



イネ矮性同質遺伝子系統の形質発現 II. 第3節間柔細胞の分裂と伸長に対するd_2遺伝子の作用

上島, 脩志
竹中, 由美子
長澤, 秀起

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 16(2):377-384

(Issue Date)

1985-01-31

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00225555>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00225555>



イネ矮性同質遺伝子系統の形質発現

I. 第3節間柔細胞の分裂と伸長に対する d_2 遺伝子の作用*

上島 脩 志**・竹中 由美子***・長澤 秀 起****

(昭和59年8月10日受理)

CHARACTER EXPRESSION IN A DWARF ISOGENIC LINE OF RICE

II. The Action of Dwarf Gene d_2 on Cell Proliferation and Cell Elongation in Parenchyma of the Third Internode

Osamu KAMIJIMA, Yumiko TAKENAKA and Hideoki NAGASAWA

Abstract

It was attempted to clarify the time and mode of expression of the dwarf gene d_2 during the development of the third internode of rice. Materials used were a normal variety 'Taichung 65' (T65) and its dwarf near-isogenic line, T65 d_2 . Internode length and cell length and cell numbers per file of cells in the parenchyma were observed from the onset of differentiation of the internode to the end of its growth.

Up to the time when the central lacuna become visible in the internode, the rate of increase in the internode length, cell length and cell numbers was very low in both the lines, and varietal differences in these characters could scarcely be recognized.

In both the lines, a rapid increase of cell numbers took place as soon as the central lacuna differentiated, and subsequently, a prominent cell elongation also occurred, bringing about a rapid elongation of the internode. But the rate of increase in the internode length, cell length and cell numbers of T65 d_2 was lower than that of T65. On the other hand, the duration of the total growth period of the internode in T65 d_2 seemed to be nearly the same as in T65. As the results, the final length of the internode of T65 d_2 became remarkably shorter than that of T65 because both the cell length and the cell numbers in the mature internode were reduced as compared with those of T65.

From the above results, it was considered that the d_2 gene manifests its marked effects on the cell division and cell elongation after the differentiation of the intercalary meristem.

緒 言

禾本科作物の矮性又は短稈系統における節間短縮の原因を、細胞レベルで明らかにしようとした研究はすでにいくつか報告されている。SWENSON¹⁹⁾はオオムギの brachytic と正常品種を用い、また NILSON *et al.*¹⁷⁾は稈長の異なるコムギ8品種を用いて、それらの節間につ

いて縦に並ぶ表皮細胞及び柔細胞の長さや数を比較し、矮性又は短稈系統で節間の短い原因は、多くの場合その細胞数が少ないためであることを明らかにした。しかしコムギ農林10号では、各節間ともその細胞長が正常品種や他の短稈系統に比べて、著しく短くなっていることも知られている¹⁷⁾。

イネについても、上島⁵⁾及び上島・永井⁷⁾は数系統の矮性稲を用いて、それらの各節間が正常稲の対応する節間より短い場合は、例外なくその柔細胞数が少なく、いずれの節間でも節間長と細胞数との間に高い正の相関があること、しかし節間によっては細胞長が短い系統もあることなどを明らかにした。KITANO and FUTSUHARA¹³⁾は、フジミノリからの人為突然変異系統ふ系71号を高温

*本研究の一部は文部省科学研究費 一般研究 (C) によって行われた。

** 作物育種学研究室

*** ネッスル日本神戸本社

**** 神戸大学大学院自然科学研究科

条件下で生育させると節間が著しく短縮し、その原因は柔組織の縦列細胞数が少なくなるためであることをみている。

このように、矮性遺伝子が節間を構成する細胞の分裂や伸長に対する影響は、遺伝子の種類や節間の位置によって異なるものと考えられる。

一方、矮性遺伝子の細胞レベルへの作用が、節間発育のいずれの時期に発現するかを明らかにしようとした研究は少ない。IM⁴⁾はトウモロコシの pigmy-1 で、茎頂の大きさが正常系統より小さく、その原因は茎頂を構成する細胞の数が少ないためであることをみた。一方、ABBE and PHINNEY¹⁾はトウモロコシの dwarf-1 で、その茎頂の大きさや細胞構成は正常系統と変わらないが、節間分化後に細胞分裂と細胞伸長の程度が低くなることをみている。しかしイネに関しては上記のような研究はまだ報告されていない。

そこで本研究は、台中65号の矮性同質遺伝子系統を用いて、1つの節間の分化初期から生長完了まで、その伸長に伴う細胞数と胞長の変化を調べ、この節間における遺伝子発現の時期とその細胞レベルへの作用を知ろうと試みた。

