



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」に關与する遺伝子がジベレリン代謝に与える影響（予報）：稲の交雑に關する研究、第LXIII報
Author(s)	新橋，登；SHINBASHI, Noboru；木下，俊郎 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要，9(2)，201-207
Issue Date	1975-02-15
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/11871">https://hdl.handle.net/2115/11871</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	9(2)_p201-207.pdf



# 「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」に關与する遺伝子が ジベレリン代謝に与える影響 (予報)

— 稲の交雑に関する研究, 第 LXIII 報\* —

新橋 登・木下俊郎・高橋萬右衛門

(北海道大学農学部作物育種学教室)

(昭和 49 年 9 月 13 日受理)

## Gibberellin metabolism affected by the causal genes for 'Hosetsu-dwarf' and 'Tanginbozu-dwarf' (Preliminary report)

— Genetical studies on rice plant, LXIII —

Noboru SHINBASHI, Toshiro KINOSHITA  
and Man-emon TAKAHASHI  
(Plant Breeding Institute, Faculty of Agriculture  
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

### 緒 言

最近、矮性遺伝子の作用と植物生長調節物質の関連が明らかとなり、イネでも自然突然変異による矮性の「小丈玉錦矮性」や「短銀坊主矮性」、また人為突然変異体の「豊雪矮性」に関してそれが論ぜられている(菅・村上 1967, 木下・高橋ら 1974)。

著者らは今回、「豊雪矮性」と「短銀坊主矮性」を用いて生物検定法により、両者の關与遺伝子は夫々ジベレリン合成の異なる段階に作用する可能性の極めて高いことを知った。これを裏付ける詳細な実験は現在遂行中であるが、いままでに得られた結果の概要を予報として報告する。

本文に入るに先立ち、生物検定法に関して種々の御指導や助言を賜わり、更に資料の一部を提供戴いた北海道大学農学部教授水谷純也博士に深く御礼申し上げる。

### 実験材料及び方法

矮性ならびに正常稲のジベレリンに対する反応を調べるために Table 1 に示す如く、30 種の矮性と 31 種の正常型系統を供用した。

生物検定法(村上 1957)としては、籾を比重 1.05 の塩

水で精選して、ウスプルン液で殺菌後、蒸留水中に 28°C で 2 日間浸漬し、催芽種子の鞘葉が 1 mm に伸長したとき、gibberellin A<sub>3</sub>(GA<sub>3</sub>) 0.5 μg/0.5 ml を含む水溶液 0.5 ml を注入した管瓶(26×60 mm)に 5 個体宛置床し、透明なビニール薄膜で密封したのち 28°C, 3000 lux の条件下に保った。3 日後に 0.5 ml の蒸留水を加え、更に 2 日後に第 2 葉鞘長を測定した。なお対照区としては 0.5 ml の蒸留水のみを注入した管瓶を用いた。

GA<sub>3</sub> に極めて高い反応度を示した「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」に就いては、原品種の「豊雪-A」及び「銀坊主」と共に種々の GA<sub>3</sub> 濃度に対する反応性を調べた。

つぎに 3 種の矮性、すなわち「大黒長護類」, 「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」を用いてジベレリン様物質含量を生物検定により定量した。SUGE (1972) のジベレリン抽出法により、播種後 75 日を経過した植物体から葉身及び根を除いた生重 100 g を試料として、70% アセトン中にて磨砕し、室温で 10 時間放置したのち濾過し、残渣は再度抽出濾過した。

この含水アセトン抽出液から減圧濃縮して得られた水相を磷酸で pH 2.0 に調整して、酢酸エチルで 3 回抽出した。酢酸エチル相に就いて、pH 7.0 の 1 M 磷酸緩衝

