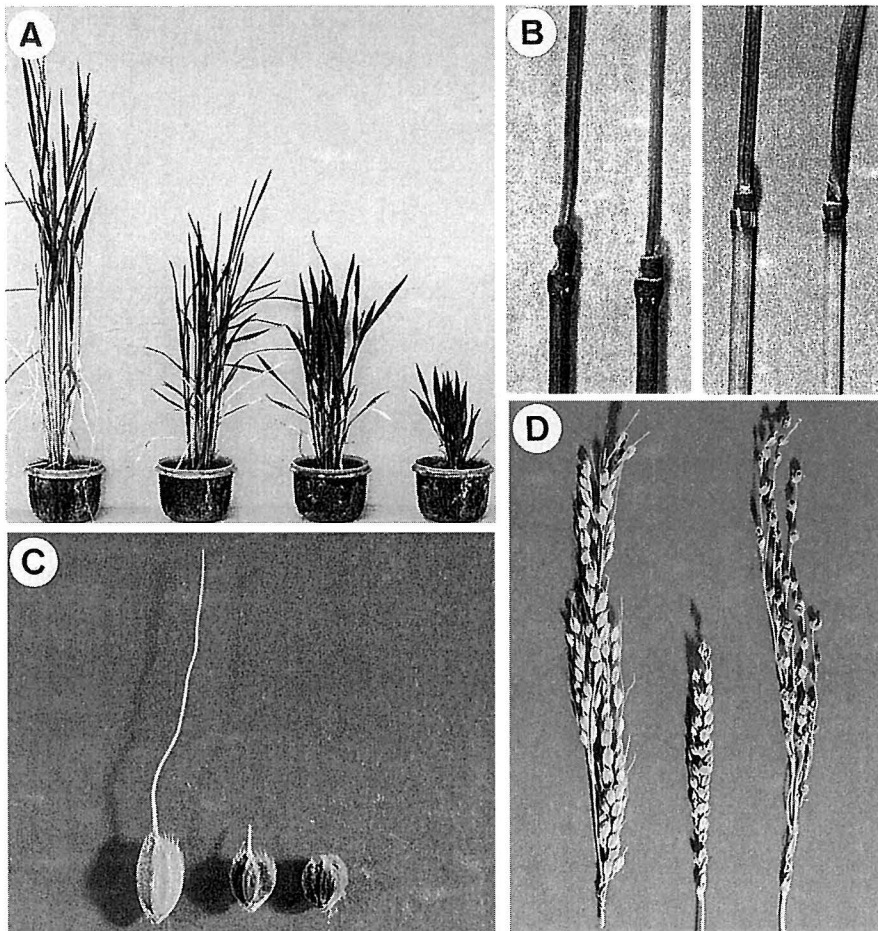
ハウス条件での「しおかり」、ID-1 および ID-11 の主稈について調査した諸形質を Table 1 に、形質発現の特徴を Fig. 1 に示した。

到穂日数については、「しおかり」に較べ ID-1 では1日早く出穂したが、ID-11 は1週間ほど遅く出穂した。しかし、幼穂形成初期の茎頂近傍の縦断切片を観察したところ、ID-1 および ID-11 は「しおかり」とほぼ同時期に生殖生長期に移行していると考えられた。また、葉数を比較すると、「しおかり」に較べ、ID-1 では1葉、ID-11 では約2葉増加していた。これらのことから、*d1* およ

Table 1. Characteristics of Shiokari, ID-1 and ID-11 grown in plastic house

	Shiokari	ID-1	ID-11
Panicle length(cm)	14.1±1.0	8.1±0.6**	18.8±4.6*
Internode length(cm)			
1st	27.8±2.5	14.7±0.6**	10.3±5.1**
2nd	22.9±1.5	0.7±1.6**	0.2±0.0**
3rd	14.3±1.8	7.8±0.9**	6.6±8.2
4th	3.7±1.8	1.8±1.6*	7.6±3.9*
No. of elongated internodes	4.0±0.0	4.0±0.6	3.8±0.4
No. of primary branches	10.1±0.9	6.8±1.2**	8.5±0.5**
Leaf no. of main culm	11.0±0.0	12.0±0.0	12.8±0.5**
Days to heading	74.9±0.7	73.8±0.9**	81.6±1.0**

*, **: Significantly different from Shiokari at the 5% and 1% levels, respectively.

**Fig. 1.** Character expression of *d1* and *d11*.

A : Plant types of Shiokari, ID-11, ID-1 and the double mutant (*d1*, *d11*) (from left to right).

B : Second internodes of ID-1 (left) and ID-11 (right).

C : Spikelets of Shiokari, ID-1 and ID-11 (from left to right).

D : Panicles of Shiokari, ID-1 and ID-11 (from left to right).

び *d11* は花芽分化時期にはほとんど作用しないが、出葉周期をわずかに短くし、さらに、*d11* は花芽分化から出穂までの期間を延長することが示唆された。

5葉目から止葉の各葉位別の葉身長を調査したところ (Fig. 2), 「しおかき」と ID-1 では止葉の1葉前が最大葉伸長を示したが, ID-11 では2葉前が最長となった。ID-1 の葉身長は生育期間を通じて, 「しおかき」の約 50~70 %に抑制されて

いたが, ID-11 では, 「しおかき」より止葉がやや短かったものの, その他の葉身の伸長抑制はわずかであった。

伸長節間についてみると, dm 型の最も特徴的な形質発現である第2節間の完全な伸長抑制は ID-1 の1個体のみを除いて, 安定して発現していた (Fig. 3)。さらに低頻度ながら第1, 第3節間の伸長が完全に抑制される場合もあったことから, 両系統で第1, 2, 3節間について1個体内の全分けつについて 0.5 cm 以下の節間が出現する割合を調べた。その結果, ID-1 の第1, 2, 3節間ではそれぞれ 3.2 %, 70.0 %, 0 %, ID-11 では 25.1 %, 95.6 %, 8.0 %であり, 節間伸長の完全な抑制は第2節間で高頻度で起こるが, 第2節間以外でも低頻度で生じることが明らかとなった。以上のように, ハウス条件では節間発育の阻害作用は *d11* の方が *d1* より強く現れたが, 水田条件での第2節間の抑制程度は ID-1 で 81.6 %, ID-11 では 74.2 %だったことから, 第2節間の発育阻害の程度は栽培条件の影響を受けることが推定された。また, 伸長した第2節間についてみると, ID-11 の伸長した第2節間はすべて 10 cm 前後まで伸びていたが, ID-1 の第2節間は 1 cm ぐらしか伸長しないものから, 8.6 cm まで

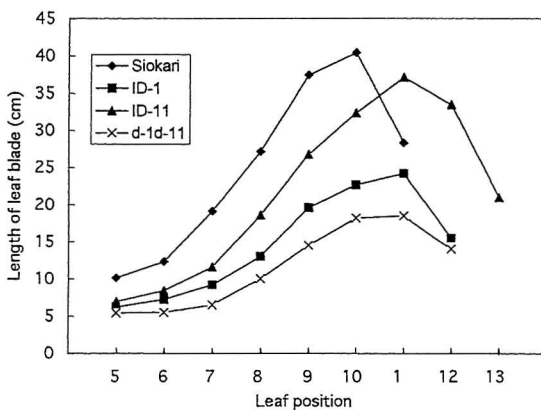


Fig. 2. Leaf blade lengths from 5th to flag leaves of Shiohara, ID-1, ID-11 and the double mutant type (*d1*, *d11*).