材料及び方法

材料として台中65号（以後T65と記す）と、これを矮性稲夷 (d_2 遺伝子を持つ) に8回戻し交雑して得られた矮性同質遺伝子系統¹⁵⁾（以後T65 d_2 と記す）を用いた。これら2系統の種子を約24時間催芽した後、1979年5月17日に苗代へ播種し、6月27日に水田へ移植した。施肥量は、苗代、水田ともにN, P_2O_5 , K_2O のいずれも10kg/10aとし、水田での栽植密度は30cm×15cmの1本植えとした。

第3節間の分化期と推定される7月27日からこれが生長を完了するまで、3日目ごとに各系統10個体を抜き取り、主稈の穂長と上位から4つの節間長、及び止葉の葉身と葉鞘の長さを測定した。これらの経時的変化については既に報告したとおりである⁶⁾。本実験ではこれらの個体から、各系統・各時期で平均値に近い値を示したものを2～4個体選び、その第3節間について、パラフィン包埋法による縦切片を作成した。これをデラフィールドのヘマトキシリンで染色し、節間柔細胞の観察に用いた。節間長が約1cm以上伸長したものについては、節間の上端と下端を含む4～6部位で観察を行い、既報⁵⁾と同様の方法で節間内に縦に並ぶ一層の柔細胞の数と長さを推定した。節間長が1cm未満の発育初期（7月27日から8月14日ないし17日まで）は、節間上端から下端に並ぶ一層の細胞全てを観察した。いずれの場合も、原

則として大維管束から随腔側へ数えて2層目の細胞を調査対象とした。ただし大維管束が未分化の時期には、節間の中心線と表皮との中央部分に縦に並ぶ細胞層で測定を行った。

なお本実験結果で示す発育初期の節間長は、パラフィン切片を用いて測定したものであり、以後は外部から測定したものである。後者による節間長は、第3節間をはさむ上下2つの節の中央部間の長さとしたので、これと対応させるため、パラフィン切片でも第3節間をはさむ2つの節横隔壁形成部の中央部間の長さとした。真の節間長は、本来節又は節横隔壁の厚さを除外した部分の長さであると考えられる。したがって、本実験でいう節間長は真の節間長よりいく分長く、特に、節間が急速に伸長する以前の節間長は、真の節間長より約30%長くなっている。

結 果

Fig. 1とFig. 2には、それぞれT65とT65 d_2 における第3節間の発育初期の様子を示した。

T65及びT65 d_2 のいずれにおいても、7月27日には、止葉から数えて2枚目と3枚目の葉の着生する位置に、それぞれ上下にある細胞より明らかに小さな細胞が密に層状に分布する節横隔壁形成部¹¹⁾が分化しており、これら2つの節横隔壁形成部にはさまれた部分として、第3節間を認めることができた（Fig. 1 A,C及び Fig. 2 A,C）。この時期に、T65は調査した4個体中3個体で、またT65 d_2 は4個体中2個体で、幼穂が苞原基増加期^{16,20)}の状態にあり、他の個体では幼穂の分化がみられなかった。以後この日を仮に第3節間分化期ということにする。

Table 1には第3節間発育初期の、また Fig. 3にはこの節間の分化期から伸長完了時までの節間長、細胞長及び細胞数の経時的変化を、各系統ごとに示した。なお Table 1には、標本の各採取時期における幼穂発育段階も示してある。

第3節間分化期の7月27日におけるT65の節間長は0.39mm、T65 d_2 のそれは0.27mmであった。T65の節間は8月11日（節間分化後15日目、以後カッコ内は節間分化後日数を示す）まで、またT65 d_2 のそれは8月14日（18日目）まで、その伸長の絶対量は極めて小さく、この間に4～5mm伸長するにすぎなかった。そして8月11日までは、同一日で比較するとT65 d_2 の節間はT65より短い傾向にあったが、その差は極めて小さかった。この時期を過ぎると、T65はT65 d_2 よりやや早期に急激な伸長を開始し、8月14日には明らかな系統間差異が認め