\* 北海道大学農学部作物育種学教室業績

**Table 1.** List of strains used in the gibberellin A<sub>3</sub> treatment

a) Dwarf types		
Stock No.	Name	Genotype
A-12	Bunketsu-waito	$d_3d_4d_5$
A-23	Daikoku	$d_1$
A-26	Ebisu	$d_2$
A-28	Ebisu-mochi	$d_6$
M- 5	Nohrin-8-irradiated dwarf	*
M- 6	do	*
M- 7	do	$d_{24}$
M- 8	do	*
M- 9	do	*
M-13	do	*
M-15	do	$d_{13}$
M-17	do	$d_{14}$
M-43	Hayayuki-irradiated dwarf	$d_7$
M-44	do	$d_7$
M-48	do	$d_{20}$
N- 2	Ohgimochi	$d_2d_6$
N- 5	Daikoku-ebisumochi	$d_1d_6$
N- 7	Cleistogamous	$d_7$
N-45	Multiple marker	$d_6$
N-46	do	$d_6$
N-49	Matsusaka-waisei	*
N-56	Kamikawa-waisei	$d_{19}$
N-57	Kamikawa-bunwai	$d_{10}$
N-60	Shinatoh-waisei	$d_9$
N-61	Jokei-6549-waisei	$d_{22}$
N-62	Yukara-waisei	$d_{12}$
N-70	Toyohikari-bunwai	$d_{15}$
N-71	Hosetsu-dwarf	$d_{18}$
N-75	Daikoku-4	*
N-77	Tanginbozu-dwarf	$d_{35}$

\*: unknown genotype

## b) Normal types

Stock No.	Name
A- 1	Akage
A- 2	Akaine
A- 5	Akamuro
A- 29	Eiko

Stock No.	Name
A- 35	Hashiribozu
A- 50	Ishikarishiroke
A- 67	Kyowa
A- 83	Nohrin-20
A-125	Shinsetsu
A-126	Toyohikari
A-127	Tomoemasari
A-128	Yukimochi
A-129	Sakaemochi
A-130	Shirayuki
A-134	Yukara
A-137	Hosetsu-A
A-138	Hayayuki
D- 46	Ginbozu
HO-15	Sekitori
HO-21	Omachi
HO-30	Shinriki
I- 64	Nohrin-8
M- 33	A-5-irradiated
M- 34	do
M- 35	do
N- 9	Hokkai-87
N- 21	Minamimochi
N- 27	Tomoenishiki
N- 54	Megrosakae
	Tamanishiki
	Nohrin-28

液で3回抽出後、磷酸緩衝液相を磷酸でpH 2.0に調整し、更に酢酸エチルで5回抽出した。得られた酢酸エチル相に無水硫酸ソーダを加えて脱水し、減圧下で乾燥したのち、これを少量のアセトンに溶解させ、ペーパークロマトグラフィー法で展開した。濾紙は東洋 No. 50 (20×40 cm) であり、これにイソプロパノール/28% アンモニア水/水 (10:1:1 v/v/v) の混液で上昇法により30 cm 展開させた。濾紙は乾燥後10等分され、夫々50%アセトンで溶出、乾燥させたのち0.5 ml の蒸留水を加えて酸性酢酸エチル分画の被検液とした。検定系統は「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」であり、それらの催芽種子を用いた。抽出物中のジベレリン様物質含量の算定にあたっては、両系統のGA<sub>3</sub>濃度に対する反応曲線からGA<sub>3</sub>相当量を求めた。

実験結果

1. 各種の矮性並びに正常型系統のジベレリン反応  
前記の矮性並びに正常型系統 61 種に就いて GA<sub>3</sub> 処理

(0.5 μg/0.5 ml) の効果を調べた。処理に対する第 2 葉鞘の伸長反応度は、処理の第 2 葉鞘長を対照区のそれで除し、100 を乗じた指数をもって示した。各系統の反応度の頻度表は Table 2 の如くで、矮性系統では「豊雪矮性」

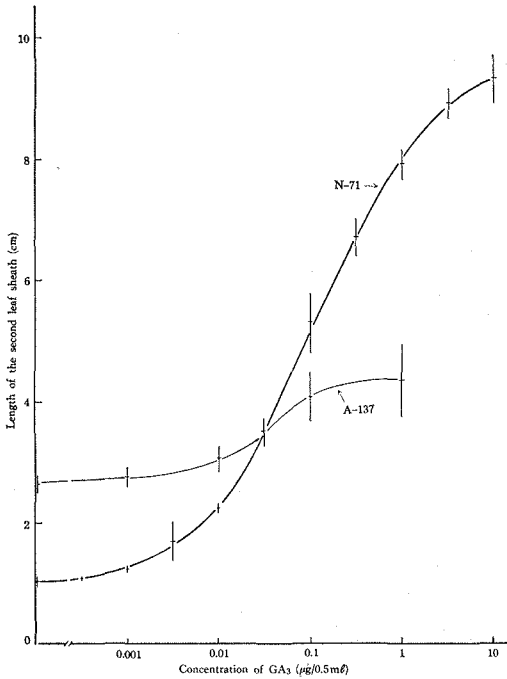


Fig. 1. Elongation of the 2nd leaf sheath caused by the treatment of gibberellin A<sub>3</sub> (GA<sub>3</sub>) in N-71 'Hosetsu-dwarf' and the original variety, A-137 'Hosetsu-A'.