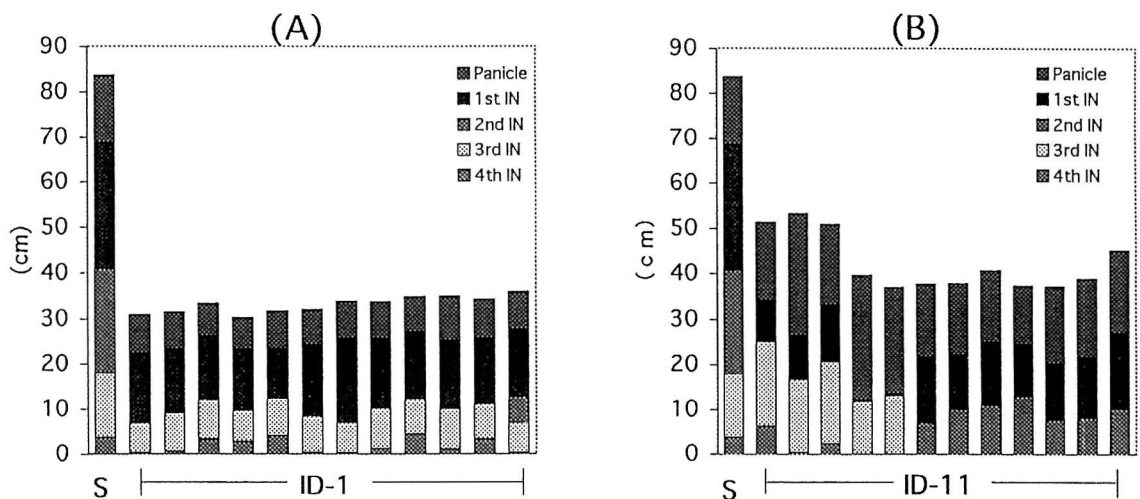


Fig. 3. Variation of panicle and internode lengths in ID-1 (A) and ID-11 (B) grown in plastic house. S means Shiohara.

伸びるものまで節間長に変異がみられた。このような両系統の特徴は水田条件でも同様に認められた。

他の節間をみると、ID-1では第2節間を除いた各節間長は「しおかり」の約50%前後に抑制されていた。ID-11では各節間長にばらつきがみられたが、第1節間は概して「しおかり」より伸長が抑制されており、第3, 4節間では「しおかり」並あるいはそれ以上に伸長している場合も認められた(Table 1, Fig. 3)。したがって、ID-11では第3, 4節間は完全に伸長が抑制されている場合もあるが、伸長した場合にはその節間長はあまり抑制されていないことが分かった。

穂長についてみると、ID-1は「しおかり」の57%に抑制されており、その短穂化の原因としては、穂のファイトマーの減少と穂軸の伸長が抑制されていることが考えられた。一方、ID-11の穂は「しおかり」より長く、これは主に穂軸の最下位の節間が大きく伸長した穂があったためであった。また、ID-1およびID-11では穎花の伸長も抑制されており、短粒を示した。

以上のことから、*d1*, *d11*の主な作用は多面的に器官の伸長を抑制することであると推測された。しかし、ID-11では第2節間、止葉、穎花の他の器官における伸長抑制の作用は必ずしも大きくなく、*d11*の遺伝子発現は*d1*に比べ、より複雑であると考えられた。

2. ID-1およびID-11の組織観察

*d1*および*d11*による第2節間の伸長抑制の原因を明らかにするために、伸長節間の分化期を中心に「しおかり」、ID-1およびID-11の組織切片を作成し、第2節間の発育過程を調査した。ID-1およびID-11では第2節間が伸長する場合もあるが、同条件で栽培したID-1およびID-11の主稈については12個体中、ID-1の1個体を除くすべての第2節間の伸長が完全に抑制されていたため、観察した試料のほぼすべては第2節間の完全抑制を発現すると推定できる。

3系統の節間の発育を比較するにあたって、幼穂の発育段階を同一にすれば、ほぼ同じ発育ステ

ージの節間を観察できることが分かったので、幼穂の発育ステージを指標にして、3系統の節間の発育を比較した。幼穂の発育ステージは以下に示す松島・真中¹³⁾の分類に従った。

ステージ1：止葉始原体分化期

"	2：穂首分化期	
"	3：ほう始原体分化期	
"	4：第1次枝梗始原体分化初期	
"	5：	中期
"	6：	後期
"	7a：第2次枝梗始原体分化初期	
"	7b：	中期
"	8：	後期
"	9：穎花始原体分化開始期	
"	10：	初期
"	11：	中期
"	12：	後期

節間の分化は、円形で小さな細胞群から構成される組織的に未分化な状態である基本分裂組織において、より発育の進んだ下方の細胞が徐々にその形を変えることによって認められるようになった。「しおかり」ではステージ5 (Fig. 4A) になると、第2節間領域の細胞は体積を増すと同時に、やや角張った形状を示すようになった。その後、節間細胞はさらに肥大を続けるとともに、細胞分裂によって縦方向と横方向の細胞数を増加し、ステージ7bになると節間の分化は組織的に明らかとなった (Fig. 4B)。この時期では茎軸方向の細胞層は不規則だが、この後さらに節間の発育が進むと茎軸方向に盛んな細胞分裂が起これ、茎軸方向に規則正しく並んだ縦列細胞層が認められるようになり、そして介在分裂組織が節間上部に局在するようになった (Fig. 4C)。

一方、ID-11ではステージ7aになっても、第2節間領域の細胞は円形で小さく、基本分裂組織と区別することができなかった。ステージ7aから7bにかけて第2に節間領域の細胞はわずかに拡大するが、依然として節間の分化は認められず、その細胞の体積は「しおかり」に比べてずっと小さ