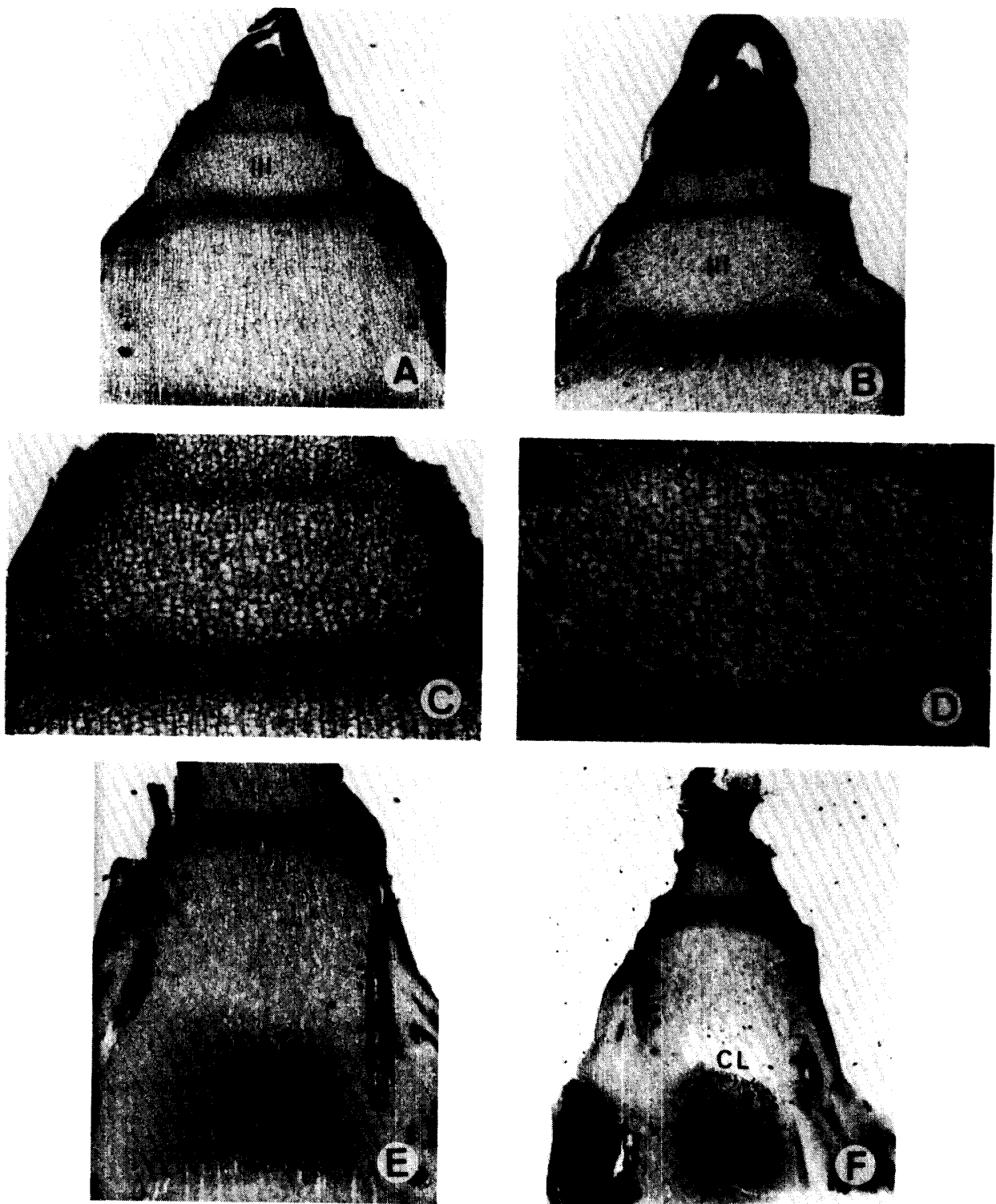


Fig.1 A-F. Development of the 3rd internode (III) of T65 (normal variety) as seen in median longitudinal sections. A. View of shoot sampled immediately after differentiation of the 3rd internode (July 27) . C. Magnified view of the 3rd internode from the same shoot as in A. B and D show shoot and magnified view of the 3rd internode, respectively, at July 30. E and F. View in Aug. 2 and Aug. 8, respectively. In F, a central lacuna (CL) is visible in the 3rd internode. (A,B,E, *ca.* $\times 35$; C, D, *ca.* $\times 75$; F, *ca.* $\times 15$)

