

## 論文の内容の要旨

生産・環境生物学専攻

平成 11 年度博士課程進学

春原 英彦

指導教官名 東京大学大学院教授 長戸 康郎

論文題目 イネにおける穂の構築と稈の伸長に関する発生遺伝学的解析

イネの穂は、収穫物としての種子をつける重要な器官であり、その形態やサイズは収量に大きく影響する。しかし、穂の形づくりの制御機構の解析は、重要であるに関わらず、ほとんど明らかになっていない。また、穂の形態の変異体は、同時に栄養器官 (葉や稈) の異常も示すことが多い。多くの場合、稈の伸長と穂の発生は時間的にオーバーラップしており、穂の発生が稈の節間伸長と相互作用している可能性が考えられる。従って、穂の形づくりの機構を明らかにすることは、稈の伸長についての理解を深めることになろう。しかし、穂の発生と稈の節間伸長とがどのように関係しているのか、という研究はほとんど行われていない。そこで本研究では、穂のサイズ及び形に特徴的な異常を示す変異体を用いて穂の構築機構を解明するとともに、穂の発生と稈の伸長との関係を明らかにすることを目的とした。

### 1. 野生型イネの穂の構築と稈の伸長の発生学的解析

野生型台中 65 号の穂の発生過程を詳細に解析した。中央縦断切片の観察に基づいて、幼穂発

生過程を幼穂転換期、1次枝梗分化期、1次枝梗伸長期、1次枝梗側生器官分化期、穎花分化・穂伸長期の5つに分けることができた。また、茎頂分裂組織特異的に発現する *OSHI* をプローブとした *in situ* ハイブリダイゼーションにより、穂軸分裂組織の失活が1次枝梗分化期の終了とほぼ一致することが明かとなった。次に、穂の発生と稈の節間伸長とのタイミングについて調べた。幼穂の発生は、稈の第3節間の伸長開始とほぼ同調し、第2節間の伸長は1次枝梗伸長期の頃に、第1節間の伸長は1次枝梗側生器官が伸長を始めた頃に始まった。また、第4以下の下位節間の伸長は、幼穂の分化以前にすでに始まっていた。このように、穂の発生と稈の上位節間伸長との間には、時間的な同調性が存在していると考えられた。

## 2. 穂の変異体の同定と解析 —特に稈の節間伸長との関係

台中65号を遺伝的背景とした、穂や花に異常を持つ変異体18系統を用いて、穂の発生が稈の伸長にどのような影響を及ぼしているのかについて解析を行った。まず、穂のどの器官に異常を示したかによって18変異体を3グループに分類した。第1グループ(10系統)は主に穂軸及び枝梗で、第2グループ(4系統)は小穂及び小花で、第3グループ(4系統)はその両方で異常が見られたものである。第1及び第3グループのほとんどの変異体は稈長の異常を示した。9系統が稈の短化を示し、2系統が長化を示した。また、稈長は野生型と同じだが、節間伸長パターンが異常な変異体もあった。稈の節間伸長の異常は上位節間ほど顕著であったが、中には下位節間の過伸長、伸長節間数の増加を示す変異体もあった。穂の各形質(穂軸長、1次枝梗数、1次枝梗長など)と稈の節間長との相関を調べたところ、穂の各形質は第1と第2節間長あるいは第1節間長のみと高い正の相関を示した。特に穂軸長と第1節間長は非常に高い正の相関を示し、両者には共通の制御が働いていると考えられた。さらに、18変異体の稈の各節間長を用いた主成分分析から、花に異常を示す変異体(第2グループ)は野生型の近傍に分布したが、穂に異常を示すもの(第1グループ)は野生型から離れて分布する傾向が見られた。両方に異常を示す変異体(第3グループ)は両者にまたがって分布していた。つまり、穂軸や1次枝梗を形成する穂の初期発生が、稈の節間伸長と強く関連していることが示唆された。