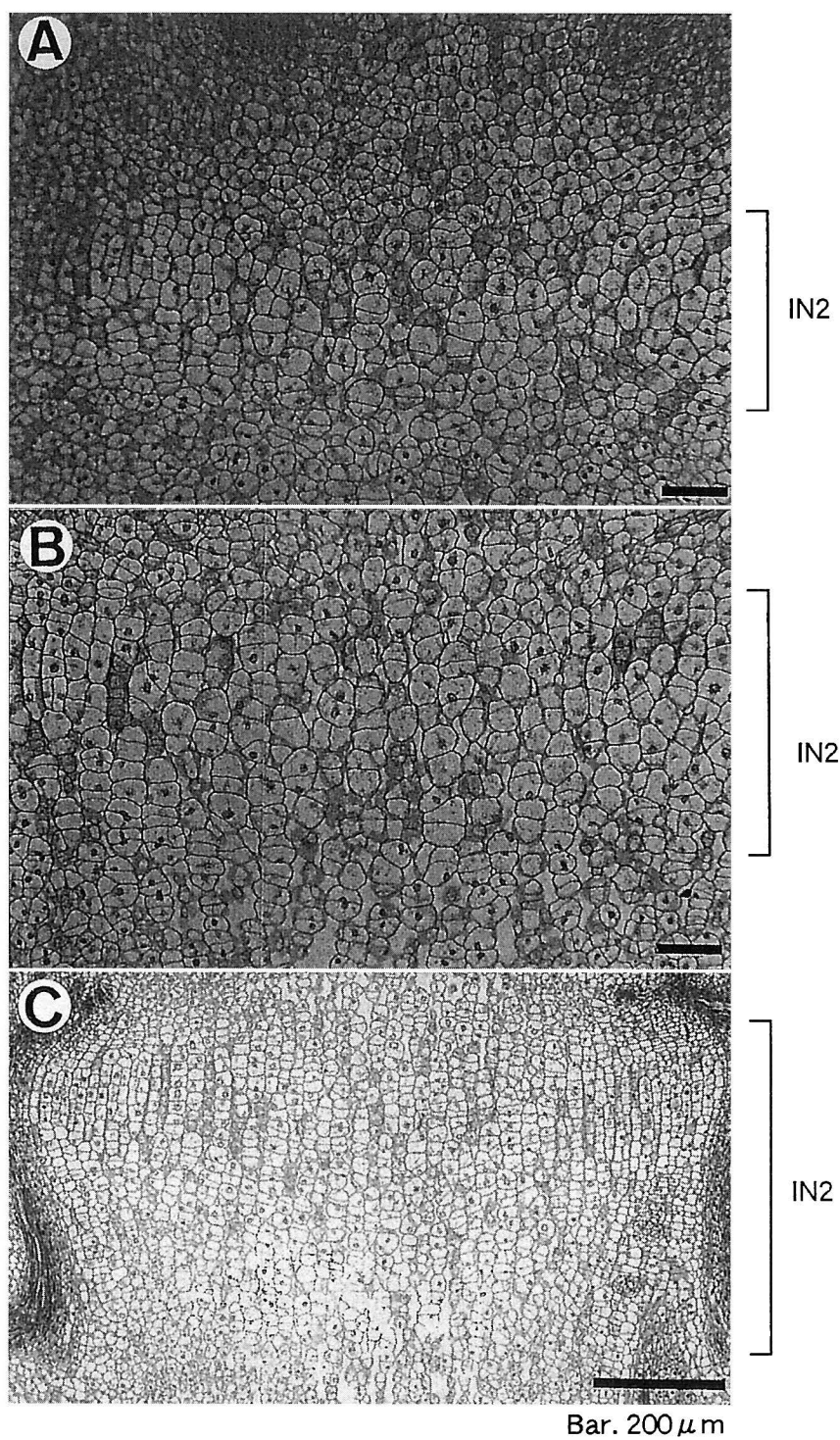


Fig. 4. Development of 2nd internodes in Shiokari. (Longitudinal section)

A : Stage 5, B : Stage 7b, C: Stage 11.