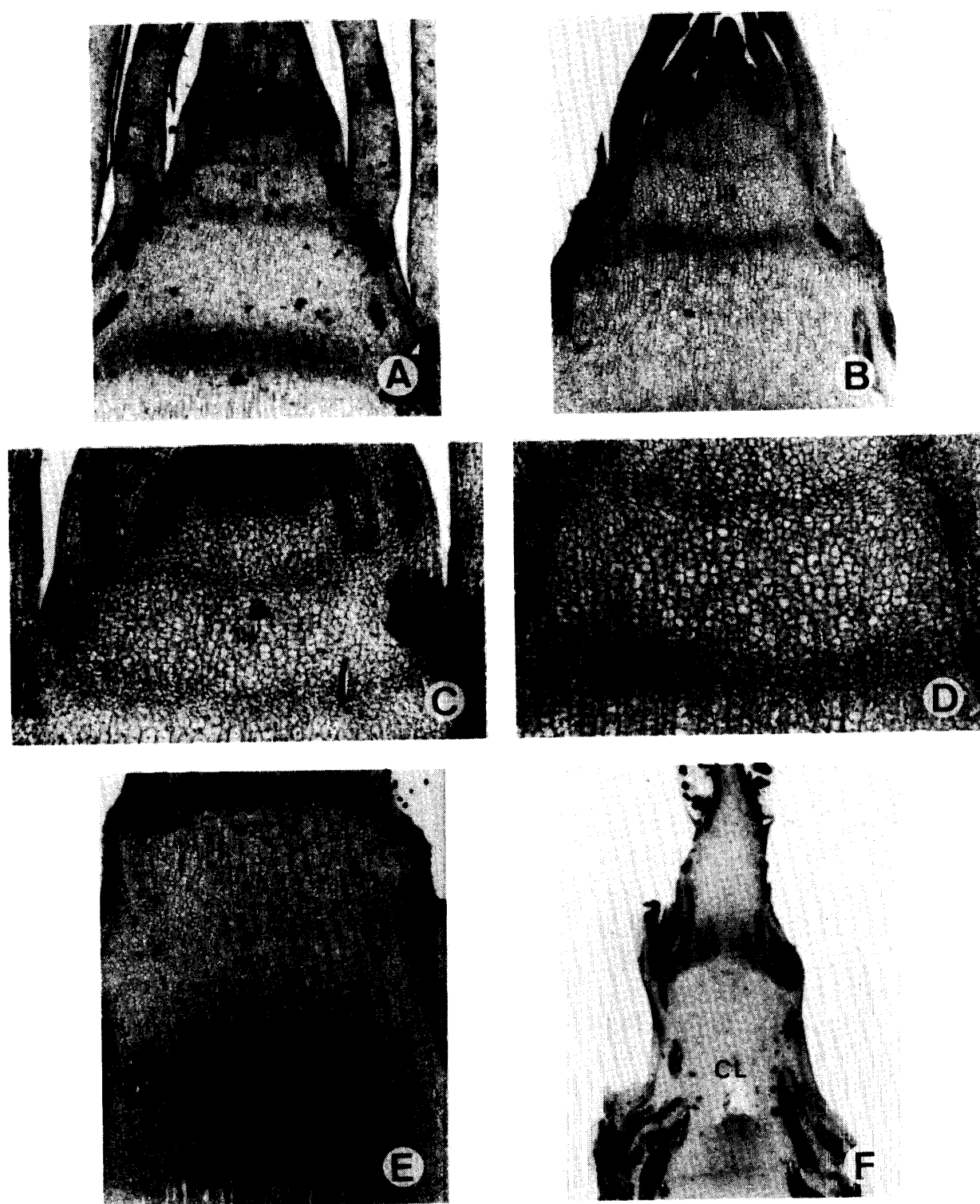


Fig.2 A-F. Development of the 3rd internode (III) of T65d₂ (dwarf line) as seen in median longitudinal sections. A. View of shoot sampled immediately after differentiation of the 3rd internode (July 27) . C. Magnified view of the 3rd internode from the same shoot as in A. B and D show shoot and magnified view of the 3rd internode, respectively, at July 30. E and F. View in Aug. 5 and Aug.11, respectively. In F, a central lacuna (CL) is visible in the 3rd internode. (A,B,E, *ca.* $\times 35$; C,D, *ca.* $\times 75$; F, *ca.* $\times 11$)