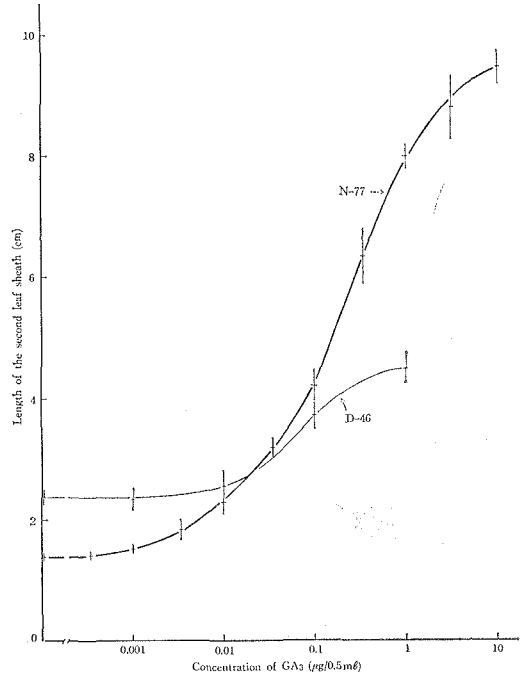


Fig. 3. Elongation of the 2nd leaf sheath caused by the treatment of gibberellin A<sub>3</sub> (GA<sub>3</sub>) in N-77 'Tanginbozu-dwarf' and the original variety, D-46 'Ginbozu'.

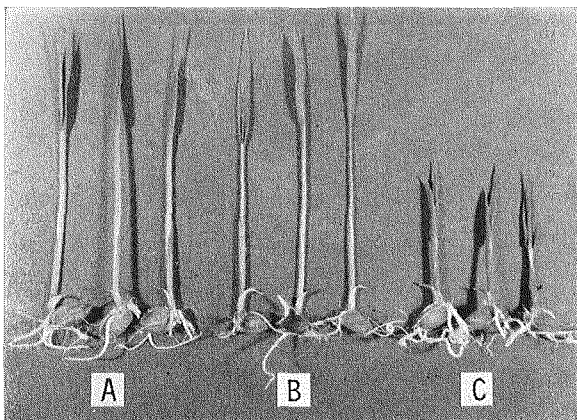


Fig. 2. Effect of GA<sub>3</sub> on the elongation of seedlings in 'Hosetsu-dwarf'. A: 'Hosetsu-A', B: 'Hosetsu-dwarf' treated with GA<sub>3</sub> (0.03 μg/0.5 ml), C: 'Hosetsu-dwarf' (no treatment).

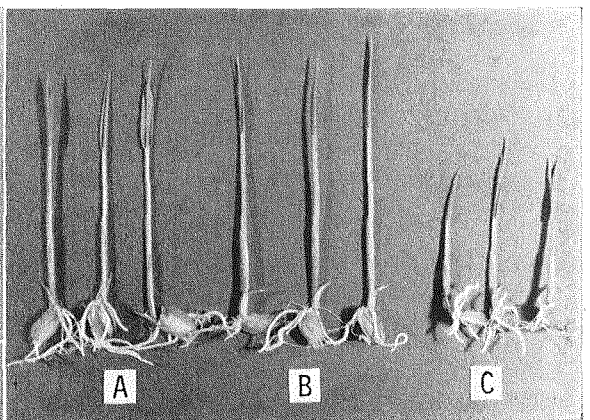


Fig. 4. Effect of GA<sub>3</sub> on the elongation of seedlings in 'Tanginbozu-dwarf'. A: 'Ginbozu', B: 'Tanginbozu-dwarf' treated with GA<sub>3</sub> (0.03 μg/0.5 ml), C: Tanginbozu-dwarf' (no treatment).