かった (Fig. 5B)。その後、第2節間の発育が進行しても細胞は拡大せず、細胞間に空隙が目立ち始

め、第2節間に「しおり」でみられるような縦列細胞層の分化は認められなかった (Fig. 5C)。

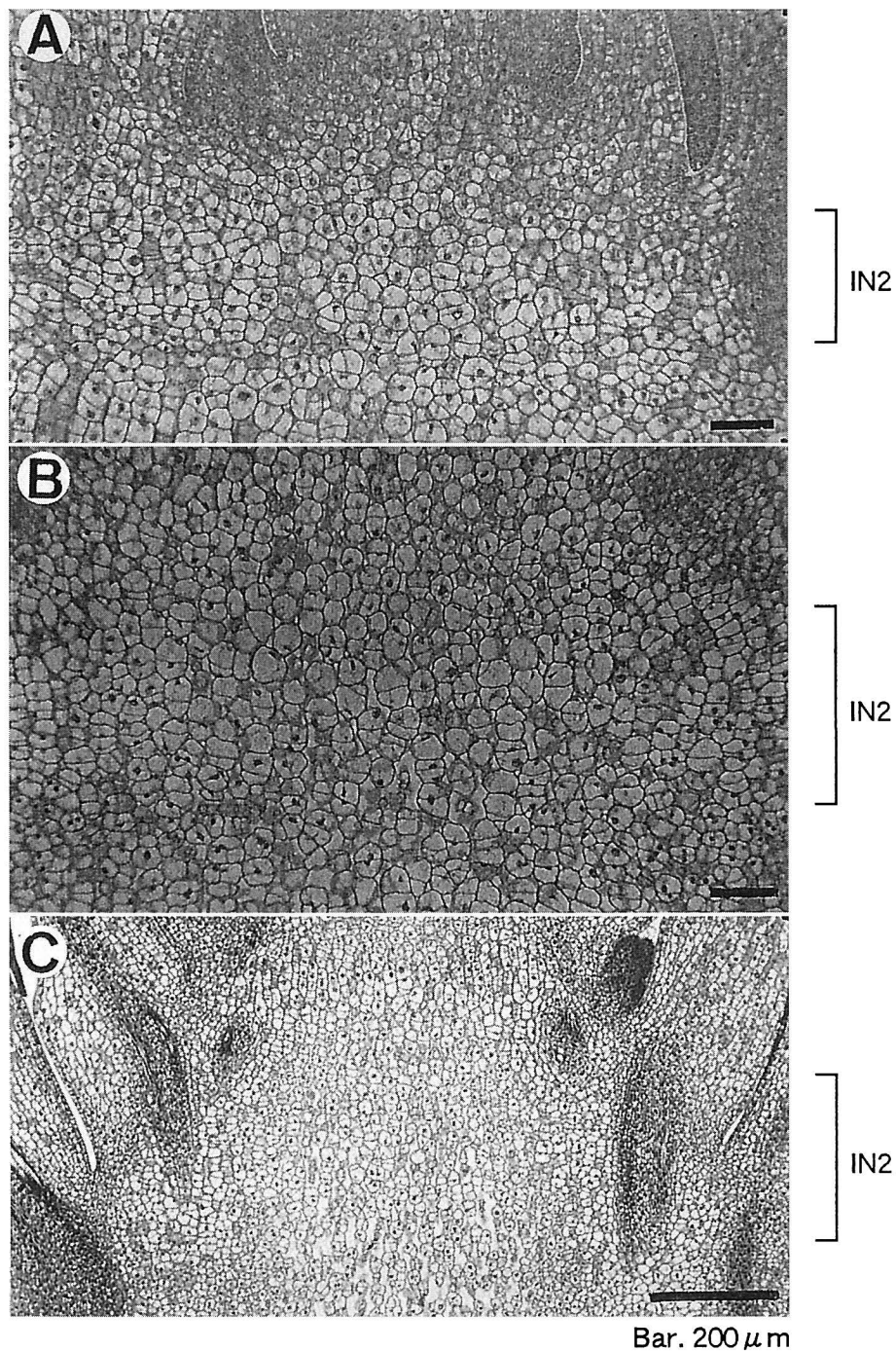


Fig. 5. Development of 2nd internodes in ID-11. (Longitudinal section)
A : Stage 4, B: Stage 7b, C : Stage 12.

ID-1の第2節間の発育過程も ID-11 とほぼ同様に特徴を示したが、ステージ 12 では ID-11 より節間組織の分化が進んでおり、発育異常の程度は小さいようであった (Fig. 6)。

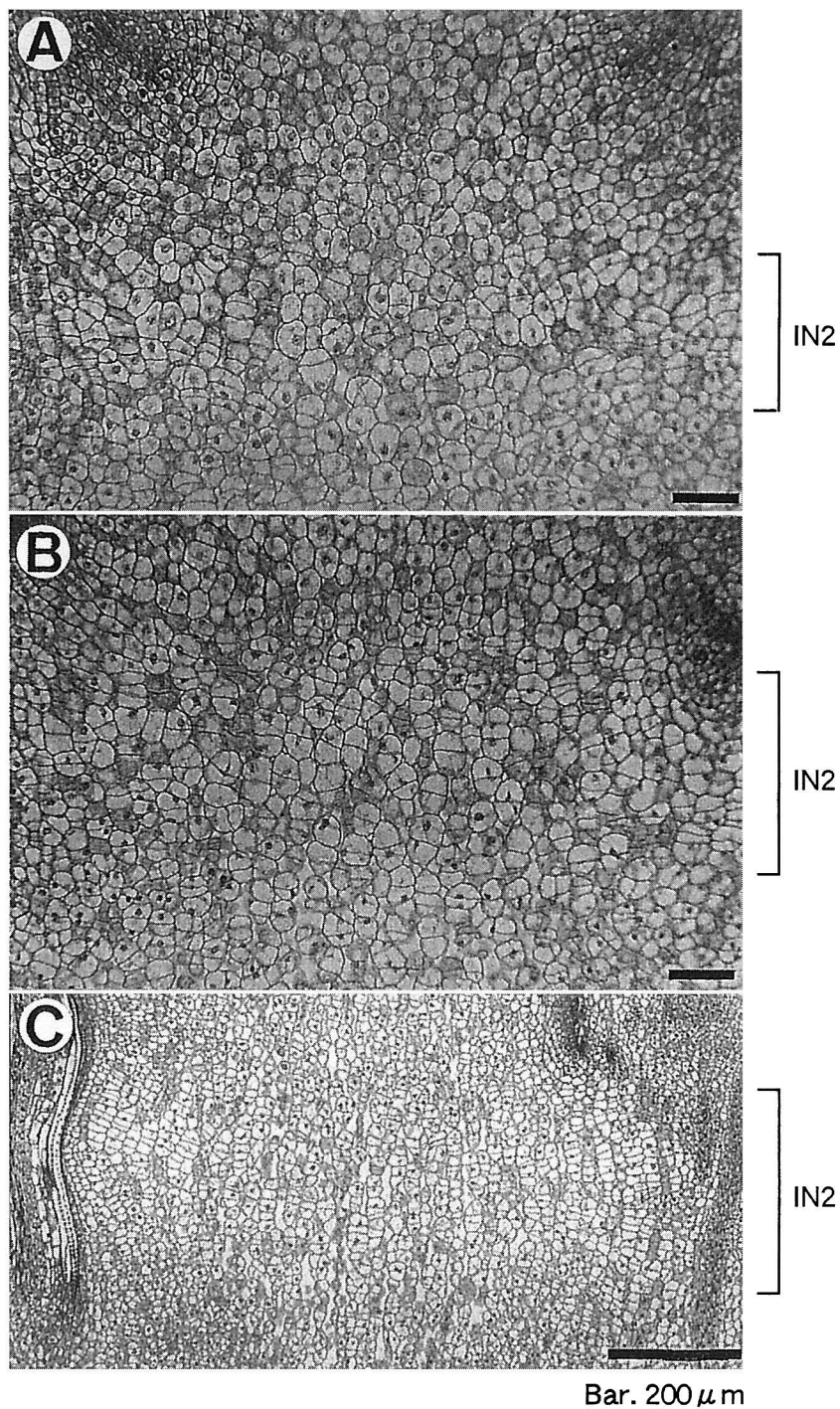


Fig. 6. Development of 2nd internodes in ID-1. (Longitudinal section)
A: Stage 6, B: Stage 8, C: Stage 12.

また、ID-11では第2節間でみられるような異常が他の伸長節間でもみられた。ステージ2の茎頂近傍を「しおかり」と比較すると、分化したばかりの第3節間の細胞は明らかに小さく丸かった (Fig. 7)。さらに、より発育の進んでいる第4節間をみると、「しおかり」では長方形の細胞が規則

正しく配列しているが、ID-11では依然として細胞は円形を示し、その配列も不規則であった。なお、この栽培条件下のID-11では第3、4節間の伸長を同時に阻害した例は認められなかったことから、少なくともどちらかの節間はその後、細胞発育が回復し、節間伸長すると考えられる。ID-11