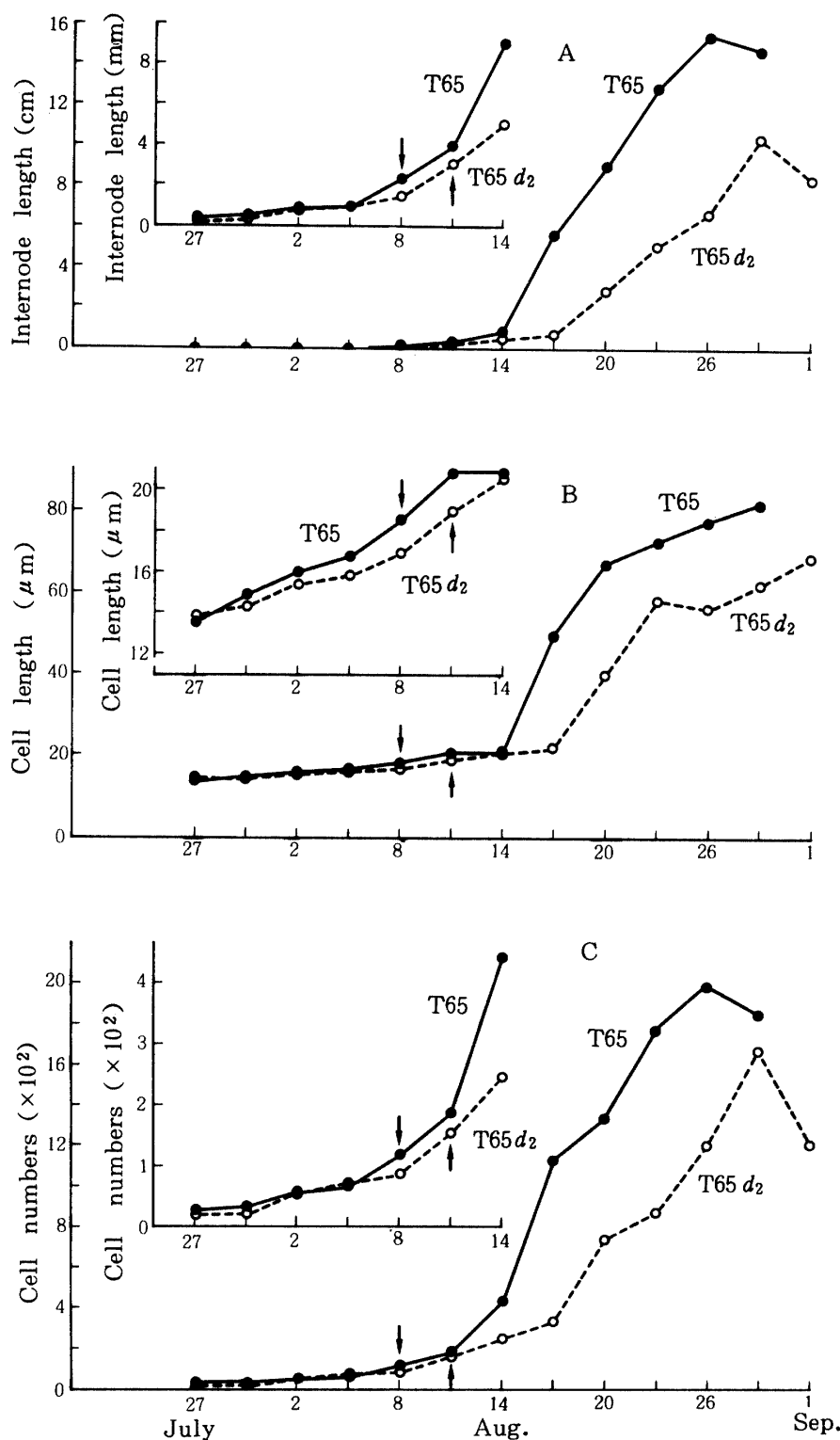


Fig. 3 Length of the 3rd internode (A) and cell length (B) and cell numbers per file (C) in parenchyma of this internode in T65 and its dwarf near-isogenic line, T65d₂, at various stages of development.

Arrows indicate the time when a central lacuna became visible in the 3rd internode of T65 and T65d₂.

られるようになった。以後その差が拡大して、T65の最終節間長は約15cm、T65d₂のそれは約9 cm となった。そして各時期・各系統10個体について外部から測定した節間長には、8年14日以降有意な系統間差異が認められた。

なお、過半数の個体の節間に随腔が認められるようになったのは、T65で8月8日(12日目)、T65d₂で8月11日(15日目)であり、それぞれこの日より後には全個体の節間にこれが存在した (Fig. 1 F, Fig. 2F及びFig. 3)。

両系統の節間分化当初の柔細胞長はいずれも約14 μmであった。その後T65の細胞は8月14日(18日目)まで、T65d₂のそれは8月17日(21日目)まで極めてゆるやかに伸長し、いずれの系統もそれぞれの時期まで約20 μmに達するにすぎなかった。この間、T65d₂の細胞長はT65のそれよりやや短い傾向にあった。T65の細胞は8月14日(18日目)以降になると急速に伸長し、約80 μmとなってその伸長を完了していた。一方、T65d₂の細胞はT65よりやや遅れて8月17日(21日目)以降に顕著な伸長を行ったが、同一日で比べればその長さは常にT65より短く、最終細胞長は約70 μmであった。