及び「短銀坊主矮性」の2種が顕著な反応を現わし、共に1%の危険率で他の系統から有意に異なっていた。その他の矮性では遺伝子型の如何を問わず反応度の小さいものが多かったが、おおむね正常型系統の変異幅の中に分布した。なお「豊雪矮性」の反応度は697.1、「短銀坊主矮性」では518.1である。

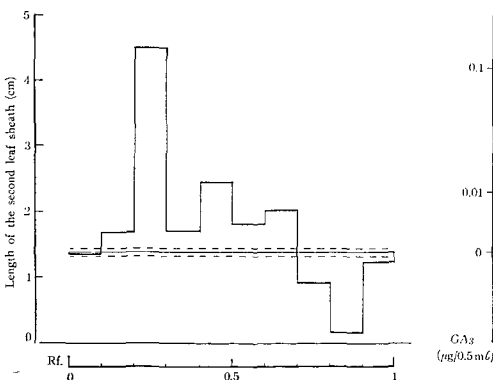
「豊雪矮性」に就いて原品種である「豊雪-A」と共にGA<sub>3</sub>濃度に対する第2葉鞘の伸長反応の関係を調査した結果ではFig. 1の如く、「豊雪矮性」ではGA<sub>3</sub>濃度の増大に伴い伸長の勾配が急激に高まり、0.03 µg/0.5 ml GA<sub>3</sub>の投与によって原品種の第2葉鞘と等しいまでに

**Table 2.** Frequency distribution of the gibberellin response values calculated from elongation of the 2nd leaf sheath caused by gibberellin A<sub>3</sub> treatment (0.5 µg/0.5 ml)

Range of the response value*	Dwarf	Normal	Total
100-149	11	4	15
150-199	9	10	19
200-249	6	13	19
250-300	2	4	6
500-700	2**	0	2

note: \*; The response values were given by (treatment/control) × 100.

\*\*; 'Hosetsu-dwarf' and 'Tanginbozu-dwarf'.

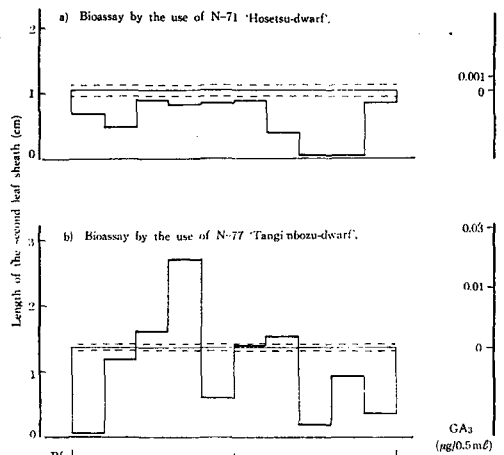


**Fig. 5.** Histogram showing gibberellin-like activity of acidic ethyl acetate fraction from 100 g fresh weight of C-19 'Daikoku-chogoei'. For the bioassay, seedlings of N-77 'Tanginbozu-dwarf' were used. Dotted lines mean the 5% level confidence limits for the water control.

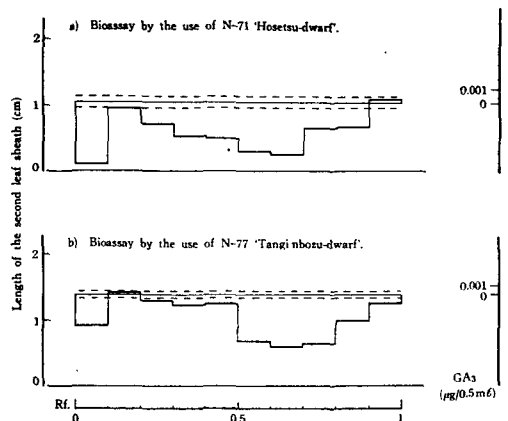
回復した (Fig. 2)。同様の傾向は「短銀坊主矮性」とその原品種、「銀坊主」の間でも得られている (Fig. 3, 4)。

## 2. 「大黒長護頰」, 「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」におけるシベレリン様物質の定量

3種の遺伝子型の明らかな矮性系統を用いて酸性酢酸エチル分画のジベレリン様活性を調べた。まず、「大黒長護頰」の抽出物を「短銀坊主矮性」の催芽種子を用いて検定したところ、「大黒長護頰」のヒストグラムは



**Fig. 6.** Histograms showing gibberellin-like activity of acidic ethyl acetate fraction from 100 g fresh weight of N-71 'Hosetsu-dwarf'. For the bioassay, seedlings of N-71 'Hosetsu-dwarf' and N-77 'Tanginbozu-dwarf' were used.



