

	かとう ふみえ
氏名（本籍地）	加藤 文恵
学位の種類	博士（生命科学）
学位記番号	生博第211号
学位授与年月日	平成23年9月7日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科，専攻	東北大学大学院生命科学研究科 （博士課程）生態システム生命科学専攻
論文題目	コムギの深播き耐性機構の解析—組織特異的な細胞伸長と細胞増殖を介したジベレリンによる第一節間の伸長制御—
博士論文審査委員	（主査） 教授 高橋 秀幸 教授 東谷 篤志 准教授 佐藤 雅志

はじめに

植物の芽生えは発芽すると、胚乳や子葉の貯蔵物質から生長に必要なエネルギーと物質を合成して地上部および根を伸長させる。貯蔵物質の量には限界があるため、植物の芽生えは光合成によって更なる生長に必要なエネルギーと物質を得る必要がある。光合成は光を要求するので、光合成を開始するためには芽生えの地表への出芽が不可欠である。そこで地中で発芽した植物の芽生えは速やかに光合成を開始するために、地下茎を急激に伸長させる。そして、地表へ出芽して光を受容すると、芽生えは地下茎の伸長を停止して光合成を開始する。しかしながら、植物の地下茎の伸長能力には限界がある。通常、種子を深播きにすると、地下茎の伸長が地表へ達する前に停止して土壤中で枯死する。しかし、種子を比較的深く播いても、地下茎の著しい伸長によって地表へ出芽できる、深播き耐性を有する植物種が存在する。深播き耐性は過酷な水環境である乾燥地における安定的な水獲得、食害や風雨による作物種子の消失および流出防止、生育途中の作物の倒伏防止などに有用な形質であると考えられている。しかし、植物に深播き耐性を付与するために必須な地下茎の伸長機構については不明な点が多い。そこで本研究では、植物に深播き耐性を付与する地下茎の伸長機構の解明を目的に、乾燥地での深播き栽培に適応したと考えられる紅芒麦（パンコムギ、*Triticum aestivum* L.）の第一節間の伸長能力に着目した。

紅芒麦は中国・黄土高原在来のコムギ品種である。紅芒麦の第一節間は深播き耐性をもたない品種の第一節間よりも著しく伸長することが報告されている(武田 1993、Suge et al. 1997)。コムギ第一節間の伸長には、器官伸長を促進する植物ホルモンのジベレリンが関与しているが、紅芒麦の第一節間はジベレリンに対する応答性が特に高く、ジベレリン処理により 2 倍以上の長さまで伸長促進される (Chen et al. 2001、図 1)。したがって、紅芒麦の第一節間伸長における品種特異性およびジベレリンの働きを明らかにすることにより、コムギに深播き耐性が付与される機構を解明できると考えられる。ジベレリンは、一般に細胞伸長および細胞増殖に作用することによって器官伸長を促進すると考えられているが、紅芒麦の第一節間伸長と細胞伸長および細胞増殖との関係

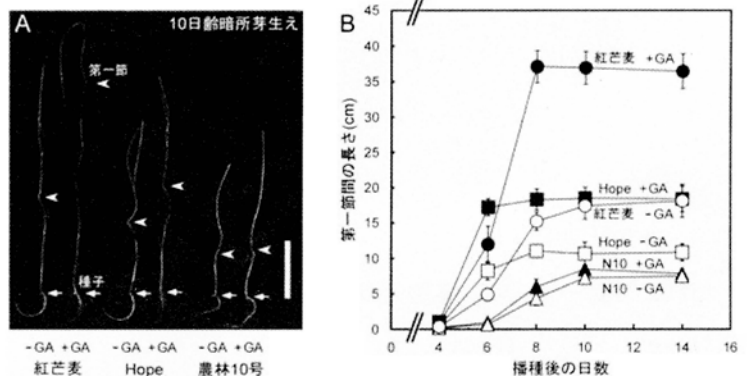


図1 紅芒麦およびHope、農林10号における第一節間長の経時変化  
 (A) 紅芒麦およびHope、農林10号の10日齢芽生えの写真。各品種2個体のうち、左はジベレリン無処理区 (-GA)、右はジベレリン処理区 (+GA) の個体を示す。第一節間は第一節 (矢印) と種子 (矢印) の間の節間に当たる。縦棒: 10 cm。  
 (B) 紅芒麦およびHope、農林10号における第一節間長の経時変化を示したグラフ。丸は紅芒麦、四角はHope、三角は農林10号 (N10) の平均値を示し、白いシンボルはジベレリン無処理区 (-GA)、黒いシンボルはジベレリン処理区 (+GA) の値を示す。エラーバーは標準偏差を示す。n=26~30