T65の細胞数は、7月27日から8月8日までの間に約30個から120個へ、またT65d₂のそれは同じ期間に約20個から90個へと増加した。しかし、いずれも節間の全伸長期間を通してみれば、この時期における細胞数増加の程度は小さ

Table 1. Internode length, parenchyma cell length, estimated cell numbers per file, and developmental stage of panicle in T65 and its dwarf near-isogenic line, T65 d_2 , for early stages of development of the 3rd internode

Sampling date	Internode length		Cell length		Cell numbers		Developmental stage of panicle	
	T65	T65 d_2	T65	T65 d_2	T65	T65 d_2	T65	T65 d_2
	mm		μ m					
July 27	0.39	0.27	13.6	13.9	29	19	I	0 - I
30	0.52	0.30	14.9	14.3	35	21	II	I - II
Aug. 2	0.95	0.91	16.0	15.4	59	57	III	III
5	1.11	1.09	16.8	15.8	66	69	III - IV	III - IV
8	2.31	1.54	18.5	16.9	120	89	IV - V	IV
11	3.97	3.10	20.9	19.0	189	158	V - VI	V
14	9.11	5.09	20.9	20.6	443	248	—	VI
17	55.50	7.20	49.4	22.1	1135	333	—	—

0 - VI show the stages of differentiation of organ primordia or cells in shoot apex, panicle or spikelets. 0 : boot leaf, I : bract, II : primary rachisbranch, III : secondary rachis-branch, IV : spikelet, V : pistil and stamen, VI : pollen mother cell.

—Not observed

く、また、T65 d_2 の細胞数はT65よりやや少ない傾向はあったが、その差は小さかった。T65では、節間に随腔が認められるようになった8月8日から細胞数の急速な増加が始まり、節間の伸長完了時には、1800~2000個となった。T65 d_2 も随腔形成期の8月11日前後から細胞数が著しく増加し始めたが、その程度はT65に比べて明らかに小さく、最終的な細胞数は1400~1700個であった。

節間伸長過程には、両系統に共通して次のような特徴が認められた。すなわち、①節間に随腔が形成されるのはそれが2~3mm になってからであること、②節間の急速な伸長と細胞数の著しい増加は、節間に随腔が形成される前後から始まること、③細胞の著しい伸長は、細胞数の著しい増加の開始より数日遅れて始まることである。その他に、いずれの系統でも、細胞数増加及び細胞伸長は、節間伸長期間の後期まで持続することが認められた。

なお、同一日に採取した個体で比較すると、T65の幼穂发育段階はT65 d_2 のそれよりやや早い傾向が認められた (Table 1)。そして、T65の半数の個体が出穂した日は平均で8月27.8日、T65 d_2 のそれは8月29.3日で、前者は後者より約1.5日早かった。

考 察

イネ正常品種の節間发育に関する内部形態的な研究は、すでにいくつか報告されている^{3,9,11,12,18)}。川原ら¹¹⁾は、

節間に空隙 (本報でいう随腔) が形成される頃、その節間に節間分裂組織 (intercalary meristem) が分化し、第3節間におけるその時期は、出穂日のおよそ20日前であること、第3節間が1~2mm に達してから急速伸長期に入るまでの日数は、4~5日であることなどをみている。本実験では、各系統・各時期で供試した個体数が少なく、さらに節間がその伸長過程にある時期には、同一日にサンプルした同一系統の個体でも、穂の分化程度を指標としてみると、個体によってその发育段階がやや異なる場合があった。しかし、T65とT65 d_2 でみられた節間伸長の一般的特徴は、上記のような従来知られているそれとはほぼ一致していた。したがって、本実験で得られた結果は、両系統の第3節間の正常な发育過程をよく反映しているものと考えられる。ただし、細胞長や細胞数についての絶対値は、測定や推定の方法によっていく分変動する。とくに、1cm 以上伸長した節間では、いくつかの部位で観察した細胞長に基づいて、節間全体の細胞の平均長と細胞数を推定しているの、それらの絶対値に対する信頼性はやや低いものと推察される。しかし、これらについても、系統間での相対的な比較は十分可能であると考えられる⁷⁾。

