Yoshimichi Fukuta, Hisashi Yoshida Kiichi Fukui and Akira Kobayashi, : Analysis of shattering degree and abscission layer development in shattering-resistant mutant lines induced from an *indica* rice (*Oryza sativa* L.) variety, Nan-jing 11 (English Summary on p. 200)

インド型稲品種南京 11 号より誘発された難脱粒性突然変異系統における脱粒性程度および離層形成の有無

福田善通¹⁾・吉田 久²⁾・福井希一¹⁾・小林 陽³⁾

(¹⁾ 北陸農業試験場 上越市 〒943-01)

(²⁾ 農業研究センター つくば市 〒305)

(³⁾ 国際農林水産業研究センター つくば市 〒305)

摘 要

脱粒性易でインド型多収品種の南京 11 号の種子への ⁶⁰Coγ線照射 (20 KR) および 50 mM エチルメタンスルフォネート水溶液による 7 時間浸漬の 2 種類の突然変異誘起処理を行い、5 つの難脱粒性突然変異個体を選抜した。それぞれの系統名を、SR-1, SR-2, SR-4, SR-5 (後の北陸 143 号), SR-6 とした。これら 5 つの突然変異系統について、穀粒脱粒性試験装置 (TR-II) を用いて脱粒性程度を測定し、脱粒性極難の SR-1, 難の SR-4, 北陸 143 号 (SR-5), SR-6 の 3 系統、やや難の SR-2 の 3 グループに分類した。また SR-1, SR-2, 北陸 143 号, 原品種南京 11 号については小穂から小枝梗に至る縦断切片を作成し、護穎基部の離層形成の有無および細胞組織の崩壊程度を観察した。南京 11 号には明瞭な離層が認められた。一方、突然変異系統の SR-1 には離層形成が全く認められず、北陸 143 号には明瞭な離層はないが護穎基部における細胞群の部分的崩壊が認められた。また SR-2 にもわずかな細胞群の崩壊および護穎と副護穎との間が細長くなる小穂内部構造の変異が認められた。以上の結果より 5 つの難脱粒性系統は、脱粒性程度において、また脱粒性に係わる離層形成や護穎基部の細胞崩壊に関与する 3 種の異なった遺伝変異により生じたものと推定された。

Key Words : *Oryza sativa* L., *indica*, Nan-jing 11, shattering-resistant, mutant, abscission layer.

緒 言

イネのインド型品種あるいは野生種など遠縁な系統から日本型品種へ有用遺伝子を導入する際、これまで日本型品種間交配による育種ではあまり問題にならなかった

形質も有用形質とともに選抜する必要が生じる。

脱粒性はイネの種子繁殖に関する重要な形質のひとつである。しかし現在の日本の栽培体系の中では、インド型品種に見られるような脱粒性 (極易) は、収量減を引き起こす劣悪形質のひとつになると考えられる。効率的な選抜を行うためには、脱粒性に関する遺伝様式、さらには脱粒性遺伝子と他形質との連鎖関係などを明らかにする必要がある。

菊池ら (1985), 小林 (1973), Ogi *et al.* (1993), 大場ら (1989), は、多収性に関連する有用遺伝子のひとつである半矮性遺伝子と脱粒性遺伝子との連鎖を報告している。また脱粒性については、*sh-1* (Nagao and Takahashi 1963), *sh-2* (Oba *et al.*, 1990), *Sh-3* (Eiguchi and Sano 1990) 等、3 つの遺伝子座の存在が明らかになっている。また脱粒性の発現そのものについては、小穂内の護穎基部における離層の形成により生じること、さらに離層形成に関与する遺伝子が複数個存在することが示唆されてきている (陳・井之上 1982 a, b, 陳ら 1982, 1992, Hu *et al.* 1964, 顔 1974, Srinivas *et al.* 1979, Zee *et al.* 1979)。

しかしこれらの研究は、遺伝的背景の異なる品種間の比較や雑種後代を用いて行われたため、脱粒性に関連する遺伝子の数およびその優劣関係、さらには相互の遺伝子の作用関係などはまだ明らかになっていない。

本研究では、インド型で半矮性の多収性品種南京 11 号の脱粒性の改良を目的として、南京 11 号から難脱粒性突然変異を誘発し、比較的均一な遺伝的背景をもつこれら突然変異系統についての脱粒性程度の評価および離層形成についての組織学的検討を行った。

材料および方法

1. 難脱粒性突然変異の誘発

脱粒性極易であるインド型の多収品種南京 11 号から脱粒性難の系統を育成するため、種子への ⁶⁰Coγ線照射、20 KR (以後、Co 区とする) および 50 mM エチル

メタンスルホネート水溶液、7時間浸漬（以後、EMS区とする）の2種の突然変異誘起処理を行った。

それぞれの処理当代種子 (M_1)、約17,000粒を20 m²の灌水（苗）床に直播、密植栽培し、分げつさせることなく主稈のみで結実させ、処理区ごとに全刈し集団採種した。 M_2 集団は、圃場にCo区で21,000個体、EMS区で20,000個体を1株1本植えとして養成した。