はこれまで明らかになっていない。

本研究では、コムギの深播き耐性機構を理解する目的で、第一節間伸長における細胞伸長と細胞増殖の役割およびそれらに対するジベレリン作用について、生理学的かつ組織学的な解析を行った。そのために、ジベレリンに正常に応答する Hope、ジベレリンに過剰に応答して第一節間を伸長させる紅芒麦、ジベレリン非応答性の農林 10 号を用いて、それらの第一節間の伸長様式ならびにそれらの細胞伸長と細胞増殖に対するジベレリン作用を比較解析した。

### コムギ第一節間長の品種間差には細胞数が関与する

本研究に供した紅芒麦、Hope、農林 10 号、いずれの品種においても播種後 10 日目で第一節間の伸長はほぼ停止した(図 1B)。ジベレリン無処理区における、紅芒麦の 10 日齢芽生えの第一節間長は、Hope の 1.6 倍、農林 10 号の 2.4 倍であった。この品種間差への細胞伸長と細胞増殖の寄与を明らかにするため、第一節間の表皮と皮層を構成する細胞の長さや数を調べた。その結果、第一節間の生長軸方向に並んだ細胞の長さには、表皮、皮層いずれの組織においても大きな品種間差がなく、第一節間長の品種間差を細胞長の違いでは説明することはできなかった(図 2)。一方、紅芒麦

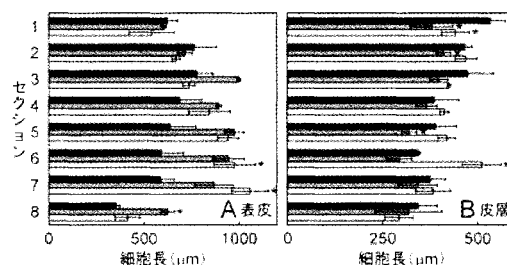


図2 第一節間の細胞長の品種間差 (A)表皮細胞長、(B)皮層細胞長。グラフの縦軸は第一節間のサンプリング箇所(セクション)を示す。第一節間を8等分しそれぞれの中央部分をサンプリングした。サンプリング箇所には1(第一節節)~8(基部節)の番号をつけた。横軸は細胞長を示し、黒棒は紅芒麦、灰棒はHope、白棒は農林10号のジベレリン無処理個体の値を示す。エラーバーは標準誤差を示す。\*は紅芒麦との有意差があることを示す(P<0.05)。

表1 10日齢コムギ芽生えの第一節間における細胞数

	GA処理	紅芒麦	Hope	農林10号
表皮細胞数	-	293 ± 76	133 ± 24	103 ± 16
	+	342 ± 69	150 ± 22	99 ± 12
皮層細胞数	-	431 ± 68	305 ± 58	177 ± 22
	+	931 ± 95	483 ± 56	211 ± 22

平均値±標準誤差  
\* 有意差あり(P<0.05)

の第一節間の生長軸方向に並んだ細胞の数は、表皮組織において Hope の 2.2 倍、農林 10 号の 2.8 倍であり、皮層組織において Hope の 1.4 倍、農林 10 号の 2.4 倍であった(表 1)。すなわち、表皮、皮層いずれの組織においても、細胞数は紅芒麦>Hope>農林 10 号の順に多く、第一節間の長さの差を説明し得る品種間差が認められた。このことから、コムギ第一節間長の品種間差には細胞長ではなく、細胞数の差異が大きく関与すると考えられた。

### コムギ第一節間の細胞数の品種間差には、節間分裂組織での細胞増殖活性と細胞増殖期間が関与する

上述のように、コムギ第一節間長の品種間差には細胞数の関与が大きいと考えられた。コムギ第一節間を構成する細胞は、節間基部に局在する節間分裂組織で増殖する。そこで、コムギ

第一節間の細胞数の品種間差を生じさせる要因を明らかにするために、第一節間基部における分裂指数の経時的変化を計測した（図 3）。ジベレリン無処理区の分裂指数を計測した結果、細胞数が最も多かった紅芒麦の発芽後の細胞増殖は、農林 10 号に先立って開始し、Hope で細胞増殖が終了した後も継続していた。一方、細胞数が最も少なかった農林 10 号では、紅芒麦や Hope に比較して分裂指数の値を高く維持できる期間が限られていた。すなわち、第一節間の細胞増殖は、細胞数が多い品種でより活発で長期間続くことが分かった。さらに、分裂指数と同様に、紅芒麦の第一節間の伸長は農林 10 号に先立って開始し、Hope で伸長が終了した後も継続していた（図 1B）。つまり、第一節間基部における細胞増殖期間と第一節間伸長期間が対応関係にあった。これらのことから、第一節間基部の節間分裂組織における細胞増殖活性と細胞増殖期間の品種間差が第一節間における細胞数の品種間差に反映するものと考えられた。