本実験によって、T65 d_2 の第3節間の最終的な長さがT65のそれより短い原因は、前者の節間内に縦に並ぶ細胞の数が少なく、その長さも短いためであることが明らかとなった。これと同様の結果は、栽培品種「しおかき」

の遺伝的背景に d_2 遺伝子を持つ矮性準同質遺伝子系統の上位3つの節間においても得られている⁸⁾。したがって、 d_2 遺伝子は台中65号及びしおかりのいずれの遺伝的背景のもとでも、節間の分化・伸長のある過程で、細胞の垂層分裂と伸長の両方を抑制する作用を発現するものといえよう。

一般に、節間をはじめとする地上部諸器官は、茎端分裂組織から分化する。したがって、各器官の長さは、この組織の大きさや細胞分裂活性の程度に影響されることが予想される。すでに述べたトウモロコシの Pigmy-1 は、正常系統により茎端分裂組織における細胞の分裂活性が低いために矮性化するものと考えられる。一方、各器官はそれが分化した後も、それ独自の分裂組織と細胞伸長活性を有する組織を持っている。節間の intercalary meristem と、その上部にある細胞の伸長帯¹²⁾はその1つの例である。したがって、矮性遺伝子が茎端の大きさやその細胞分裂活性に影響を及ぼさない場合でも、各器官独自の組織において、細胞の分裂や伸長を抑制する作用を発現し、器官の長さを減少させる可能性もある。トウモロコシ dwarf-1 のもつ矮性遺伝子は、節間の分化後にその作用を発現するようになる遺伝子の例であると考えられる。

第3節間分化後の観察によって得られた本実験結果からは、 d_2 遺伝子発現の時期と様式について、次のように考察される。両系統とも7月27日にはすでに第3節間が分化しており、この時から、T65 d_2 の節間長はT65よりやや短い傾向があった。しかしT65 d_2 は、節間に随腔が形成される時期、節間伸長が著しくなる時期、それが停止する時期、幼穂の発育段階及び出穂日のいずれについても、T65よりわずかに遅れていた。したがってT65 d_2 の第3節間分化期もT65のそれより遅いと考えられ、少なくともT65のそれは7月27日以前であった可能性が高い。そこで、T65の第3節間分化期は両系統間の出穂まで日数における差(約1.5日)だけT65 d_2 より早いと仮定し、Fig. 3でT65の横軸を1.5日ずらして、両系統の節間の発育段階をそろえてみると、随腔形成期までは節間長、細胞長及び細胞数のいずれについても、ほとんど系統間差異が認められなくなる。このことから、 d_2 遺伝子は節間分化後しばらくの間は、細胞の分裂と伸長に影響を及ぼさないものと推察される。一方、随腔が形成された後では、T65 d_2 の節間伸長、細胞数増加及び細胞伸長の程度が、明らかにT65より低くなり、たとえ上記のように節間の発育段階をそろえてみても、それらの形質値に系統間差が認められる。したがって、 d_2 遺伝子は intercalary meristemが分化した後に、この組織におけ

る細胞分裂活性と、伸長帯における細胞伸長活性とを低下させ、その結果節間の短縮をもたらすものと考えられる。

川原ら¹¹⁾及び川原・和田¹²⁾によれば、約20cmに伸長する第2節間の表皮の1列細胞数は、節間長が約0.5cmとなったとき、すでに節間伸長完了時の細胞数の半分に達しており、節間が最終の長さの2/3にまで伸長した頃には、表皮細胞の分裂は停止するとされている。KAUFMAN¹⁰⁾もエンバクの第2節間で、それが最終長の約40%の長さに達する頃に、表皮細胞の分裂が終ることをみている。さらに川原ら¹¹⁾は、intercalary meristemの分裂が最後まで続く組織は表皮及び皮層繊維形成部であることを指摘している。ところが本実験で調査した柔細胞数の増加は、いずれの系統でも、上記の表皮細胞数の増加に比べて、節間伸長の後期まで持続しているように思われた。この原因の1つとして、細胞数の推定誤差が考えられる。しかしHANSEN²⁾は正常型トウモロコシの中茎で、皮層細胞(柔細胞)数がその伸長完了時まで増加し続けることを明らかにしているので、柔細胞の分裂持続期間については、さらに検討する必要がある。

上記のような問題点はあるにせよ、細胞分裂と細胞伸長の持続期間のいずれについても、本実験の供試系統間にはほとんど差がないものとみられた。したがって、 d_2 遺伝子が第3節間の短縮をもたらすのは、分裂組織や伸長帯の活性を早く失わせるためではなく、単位時間当たりの細胞分裂数と細胞伸長とを減少させるためであると考えられる。細胞分裂数を減少させる要因としては分裂活性を有する細胞数の減少や1細胞周期の所要時間の延長などがあげられる¹⁴⁾。しかし、本実験ではそれらのいずれであるかを明らかにすることはできなかった。