**Fig. 7.** Histograms showing gibberellin-like activity of acidic ethyl acetate fraction from 100 g fresh weight of N-77 'Tanginbozu-dwarf'. For the bioassay, seedlings of N-71 'Hosetsu-dwarf' and N-77 'Tanginbozu-dwarf' were used.

Fig. 5の如くとなり、そのジベレリン様活性をGA<sub>3</sub>相当量に換算するならば0.16 μg/100 g F. W.であった。つぎに「豊雪矮性」の抽出物に就いて「豊雪矮性」の催芽種子を用いて検定したところ、ジベレリン様活性は検出されなかった。しかし「短銀坊主矮性」で検定するとGA<sub>3</sub>相当量0.02 μg/100 g F. W.の活性が認められた(Fig. 6)。

一方、「短銀坊主矮性」よりの抽出物は「豊雪矮性」の催芽種子を検定系統に用いるとジベレリン様活性が著しく低く、対照区の信頼限界を越えなかった。また「短銀坊主矮性」の催芽種子で検定した場合も同様であった(Fig. 7)。

これらの生物検定の結果を纏めると Table 3の如くなる。すなわち「短銀坊主矮性」は検定系統の如何を問わずジベレリン様活性を欠くのに對して、「豊雪矮性」は「短銀坊主矮性」で検定した場合のみ活性を示した。しかし「大黒長護額」の場合に比べると極く弱い活性であった。

**Table 3.** Amounts of gibberellin-like substances in the extracts obtained from three strains

Strains used for extraction	C-19 Daikoku-chogoei	N-71 Hosetsu-dwarf	N-77 Tanginbozu-dwarf
Strains used for bioassay	N-71	N-77	N-77
	—	0.00	0.00
	0.16	0.02	0.00

note: Respective values were expressed with μg gibberellin A<sub>3</sub> equivalent per 100 g fresh weight.

**3. 「豊雪矮性」と「短銀坊主矮性」の遺伝的關係**

「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」の示す矮性形質には夫々単純劣性遺伝子 *d*<sub>18</sub> 及び *d*<sub>35</sub> (木下・高橋 1974) が関与していることは今回の実験によっても確められている。両者の交雑の F<sub>1</sub> では正常型を示し、F<sub>2</sub> 集団における矮性型の分離は Table 4 に示す如くである。すなわち *d*<sub>18</sub> 及び *d*<sub>35</sub> は独立の關係にあり、*d*<sub>18</sub> は *d*<sub>35</sub> に対して上位性を示す傾向がみられた。二重矮性型には「豊雪矮

**Table 4.** Combined segregation of dwarf genes in F<sub>2</sub> of the crossing between N-77 'Tanginbozu-dwarf' and N-71 'Hosetsu-dwarf'

Phenotype Genotype	Normal Tanginbozu Hosetsu-dwarf			Total	Goodness for independent		
	++	+ <i>d</i> <sub>35</sub>	<i>d</i> <sub>18</sub> +, <i>d</i> <sub>18</sub> <i>d</i> <sub>35</sub>		$\chi^2$	d. f.	P
Obs.	229	58	101	388	3.68	2	.1-2
Cal. (9:3:4)	218.25	72.75	97.00	388.00			



**Fig. 8.** Two kinds of gibberellin responsive dwarf mutants, 'Hosetsu-dwarf' (middle), 'Tanginbozn-dwarf' (right) and the double dwarf types produced by the crossing between them (left).

性」型より更に小型化した顕著な矮性もあったが、保温栽培下では完全な生育を遂げるようであった (Fig. 8)。

### 論 議

これまでに「豊雪矮性」、「短銀坊主矮性」及び「小丈玉錦矮性」がいずれも外部からのジベレリンに対して顕著な反応を示すことが知られていたが、今回の実験でも「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」は gibberellin  $A_3$  の適当な濃度条件下で幼苗の第2葉鞘が原品種と変らぬ程度まで回復し、且つ広範囲な濃度に反応することが明らかであった。著者らの提供した材料に就いて、水谷博士らが行なった「豊雪矮性」、「短銀坊主矮性」及び「小丈玉錦矮性」のジベレリン処理実験でも反応曲線は Fig. 9 の如くで、著者らの成績と同様であった。