## 3. 短穂変異体の発生学的解析

穂軸の短化を示す変異体5系統を用いて、短穂が形成されるメカニズムについて解析すると

ともに、短穂変異体における穂の発生と稈の節間伸長の関係についても解析を行った。穂軸の長さの変異は、穂軸節間の長さ及び数の変異として理解できる。そこで、穂軸節間の長さや数に基づいて、グループ A (TCM2084, TCM2542): 穂軸節間は短い、節間数は野生型とほぼ同じ、グループ B (TCM2902): 穂軸節間長は野生型とほぼ同じだが、節間数は減少、グループ C (TCM2830, TCM3064): 穂軸節間が短く、かつ数も減少、の 3 グループに分類した。全ての系統で 1 次枝梗も短化していた。また、1 次枝梗節間についても計測したところ、グループ間に差はなく、ほぼ一様な短化と数の減少を示し、穂軸の短化によって 1 次枝梗は短化するが、穂軸節間のパターンは反映されないことが示唆された。次に、穂軸分裂組織と穂の短化の関係を調べるために、*OSHI* をプローブとした *in situ* ハイブリダイゼーションを行った。グループ A では、*OSHI* の発現パターンは野生型とほぼ同じで、1 次枝梗原基が約 10 個分化した頃にその発現は見られなくなった。一方、穂軸節間が野生型より少ないグループ B とグループ C では、野生型に比べ 1 次枝梗原基が少ない時期に穂軸分裂組織の失活が見られ、その後の 1 次枝梗の分化は見られなかった。穂軸分裂組織の失活のタイミングが早いため、分化する 1 次枝梗原基が減少し、その結果として穂軸節間が減少し、穂軸が短化したと考えられる。つまり、穂軸分裂組織の失活の早晩が、穂軸節間数を決める重要な要因であると考えられる。また、これらの変異体の幼穂は野生型よりも小さかった。さらに、穂軸分裂組織が早期に失活するグループ B とグループ C での穂の発生と稈の節間伸長とのタイミングについて調査したところ、異常は見られなかった。しかし、全ての変異体で成熟個体の稈は短化あるいは異常な伸長パターンを示しており、穂軸の長さは、稈の節間伸長に影響していると考えられる。

#### 4. 穂軸節間の異常な伸長パターンを示す変異体の発生遺伝学的解析

穂軸節間の伸長パターンが異常な変異体 3 系統 (TCM0268, TCM0269, TCM2410) を用いて、異常な穂軸節間の伸長パターンを解明するとともに、これらの変異体における穂の発生と稈の節間伸長との関係について解析した。3 変異体はほぼ同じ表現型を示し、野生型では大半の穂軸節間が伸長するのに対し、これらの穂では、その半分以上が伸長せず、そのために複数の 1 次枝梗がクラスター状に、離散的に形成された。伸長する穂軸節間は、野生型よりも長く、中でも最下位の伸長節間は極端な過伸長を示し、その結果、野生型よりも長い穂軸となった。穂首節の苞葉も過伸長を示した。これら変異体の幼穂を観察したところ、1 次枝梗分化期の頃か

ら、穂軸分裂組織の中央帯、周辺帯以外の組織での細胞の肥大が見られた。また、1次枝梗分化期の幼穂の走査型電子顕微鏡による観察から、野生型と同様に求頂的に2/5らせん生で1次枝梗原基を分化していることが分かった。つまり、これらの変異体では1次枝梗原基の分化パターンに異常はなく、穂軸の細胞の肥大が顕著であることから、この細胞の肥大が穂軸節間の異常な伸長パターンと関係していると考えられる。また、この肥大した細胞は、稈で見られる細胞と似ており、穂軸の内部にまで、稈のアイデンティティを持った細胞が侵入していると考えられた。稈と穂軸の節間における大維管束数の計測、横断切片の観察からも、この考えは支持される。これら変異体の稈の節間長を測定したところ、第1と第2節間が短化し、第3以下の節間長は正常であった。中には、第2節間が特異的に非伸長を示すものもあった。次に、これらの変異体における穂の発生と稈の節間伸長とのタイミングについて調査したところ、野生型とほぼ同じであった。さらに、3変異体の表現型は、ブラシノステロイドの合成あるいは感受性の変異体と類似しているところがあった。そこで、変異体の1つ(TCM0268)とブラシノステロイド非感受性変異体 *d61* (*Osbri1*)との2重変異体を作成した。この2重変異体は、両親よりもシビアな表現型を示しており、TCM0268もブラシノステロイド生合成あるいは情報伝達系に関与する可能性が示唆された。しかし、ブラシノステロイドの添加によるラミナジョイントの屈曲試験を行ったところ、野生型と同じ程度の屈曲を示したので、ブラシノステロイドの感受性に関わる変異体ではないと考えられる。

以上、本研究は、穂の異常を示す多くの変異体を用いて、穂の構築機構を解析するとともに、それと稈の節間伸長との関連について明らかにしたものである。