摘 要

1. 台中65号(T65)とその遺伝的背景に d_2 遺伝子を含む矮性同質遺伝子系統(T65 d_2)を用いて、第3節間の分化初期から、その伸長とそれに伴う節間柔細胞の数と長さの変化を調べ、この節間における遺伝子の発現時期とその細胞レベルへの作用を明らかにしようと試みた。
2. T65 d_2 の最終節間長はT65のそれより明らかに短く、その原因は細胞数が少なくかつ細胞長も短いためであった。
3. 両系統とも、節間に随腔が形成されるまでの発育初期では、節間長、細胞長及び細胞数の増大はいずれも極めてゆるやかで、この期間における諸形質値に系統間差異はほとんど認められなかった。しかし、随腔形成後に

は、いずれの系統もまず細胞数が著しく増加し始め、次いで急速な細胞伸長が起こり、その結果節間の急速な伸長がみられるようになった。しかし、T65 d_2 のそれらの程度はいずれもT65より低かった。

4. T65 d_2 の第3節間分化期はT65よりやや遅れるものと思われたが、それに伴って節間伸長停止時期も遅れていたで、この節間の伸長期間には両系統で差異はないものと推察された。

5. 以上のことから、 d_2 遺伝子の著しい作用は節間に intercalary meristem が分化してから発現し、単位時間当たりの細胞分裂数と細胞伸長とを正常系統より低下させることによって、節間の短縮をもたらすものと考えられた。

謝 辞

供試材料の同質遺伝子系統は、国立遺伝学研究所から譲り受けたものである。これらを御恵与下さった岡彦一博士、森島啓子博士、佐野芳雄博士に心から御礼申し上げます。また種々の御示唆を賜った愛知教育大学北野英己博士に深く感謝の意を表します。

引用文献

- 1) ABBE, E. C. and B. O. PHINNEY : *Genetics*, **27**, 129, 1942.
- 2) HANSEN, A. : *Amer. J. Bot.*, **44**, 381-390, 1957.
- 3) 細田友雄・岩崎文雄 : 日作紀, **28**, 266-268, 1960.
- 4) IM, H. B. : *Seoul Univ. J., Biol. & Agr. Ser.*, **9**, 93-107, 1959.
- 5) 上島脩志 : 育雑, **31**, 302-315, 1981.
- 6) 上島脩志・竹中由美子 : 神大農研報, **15**, 35-42, 1982.
- 7) 上島脩志・永井耕介 : 神戸大学大学院自然科学研究科紀要, 2-B, 15-24, 1984.
- 8) 上島脩志 : イネの矮性遺伝子が諸組織の細胞分裂と細胞伸長に及ぼす影響〔昭和58年度科学研究費補助金(一般研究C)研究成果報告書〕, pp.33, 1984.
- 9) KAUFMAN, P. B. : *Phytomorphol.* **9**, 382-404, 1959.
- 10) KAUFMAN, P. B., S. J. CASSELL and P. A. ADAMS : *Bot. Gaz.*, **126**, 1-13, 1965.
- 11) 川原治之助・長南信雄・和田 清 : 日作紀, **37**, 372-383, 1968.
- 12) 川原治之助・和田 清 : 日作紀, **37**, 384-393, 1968.
- 13) KITANG, H. and Y. FUTSUHARA : *Japan. J. Breed.*, **32**, 146-154, 1982.
- 14) LIU, P. B. W. and J. B. LOY : *Amer. J. Bot.*, **63**, 700-704, 1976.
- 15) 森島啓子 : 矮性遺伝子の遺伝育種学的研究(昭和48~50年度文部省科学研究費総合研究Aによる研究成果報告書, 高橋隆平編), 39-49, 1976.
- 16) NAGAI, I. : *Japonica rice. Its breeding and culture*, p.455-483, Yokendo, Tokyo, 1959.
- 17) NILSON, E. B., V. A. JOHNSON and C. O. GARDNER : *Bot. Gaz.*, **119**, 38-43, 1957.
- 18) 末次 勲 : 日作紀, **37**, 489-498, 1968.
- 19) SWENSON, S. P. : *J. Agr. Res.*, **60**, 687-713, 1940.
- 20) 戸苅義次・菅 六郎 : 食用作物, p.52-53, 養賢堂, 東京, 1957.