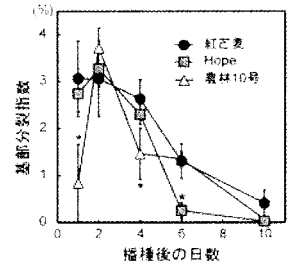


図3 紅芒麦、Hope、農林10号の第一節間基部における分裂指数の経時変化  
●は紅芒麦、□はHope、△は農林10号の値を示す。エラーバーは標準偏差を示し、\*は紅芒麦の値と有意差があることを示す（ $P < 0.05$ ）。

### ジベレリン処理によるコムギ第一節間の伸長促進は、表皮の細胞伸長と皮層の細胞増殖に起因する

紅芒麦 10 日齢芽生えの第一節間の細胞長および細胞数を調べた結果、表皮ではジベレリン処理によって細胞長が最大 2.3 倍になったが、細胞数の増加は 1.2 倍にとどまった（図 4A、表 1）。皮層では、逆に、ジベレリン処理によって細胞長が大きく変化することはなかったが、細胞数は 2.2 倍に増加した（図 4B、表 1）。このことか

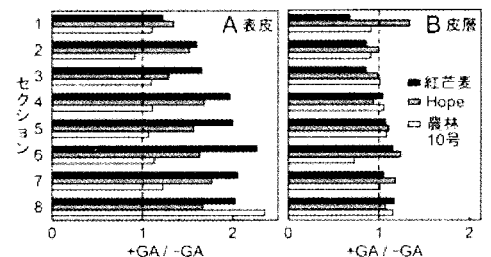


図4 第一節間の細胞長に対するジベレリン処理効果の品種間差 (A)表皮細胞長、(B)皮層細胞長におけるジベレリン処理効果。グラフの縦軸は第一節間のサンプリング箇所「セクション」を示す（図2と同様）。横軸はジベレリン処理後の細胞長、+GAをジベレリン無処理後の細胞長、-GAで割った値であり、細胞長に対するジベレリン処理効果を示す。

ら、ジベレリン処理による第一節間の伸長促進は、主に表皮での細胞伸長、皮層での細胞増殖の促進によると考えられた。Hope や農林 10 号の第一節間においても、紅芒麦よりその程度は低かったものの、ジベレリン処理による表皮細胞の伸長促進と皮層細胞の増殖促進が認められた（図 4、表 1）。このことから、ジベレリン処理による表皮での細胞伸長および皮層での細胞増殖の促進作用は、コムギ第一節間に共通する現象であると考えられた。

### ジベレリン処理による紅芒麦第一節間の著しい伸長促進は、品種特異的現象である

ジベレリンは一般に節間の伸長を促進するが、コムギ第一節間のジベレリン応答性は品種によって異なる。図 1 に示したとおり、ジベレリン処理により、紅芒麦と Hope の第一節間伸長

は促進される。一方、ジベレリン非応答性の形質を有する農林 10 号の第一節間の伸長は、ジベレリン処理によって紅芒麦や Hope の第一節間のように促進されない (図 1)。ジベレリンには主にコムギ第一節間の表皮細胞の伸長を促進し、皮層細胞の増殖を促進する効果がある (表 1、図 4)。このことから、これらジベレリン効果の程度が品種間で異なると考えられた。そこで、コムギ 3 品種におけるジベレリン処理による細胞伸長と細胞増殖の促進率を比較した。その結果、ジベレリンによる表皮細胞の伸長促進効果および皮層細胞の増殖促進効果は、ともに紅芒麦 > Hope > 農林 10 号の順に高いことが分かった。すなわち、ジベレリン処理による紅芒麦第一節間伸長の著しい伸長促進は、品種特異性によるものと考えられた。