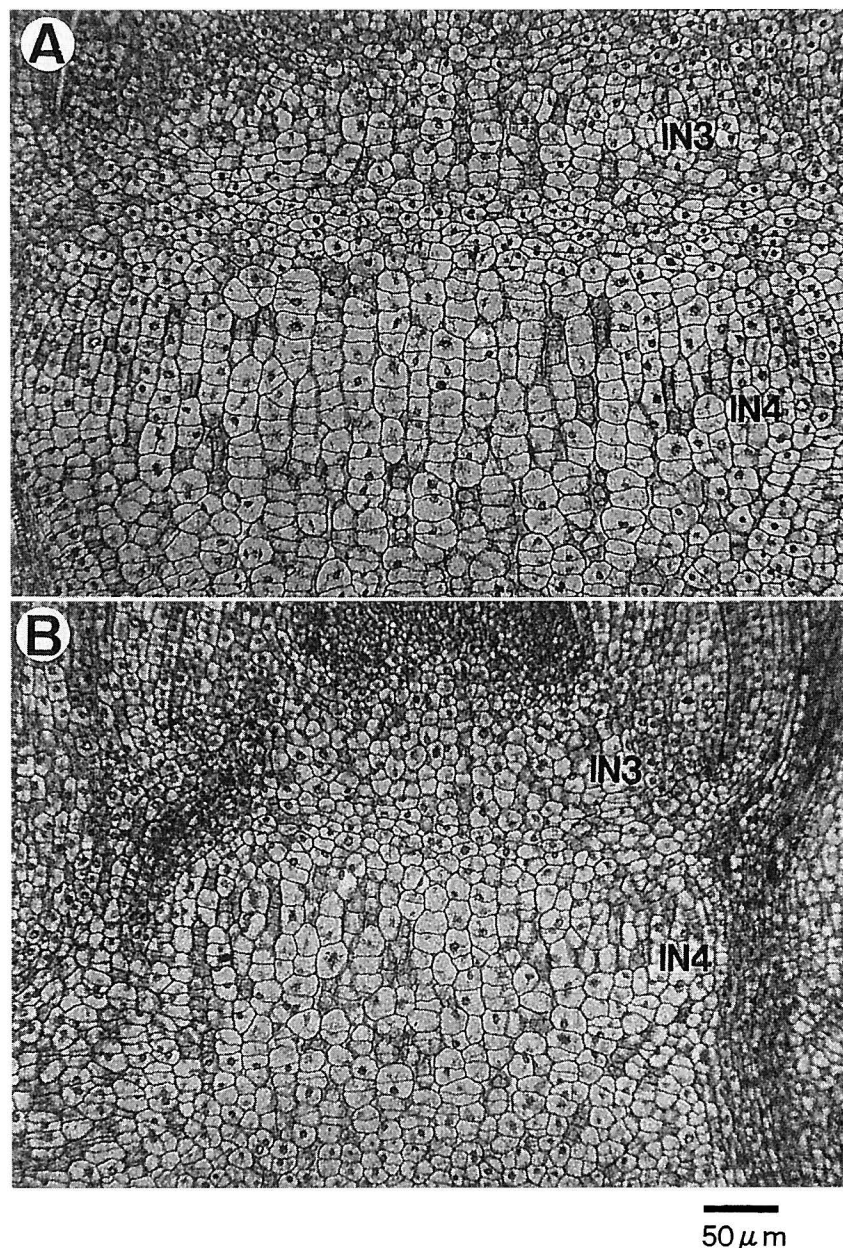


Fig. 7. Longitudinal sections of 3rd and 4th internodes in Shiohari (A) and ID-11 (B) at stage 2.

では第1節間，穂軸節間の発育にも異常が見られた。「しおかり」ではステージ8に前後して，第1節間および穂軸節間が下位から分化し始め，ステージ10では幼穂は穂軸の節間が分化することによって伸長している。それに対して，ID-11では第1節間，穂軸節間の縦列細胞層の分化はステージ12まで認められず，そのためステージ12の幼穂長は極端に短くなっていた。一方，ID-1では第2節間以外では節間の顕著な発育異常は認められず，第1と穂軸の節間も「しおかり」とほぼ同時期に分化した。

栄養成長期の節間形成を観察したところ，ID-1およびID-11では「しおかり」とは異なり，節および節間の発育に異常が認められた。ID-1，ID-11の節間細胞は基本分裂組織でみられるような楕円

形を示しており，上位節間同様，節間の発育進行による細胞の形態変化が起きていないと考えられた。

さらに，種子根における形質発現を組織的に調査した (Fig. 8)。根は分裂域，伸長域，分化域の3つの領域に大別でき，分裂域では盛んに細胞分裂が行われ，伸長域では形成された細胞が徐々に伸長を開始する。そして，伸長域と分化域の境界ではほぼ細胞はその伸長を停止し，最終的な細胞長を示すようになり，その後分化域で根の組織は完成される。ID-11の根をみると，「しおかり」に比べて伸長域が大きく延長していることが分かった。このことはID-11の根では細胞の拡大が「しおかり」に比べて緩やかに起こることを示唆している。一方，ID-1の根の発育は「しおかり」と大