「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」の内生ジベレリンに関する検討を行なったところ、「豊雪矮性」から抽出された酸性酢酸エチル分画に対して「豊雪矮性」による生物検定では全くジベレリン様活性が認められなかったのに対して、「短銀坊主矮性」を用いた場合には、「大黒長護

顕」よりの抽出物よりは著しく低い活性が検出された。なお、「短銀坊主矮性」からの抽出物はいずれの検定系統に対してもジベレリン様活性を示さなかった。したがって、「豊雪矮性」と「短銀坊主矮性」とではいずれもジベレリン生合成に関して異常を有するものの、両矮性ではその段階に相違のあることが推察された。

高等植物において、矮性遺伝子がジベレリン生合成経路を遺伝的に閉鎖する例としては、矮性トウモロコシの  $d-5$  (KATSUMI, M. et al 1964), 及びイネの「短銀坊主矮性」における場合 (SUGE and MURAKAMI 1968) が報告されている。これらの場合にはジベレリン生合成経路の極く前段階にある mevalonate-kaurene の反応に異常のみられることが示唆された (MURAKAMI 1968)。「豊雪矮性」よりの抽出物が「短銀坊主矮性」に示したジベレリン様活性はおそらく「豊雪矮性」の植物体内に蓄積されたジベレリン前駆物質が「短銀坊主矮性」の体内で伸長に有効なジベレリンに転化された結果によると解釈されよう。

「豊雪矮性」に関与する遺伝子 ( $d_{18}$ ) と「短銀坊主矮性」に関与する遺伝子 ( $d_{35}$ ) との間には遺伝的に独立な関係がみられたが、 $d_{18}$  遺伝子によるジベレリン生合成の閉鎖は  $d_{35}$  により閉鎖される反応より後であろうことが示唆される。

### 摘 要

1) 「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」は他の矮性や正常型系統と異なり、gibberellin  $A_3$  ( $GA_3$ ) 処理に対し第2葉鞘の著しい伸長反応を示した。

2) 「豊雪矮性」及び「短銀坊主矮性」は夫々原品種に較べて  $GA_3$  処理による反応曲線が明らかに異なり、両矮性は低濃度の  $GA_3$  処理によっても第2葉鞘が原品種に変らぬまでに回復した。

3) 「豊雪矮性」の酸性酢酸エチル分画は「豊雪矮性」の催芽種子に対してジベレリン様活性を示さなかったが、「短銀坊主矮性」には「大黒長護顕」の場合の 1/10 程度の活性を示した。一方、「短銀坊主矮性」は「豊雪矮性」と「短銀坊主矮性」のいずれにも活性を示さなかった。

4) 交雑実験の結果、「豊雪矮性」に関与する遺伝子 ( $d_{18}$ ) と「短銀坊主矮性」に関与する遺伝子 ( $d_{35}$ ) とは互いに遺伝的に独立の関係にあることが明らかとなった。

5) ジベレリン生合成において矮性遺伝子  $d_{18}$  による遺伝的閉鎖が考えられ、 $d_{35}$  によるものよりも後の反応に与っている可能性が示唆された。現在、この確認のために、前駆物質に対する反応試験や各種の遺伝子型とジ

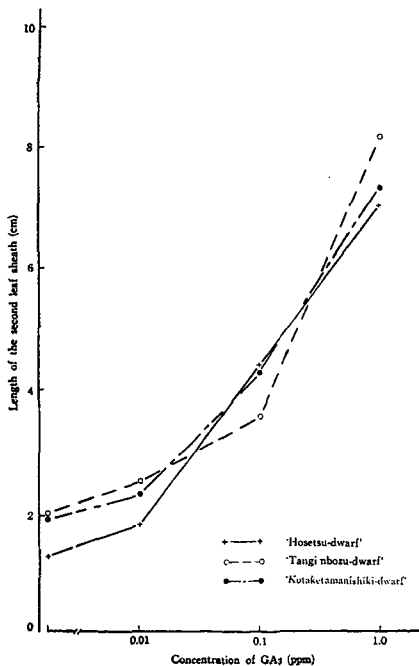


Fig. 9. Elongation of the 2nd leaf sheath caused by the treatment of gibberellin  $A_3$  ( $GA_3$ ) in N-71 'Hosetsu-dwarf' N-77 'Tangi nbozu-dwarf' and Fl-26 'Kotaketamanishiki-dwarf'. (after MIZUTANI, J.: unpublished)