## まとめ

本研究により、第一節間長の品種間差には細胞数の違いが大きく関わるということが明らかになった。また、第一節間の伸長を促進するジベレリン処理の効果は組織で異なり、表皮では主に細胞伸長の促進、皮層では細胞増殖の促進であった (図 5)。第一節間の伸長には両者が協調的かつ相補的に働くと考えられる。すなわち、深播き耐性品種である紅芒麦の第一節間では、細胞数が多いことに加えて、ジベレリン応答性が他の品種より高いことにより、表皮細胞の伸長と皮層細胞の伸長が誘導され、第一節間の伸長が著しく促進されることが明らかとなった。一般に、ジベレリンは細胞伸長および細胞分裂を促進すると考えられるが、ジベレリンが組織特異的に作用し、表皮細胞の伸長と皮層細胞の増殖を誘導し、節間伸長を可能にするしくみは、本研究によって初めて見出されたものである。これらの知見は、陸上植物に深播き耐性を付与する機構を理解するうえで重要であり、深播き栽培に適用できる新植物や生長制御法を開発するための基礎になると考えられる。

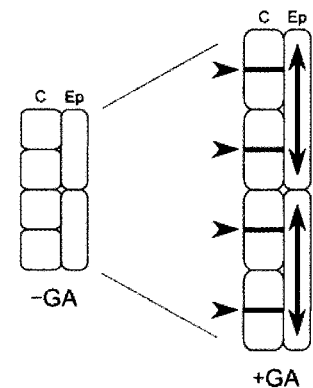


図5 第一節間の伸長に対するジベレリン処理効果のモデル  
左はジベレリン無処理個体 (-GA)、右はジベレリン処理個体 (+GA) の第一節間を示す。コムギ芽生えにジベレリンを処理すると、第一節間の表皮 (Ep) では細胞伸長が促進され、皮層 (C) では細胞増殖が促進される。

## 引用文献

Chen et al. (2001) Plant, Cell and Environment 24: 469-476

Suge et al. (1997) Plant, Cell and Environment 20: 961-964

武田 (1993) 植物遺伝育種学 裳華房 164-166 ページ

本研究は、コムギの深播き耐性機構を理解する目的で、芽生えの地上への出芽を可能にする第一節間伸長能を生理学的かつ組織学的に解析したものである。そのために、ジベレリンに過剰に応答して第一節間を伸長させる深播き耐性の紅芒麦、ジベレリンに正常に応答する Hope、ジベレリン非応答性の農林 10 号を用いて、第一節間の伸長様式ならびにそれらの細胞伸長と細胞増殖に対するジベレリン作用を比較解析している。

本研究は、まず、暗所で生育させた紅芒麦の第一節間長が Hope の 1.6 倍、農林 10 号の 2.4 倍となることを示し、この品種間差への細胞伸長と細胞増殖の寄与を明らかにするため、第一節間の表皮と皮層を構成する細胞の長さや数を調べた。その結果、第一節間の成長軸方向に並んだ細胞の長さには、表皮、皮層いずれの組織においても大きな品種間差がないことが明らかになった。一方、コムギでは第一節間が発芽後に分化し、紅芒麦の第一節間の細胞数は、表皮においては、Hope の 2.2 倍、農林 10 号の 2.8 倍となり、また皮層においては、Hope の 1.4 倍、農林 10 号の 2.4 倍となることを明らかにした。この細胞数における品種間差は、細胞分裂指数の経時的な測定結果によっても裏付けられた。これらの結果は、コムギ第一節間長の品種間差を支配する主要因は細胞数であり、紅芒麦は第一節間を著しく伸長させるために、高い細胞増殖能を有することを示している。次に本研究は、ジベレリンによる伸長促進率は紅芒麦の第一節間では 2.1 倍、Hope では 1.7 倍、農林 10 号では 1.2 倍で、ジベレリン処理によって、紅芒麦の第一節間は 35 cm 以上に伸長することを示した。このときのジベレリン応答は組織で異なり、表皮では細胞数にほとんど変化はなく、細胞伸長が 2 倍に、皮層では細胞長にほとんど変化はなく、細胞増殖が 2 倍に促進されることを見出した。これによって、ジベレリンによる第一節間の伸長促進は、皮層の細胞増殖と表皮の細胞伸長による協調的かつ相補的な組織間補償作用によるものであることをはじめて明らかにしている。このように、本研究では、紅芒麦は第一節間における細胞増殖能が高いことに加えて、ジベレリン応答性が他の品種より高いことにより、表皮細胞の伸長と皮層細胞の伸長が誘導され、第一節間を著しく伸長させ、深播き耐性を示すことが明らかになった。

以上の成果は、芽生えの深播き耐性機構ならびにジベレリンによる成長制御の仕組みを理解し、また、乾燥地農業における植物生産力を向上させるための新たな基盤になるもので、加藤文恵が自立して研究活動を行うに必要な高度な研究能力と学識を有することを示している。したがって、加藤文恵が提出した論文は、博士（生命科学）の博士論文として合格と認める。