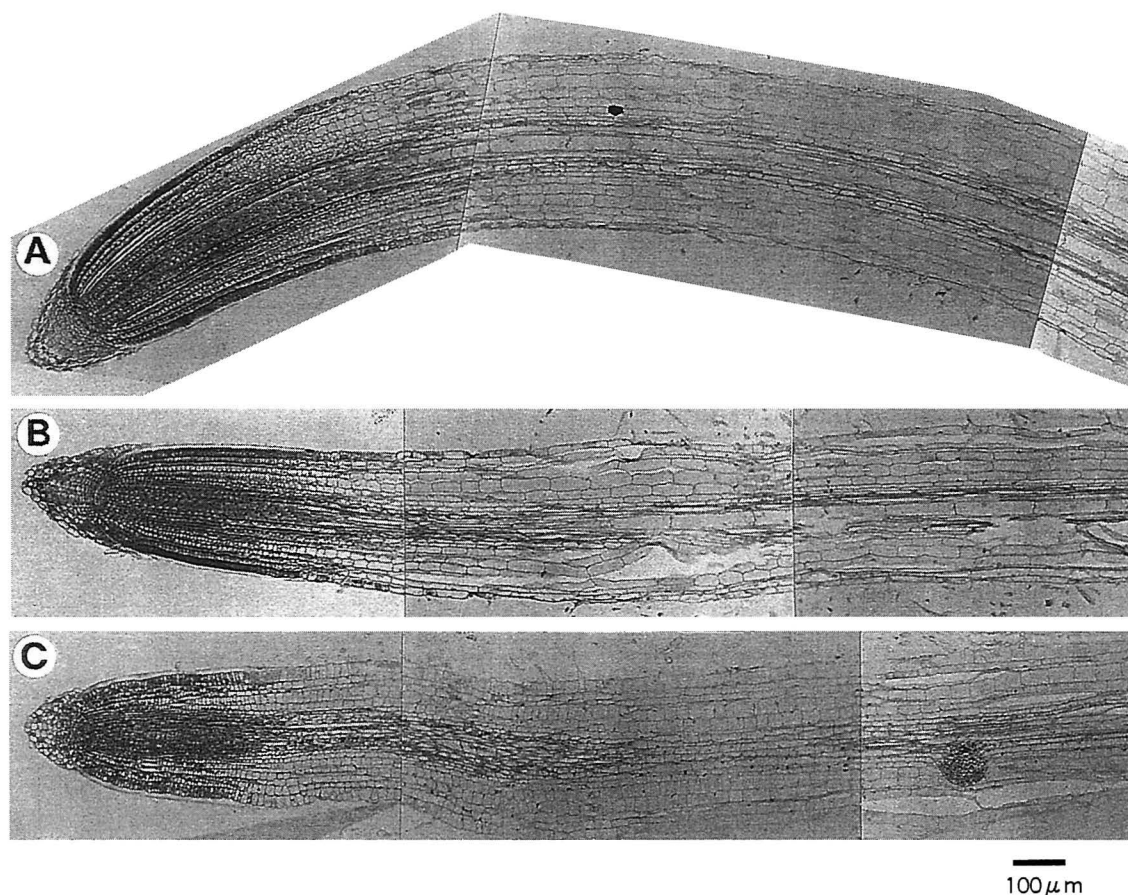


Fig. 8. Longitudinal sections of seminal roots in Shiokari (A), ID-1(B) and ID-11 (C).

きな違いは認められなかった。

3. 2重変異体の解析

d1 と *d11* の遺伝子間相互作用を明らかにするために両遺伝子を有する2重変異体を作成し、その形質発現を調査した。ID-1 と ID-11 の交雑 F_2 集団では正常型と両親型の他に極矮性を示す個体が分離し、正常型：*d1* 型：*d11* 型：極矮性型は 9 : 3 : 3 : 1 の分離比に適合した。したがって、極矮性個体は *d1* と *d11* の2重変異体であると推定された。

2重変異体では、草丈が両親型よりさらに低く (Fig. 1), 葉身長は ID-1 よりさらに短かった (Fig. 2)。稈については低頻度で第1節間が伸長することはあったが、ほとんどすべての節間伸長が抑制されていた (Fig. 9)。また、枝梗、穂軸の節間については、まれに伸長する例もみられたが、ほとんどの場合、伸長が抑制され、穂は非常にコンパクトになった。穎花は両親よりさらに小さくなり、完全不稔を示し、穎花形成が途中で停止した穂も多くみられた。したがって、2重変異体ではすべての節間の伸長が抑制されていると考えられた。

幼穂形成期の2重変異体の節間形成領域の縦断切片を観察したところ、ステージ8から10の10個体では、すべての上位節間で正常な節間組織は認められず、それらの構造は ID-11 の第2節間に類似しており、ID-1 および ID-11 の第2節間と同様に、基本分裂組織から節間が分化する際の細胞の発育異常によって節間発育に障害を引き起こしていると考えられた。また、ID-11 と同様に穂軸節間の分化は阻害されていたが、幼穂を形成する細胞は全く拡大が認められず、幼穂はさらに短かった。

また、ID-11 ではステージ12になると穂軸節間の分化が認められたが、2重変異体では正常な節間組織の分化は認められなかった。

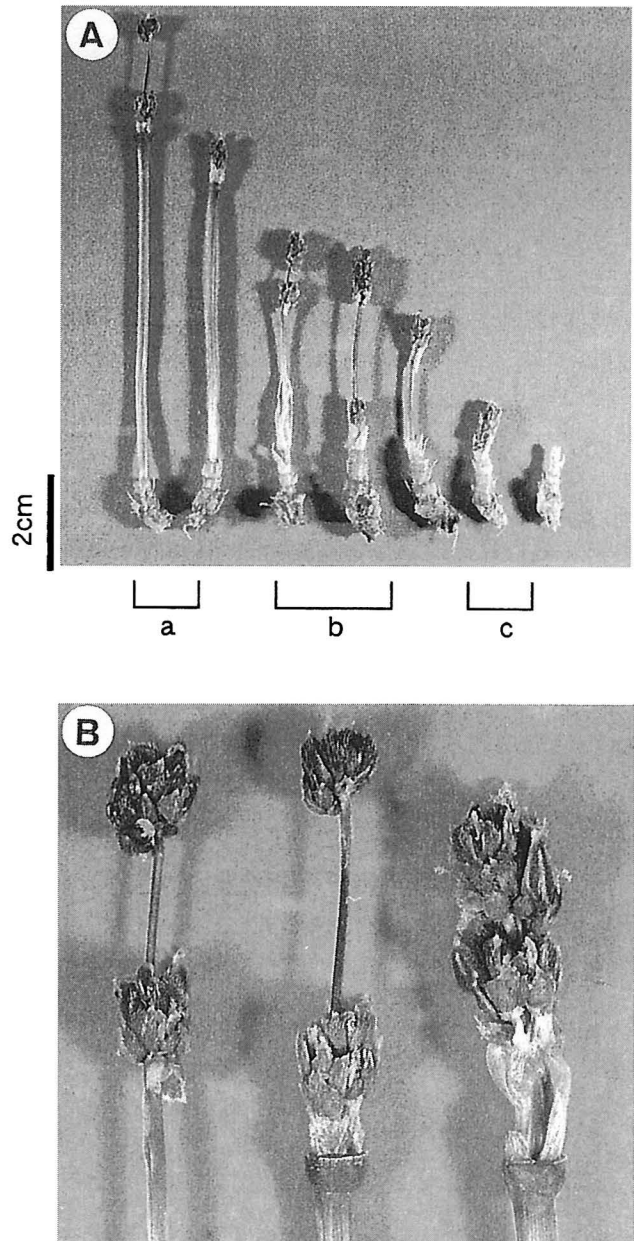


Fig. 9. Phenotypes of the double mutant (*d1*, *d11*).

- A: Panicles and naked culms.
 a: 1st internode elongation type.
 b: Rachis elongation type.
 c: No elongation type.
 B: Panicles.