ベレリン様物質との関係に就いて実験をすすめている。

## 文 献

- KATSUMI, M., B. O. PHINNEY, P. R. JEFFERIES and HENRICK, C. A. (1964): Growth response of the *d-5* and *an-1* mutants of maize to some kaurene derivatives. *Sci.* **144**: 849-850.
- 木下俊郎・高橋萬右衛門・森 宏一・新橋 登 (1974): 3種の矮性稲の形質表現とその遺伝。一稲の交雑に関する研究, 第LXI報一。北大農場報告 **19**: 64-75.
- MURAKAMI, Y. (1957): The effect of extract of immature bean seeds on the growth of coleoptile and leaf of rice plant. *Bot. Mag. Tokyo* **70**: 376-382.
- (1968): Gibberellin-like activity of (-)-kaurene, (-)-kauren-19-ol and (-)-kauren-19-oic acid in leaf sheath elongation of 'Tan-ginbozu' dwarf of *Oryza sativa*. *Bot. Mag. Tokyo* **81**: 100-102.
- 菅 洋・村上 浩 (1967): イネにおけるジベレリン生成の遺伝的支配。日本植物生理学会年会及び第8回シンポジウム要旨 83-84.
- SUGE, H. and MURAKAMI, Y. (1968): Occurrence of a rice mutant deficient in gibberellin-like substances. *Plant and Cell Physiol.* **9**: 411-414.
- SUGE, H. (1972): Effect of *uzu (uz)* gene on the level of endogenous gibberellins in barley. *J. J. Gen.* **47**: 423-430.
- 高橋萬右衛門・木下俊郎 (1974): 4種の分蘖矮稲に関する遺伝子同定。一稲の交雑に関する研究, 第LIX報一。北大農場報告 **19**: 41-50.

## Summary

The authors have conducted the investigation on the relationship between dwarf type and gibberellin metabolism in rice plant. At present, it is known that three dwarf type, 'Hosetsu-dwarf', 'Tanginbozu-dwarf' and 'Kotaketamanishiki-dwarf' respond conspicuously to the gibberellin treatment (TAKAHASHI & KINOSHITA 1974). In this preliminary

report, the authors examined the response to gibberellin A<sub>3</sub> treatment and measured the endogenous gibberellins of 'Hosetsu-dwarf' and 'Tanginbozu-dwarf'.

The results obtained are summarized as follows.

1) The response to gibberellin A<sub>3</sub> was indicated by the index based on the elongation rate of the second leaf sheath length in 61 strains of dwarf and normal types. It is noted that 'Hosetsu-dwarf' and 'Tanginbozu-dwarf' were significantly different from other strains, showing 697.1 and 518.1 of the index.

2) Response curves for different concentrations of gibberellin A<sub>3</sub> in 'Hosetsu-dwarf' and 'Tanginbozu-dwarf' were compared with their original strains, 'Hosetsu-A' and 'Ginbozu'. The length of the second leaf sheath in the dwarf types come to the same length of those of normal types even in low concentration of gibberellin A<sub>3</sub>.

3) Extracts of acidic ethyl acetate fraction obtained from 'Daikoku-chogoei', 'Hosetsu-dwarf' and 'Tanginbozu-dwarf' were used for the bioassays by the use of the seedlings of 'Hosetsu-dwarf' and 'Tanginbozu-dwarf'. A weak gibberellin-like activity was detected in 'Tanginbozu-dwarf' seedlings applied the extract from 'Hosetsu-dwarf', while no activity was indicated when 'Hosetsu-dwarf' was used as a tester plant. In contrast to this, the extract from 'Tanginbozu-dwarf' was inactive for the seedlings of the both dwarfs.

4) In the F<sub>2</sub> populations of the crossing between 'Hosetsu-dwarf' and 'Tanginbozu-dwarf', the gene, *d*<sub>18</sub> (Hosetsu-dwarf) was an independent relation with the gene, *d*<sub>35</sub> (Tanginbozu-dwarf).

5) It is supposed that the gene, *d*<sub>18</sub> exerts a depressive effect at a later step of gibberellin metabolism than at the chemical reaction from mevalonate to kaurene to which the gene *d*<sub>35</sub> acts as a repressive agent.