考 察

dm型矮性に分類されるID-1およびID-11の組織観察の結果、第2節間の伸長抑制は節間形成における細胞拡大の異常により正常な節間組織が形成されないために起こると考えられた。このような細胞拡大の異常は幼苗期の節間形成でも認められた。そこで、種子根の組織を観察したところ、ID-11の根では伸長域が「しおかり」に比べて大きく延長しており、*d11*は細胞拡大の進行を緩やかにする作用を有すると考えられた。ID-1の根の発育は「しおかり」と大きな違いは認められず、根において*d1*の作用は認められなかった。また、*d1*と*d11*の2重変異体では、単独型よりもさらに伸長節間の細胞拡大が抑制されていたことから、*d1*と*d11*の両遺伝子は細胞拡大に何らかの異常があると考えられた。以上の結果は、正常型の対立遺伝子である*D1*および*D11*は細胞拡大に重要な働きを持つことを強く示唆する。また、*d1*と*d11*の個体レベルでの遺伝子作用の違いは明確であったが、細胞レベルにおいても、第2節間形成においては*d11*の方が細胞拡大の抑制程度が強く、さらに*d11*では第2節間以外の伸長節間および穂軸においても細胞発育の異常が認められたが、*d1*では顕著ではなかった。このことから、*d1*の細胞拡大の阻害作用は*d11*より弱いと考えられた。個体レベルでの第2節間抑制の表現度は*d1*より*d11*で高かったが、これは細胞レベルでの作用力の違いに起因していると考えられる。

細胞拡大は細胞内の高い浸透圧と細胞外の低い浸透圧との差によって、細胞内へ水を取り込み、それに応じて細胞壁が伸展することによって起こる。しかし、細胞の形を物理的に決定する細胞壁は、水の膨圧に耐えられるだけの力学的強度を持つため、細胞が拡大を続けるには細胞壁の物理的強度を緩和し、水を取り込みを可能にする仕組みが必要となる。現在この細胞壁緩和は主に、エクспанシンタンパク質による細胞壁のポリマー間（セルロースーヘミセルロース間）の結合緩和と、エクспанシンによる細胞壁の伸長程度に影響するグルカナーゼ、他の細胞壁の加水分解酵素、キ

シログルカン－エンドー糖転移酵素による細胞壁マトリクスの粘弾性の変更によって起こると考えられている¹⁴⁾。この細胞拡大のモデルから、*D1*および*D11*の機能について以下の可能性が考えられる。

第1に*D1*および*D11*がエクспанシン遺伝子の発現に関係し、細胞壁の伸長を制御する可能性が考えられる。イネではすでに4種のエクспанシン遺伝子が単離されており^{15,16)}、さらにその他にも同様な働きを持つ遺伝子の存在することが示唆されている¹⁷⁾。これら遺伝子の発現領域はそれぞれ異なっている場合が認められている。

第2に*D1*および*D11*は細胞内への水の取り込みに関与している可能性が考えられる。液胞膜主要タンパク質である γ -TIPは水チャネル機能を持つことが報告されており、液胞内への水の取り込みに関与すると考えられている。シロイヌナズナ γ -TIP遺伝子の発現領域を調査したところ、伸長している茎と根の若い組織で発現しており、 γ -TIPの発現調節が器官形成における細胞拡大に重要な役割を持つことが明らかとなった¹⁸⁾。*d1*、*d11*では伸長組織における細胞拡大が阻害されていると推定されたことから、*d1*および*d11*は γ -TIPの発現を抑制しているのかもしれない。特に本研究から*D11*が根の伸長域で発現していることが示唆されたが、シロイヌナズナ γ -TIP遺伝子の発現領域と一致する。

イネエクспанシン遺伝子、シロイヌナズナ γ -TIP遺伝子はともにジベレリン処理によってその発現が大幅に増大することが報告されている¹⁷⁾。*d1*はジベレリン非感受性の矮性遺伝子であることが報告されており⁸⁾、そのためにイネエクспанシン遺伝子あるいは γ -TIP遺伝子の発現が抑制され、細胞拡大の阻害が起こるのかもしれない。

第3に、最終的には細胞壁の伸展によって、細胞拡大が起こるので、細胞壁の異常によって細胞拡大が抑制される可能性が考えられる。細胞壁では力学的に安定したセルロース微繊維にヘミセルロースがからみつくように結合し、力学的には強いが、エクспанシンがその接着を弱めることが

できるような「ホットスポット」を持つような形で構成され则认为られている¹⁴⁾。*D1*, *D11*の欠損によって細胞壁の構造異常を引き起こし、エクспанシンが効果的に作用できないようにしているのかもしれない。また、細胞壁はその粘弾性を変更することによって、エクспанシンによる細胞壁の伸長程度に影響し、その変更にはグルカナーゼや細胞壁の加水分解酵素、キシログルカンエンドー糖転移酵素が関与していると考えられている¹⁴⁾。このことから、*D1*および*D11*は細胞壁の粘弾性に関与し、その欠失によって、効率的な細胞拡大が阻害されている可能性も考えられる。

ID-1およびID-11では、シロイヌナズナ *DIM* 遺伝子のイネのホモログ遺伝子の転写量が減少していることが報告されている¹⁹⁾。シロイヌナズナ *DIM* の loss of function 突然変異体では正常な細胞拡大が阻害され、植物細胞の成長に重要な働きを持つ β -チューブリン遺伝子の *TUB1* の発現が抑制されていた。また、*dim* 変異体は暗所ではその伸長能力を幾分回復することが報告されている²⁰⁾。イネ *DIM* 遺伝子の染色体上の座位は *D1* および *D11* とは異なっているため、*D1*, *D11* はイネ *DIM* 遺伝子の発現を直接的か間接的に上位で調節すると考えられているが、イネ *DIM* 遺伝子の機能については分かっていない。したがって、*d1*, *d11* の示す表現型とイネ *DIM* 遺伝子の発現抑制との関係は不明な点が多く、今後の解析が待たれる。

イネ科の節間伸長で特徴的なのは介在分裂組織を分化することであるが、*d1* および *d11* の第2節間の組織観察では、節間細胞の拡大が不十分な状態で、介在分裂組織が形成されなかった。このことは、*d1* および *d11* の非伸長節間では、細胞拡大が緩やかに起こるために、それらに関連して起こる細胞の発育全体が遅延しているためかもしれない。

今回の実験結果から、*d1* および *d11* では、第2節間以外でも細胞発育の異常が認められたことや、単独型では多くの場合、第2節間のみ伸長阻害するのに対して、*d1* と *d11* の2重変異体ではすべての節間の介在分裂組織が分化せず、伸長が

阻害されたことから、なぜ第2節間で特異的に伸長の抑制が起こるのかは不明である。第2節間では他の節間よりも介在分裂組織の分化阻害が起こりやすいために、特異的に伸長抑制されることが考えられる。第2節間は栄養成長から生殖成長への転換時期に前後して分化している。この相転換によって穂の分化といった劇的な形態変化を生じることが、そのためには内的な変化も大きいと考えられ、このことが節間形成に何らかの影響を与える可能性は高いと考えられる。

摘 要

- (1) *dm* 型矮性に分類される *d1* および *d11* は全体的なサイズの減少を示し、第2節間特異的に節間の伸長を抑制する。第2節間の伸長抑制は節間分化初期に認められる細胞発育の異常によって、介在分裂組織の形成が阻害されるために起こることが推定された。
- (2) *d1* および *d11* は第2節間以外の節間においては伸長阻害には至らないが、第2節間と同様な細胞発育の異常が認められた。
- (3) 根の組織観察から、*d11* は細胞拡大の進行を抑制すると推定された。
- (4) *d1* と *d11* の2重変異体ではすべての節間の介在分裂組織の分化が阻害され、伸長が抑制されており、*d1* と *d11* は細胞発育の阻害に対して、相加的に作用すると考えられた。
- (5) 第2節間は栄養成長から生殖成長への相転換の時期に分化することから、相転換に伴う植物体の内的変化のために、他の節間に比べて *d1* および *d11* による介在分裂組織の分化阻害を受け易く、*dm* 型(第2節間非伸長型)が形成されることが考えられた。

謝 辞

本研究の遂行に当たり、北海道大学農学部教授佐野芳雄博士、岡山大学資源生物科学研究所教授武田和義博士並びに名古屋大学農学部助教授北野英巳博士には有益なご助言を頂いた。ここに記して感謝の意を表する。

引用文献

1. KINOSHITA, T.: Report of committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. *Rice Genetics Newsletter* **12**: 9-153. 1995
2. MORISHIMA, H. and H.I. OKA: Analysis of genetic variations in plant type of rice. III. Variations in general size and allometric pattern among mutant lines. *Jap. J. Genetics* **43**: 181-189. 1968
3. 高橋萬右衛門・武田和義: 節間長比の型による水稻品種群の群別。一稲の交雑に関する研究 X X X VII 報—北大農邦文紀要 **7**: 44-50. 1969
4. TAKEDA, K.: Internode elongation and dwarfism in some gramineous plants. *Gamma Field Symposia* **16**: 1-20. 1977
5. 猪原由久・浅井理絵・呉雄・武田和義・北野英巳: 大黒型矮性イネに見られる dm 型表現力の変異性。育雑 **47**(別2): 228. 1997
6. 細井徳夫: イネ節間の伸長制御と環境(2) 非伸長節間の伸長を制御する環境要因とその作用時期。東北大農研報 **26**: 133-145. 1975
7. 高橋成人: 遺伝子の形質発現と環境。—dm 遺伝子の行動と IAA oxidase 活性— 育雑 **27**(別2): 116-117. 1977
8. MITSUNAGA, S., T. TASHIRO, and J. YAMAGUCHI: Identification and characterization of gibberelin-insensitive mutants selected from among dwarf mutants of rice. *Theor. Appl. Genet.* **87**: 705-712. 1994
9. 芦荻基行・呉健中・矢野昌裕・佐々木卓治・吉村淳: Map-based cloning 法を用いたイネ Dwarf1 遺伝子の単離。育雑 **48**(別2): 70. 1998
10. MAEKAWA, M.: Allelism test for the genes responsible for sheathed panicle. *Rice Genetics Newsletter* **3**: 62-63. 1986
11. MAEKAWA, M.: Character expression and interactions of genes controlling upper internode lengths in rice. *SABRAO J.* **23**(1): 1-13. 1991
12. RUTGER, J.N. and H.L. CARNAHAN: A fourth genetic element to facilitate hybrid cereal production — a recessive tall in rice. *Crop Sci.* **21**: 373-376. 1981
13. 松島省三・真中多喜夫: 水稻幼穂の発育経過とその診断。全茎を対象とした幼穂の発育経過とその基準及び各発育段階の特徴。農業技術協会。東京。1956
14. COSGROVE, D.J.: Plant cell enlargement and the action of expansins. *Bioassays* **18**: 533-540. 1996
15. SHCHERBAN, T.Y., J. SHI, D.H. DURACHKO, M.J. GUILTINAN, S.J. MAQEEN-MASON, M. SHIEH and D. J. COSGROVE: Molecular cloning and sequence analysis of expansins — A highly conserved, multigene family of proteins that mediate cell wall extension in plants. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* **92**: 9245-9249. 1995
16. CHO, H.-T., and H. KENDE: Expression of expansin genes is correlated with growth in deepwater rice. *Plant cell* **9**: 1661-1671. 1997a
17. CHO, H.-T., and H. KENDE: Expansins in deepwater rice internodes. *Plant Physiol.* **113**: 1137-1143. 1997b
18. LUDEVID, D., H. HOFTE, E. HIMELBLAU, and M.J. CHRISPEELS: The expression pattern of the tonoplast intrinsic protein γ -TIP in *Arabidopsis thaliana* is correlated with cell enlargement. *Plant Physiol.* **100**: 1633-1639. 1992
19. 李陶・亀谷七七子・福田善通・北野英巳・中村郁郎: イネ DIM (diminuto) 遺伝子の解析。育雑 **47**(別2): 106. 1997
20. TAKAHASHI, T., A. GASCH, N. NISHIZAWA and N.-H. CHUA: The DIMINUTO gene of *Arabidopsis* is involved in regulating cell elongation. *Genes Dev.* **9**: 97-107. 1995

Character Expression of Two Kinds of Dwarf Genes (Daikoku Dwarf (*d1*) and Norin 28 Dwarf (*d11*)) in Rice

Hironobu HAYASHI* and Itsuro TAKAMURE

(Plant Breeding Institute, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo

060-8589, Japan, *Present address : Takii Plant Breeding & Experiment Station,

Takii Seed Co., Ltd. Kohseicho, Kohka-gun Shiga, 520-3231, Japan)

(Received February 9, 1999)

Summary

In rice, about 60 dwarf genes have been reported and characterized. Takahashi & Takeda (1969) and Takeda (1977) revealed that by taking the internode ratio as an index, dwarfism could be classified into five basic types: dn, dm, d6, nl and shp. In this study, we investigated character expressions of two genes, *d1* and *d11*, which were included in the dm type. The dm type was characterized by the noticeably shortened second internode. A normal type cultivar, Shiokari, and two near isogenic lines, ID-1 and ID-11 having *d1* and *d11*, respectively, were used.

Cytohistological comparison on second internodes suggested that abnormal cell developments of ID-1 and ID-11 at the early differential stage of the second internode induced inhibition of intercalary meristem formation and inhibition of second internode elongation. Although first, third and fourth internodes of ID-1 and ID-11 elongated, their abnormal cell developments were observed like to be second internodes. Cytohistological observation on seminal roots showed that *d11* suppressed the process of cell enlargement. In the double mutant (*d1*, *d11*) segregated in F₂ population of the cross, ID-1×ID-11, inhibitions of intercalary meristem differentiation and elongation of all internodes were observed. This phenotype indicated that additive effects on inhibition of cell development were between *d1* and *d11*. In this study, we could not determine why inhibition of elongation was observed at only the second internode. The stage of second internode differentiation was synchronized with the phase change from vegetative to reproductive growth. It was supposed that endogeneous change at the phase change of growth affected the cell development of the second internode in ID-1 and ID-11.