難脱粒性個体の選抜は、 M_2 集団において成熟期に達した穂を片手で強く握りしめることにより行った。

2. 脱粒性程度の評価

選抜した5つの突然変異系統および原品種南京11号の脱粒性程度の評価については、圃場および温室内の2種の異なる栽培条件で養成した個体を用いた。特に温室栽培の材料については、開花以後における脱粒性程度の経時的な変化を明らかにした。

また脱粒性程度については、Ichikawa *et al.* (1990)により開発された穀粒脱粒性試験装置 (TR-II) を用いて、小穂が小枝梗から外れる時の抗張強度 (gf) を測定し評価した。

(1) 圃場栽培個体

出穂後35~40日目の成熟期に達した圃場栽培個体の主稈穂を用い、穂の先端10小穂の抗張強度を測定し、その平均値を各個体の脱粒性程度として求めた。各系統とも50個体を調査した。

(2) 温室栽培個体

温室栽培個体については、開花から結実に至るまでの脱粒性程度の経時的変化を、原品種南京11号とSR-1, SR-5, SR-2の計4系統について調査した。

各系統間および系統内における、調査穎花（小穂）の開花日および開花後の環境条件を同一にするため、開花期に達した個体を圃場より株上げし、翌日開花した穎花のみを残して未開花および前日までに開花済みの穎花を切除した。以後温室内で栽培管理し、処理翌日から2~3日ごとに計16回、開花後33日まで、それぞれの系統について20小穂の抗張強度を測定し、その平均値を求め測定日ごとの各系統の脱粒性程度とした。とくに4日目以後の測定では、子房の発達を確認できる穎花について調査し、不稔穎花は測定から除外した。

3. 離層形成の有無

脱粒性程度の経時的変化を調査するため用意した穎花を一部用いて、突然変異系統のSR-1, SR-2, SR-5の3系統および原品種南京11号における小穂の護穎基部に形成される離層の有無およびその程度を調査した。

脱粒性程度の評価と同様2~3日ごとに小枝梗をつけた小穂を採取した。小穂はFAA溶液（100%エタノール：60、水：30、酢酸：5、ホルマリン：5）で固定した後、フッ化水素水による脱珪酸処理を7日間以上行った。水洗の後、サフラニンで予備染色し、アクリトロン樹脂に包埋した後、小穂から小枝梗に至る縦断切片を8 μ mの厚さで作成した。検鏡にあたっては、トルイジン

ブルーで染色した。

結 果

1. 突然変異系統の誘発

難脱粒性の突然変異の誘発については、Co区で、21,000個体の M_2 集団から4個体（誘発率、 1.9×10^{-4} ）、EMS区で20,000個体より1個体（誘発率、 5.0×10^{-5} ）をそれぞれ選抜した。Co区での誘発率はEMS区のものより高く、平均誘発率は 1.2×10^{-4} となった (Table 1)。誘発した難脱粒性突然変異系統名については、Co区の4系統をSR-1, SR-2, SR-4, SR-5（後の北陸143号）、EMS区の1系統をSR-6とした (Table 2)。

2. 脱粒性程度の評価

(1) 圃場栽培個体

抗張強度 (gf) を測定した結果、5つの突然変異系統を、脱粒性程度により、やや難のSR-2、難のSR-4, SR-5, SR-6の3系統、極難のSR-1の3グループに分類することができた (Fig. 1, Table 2)。

原品種南京11号の抗張強度 (gf) は、50個体平均で 90.3 ± 14.4 となり、脱粒性極易を示した。これに対してSR-2は、 151.3 ± 16.5 で脱粒性やや難、SR-4, SR-5, SR-6の3系統はそれぞれ 220.7 ± 22.9 , $211 \pm$

Table 1. Mutation rate in mutants resistant to shattering induced in an *indica* rice variety, "Nan-jing 11"

	No. of seeds treated	No. of M_2 plants	No. of mutants	Mutational rate
⁶⁰ Co (20 KR)	17 000	21 000	4	1.9×10^{-4}
50 mM EMS	17 000	20 000	1	5.0×10^{-5}
Total	34 000	41 000	5	(1.2×10^{-4})

EMS: Ethylmethane sulfonate

(): Average mutation rate

Table 2. Degrees of shattering in the mutant lines resistant to shattering induced from an *indica* rice variety "Nan-jing 11"

Mutation lines	Mutagen	Breaking tensile strength (gf)	
		Field ¹⁾	Green house ²⁾
Nan-jing 11	—	90.3 ± 14.4 ³⁾	56.5 ± 22.9
SR-1	⁶⁰ Co (20 KR)	279.1 ± 22.2	309.8 ± 46.2
SR-2	⁶⁰ Co (20 KR)	151.3 ± 16.5	160.0 ± 32.5
SR-4	⁶⁰ Co (20 KR)	220.7 ± 22.9	—
Hokuriku No. 143 (SR-5)	⁶⁰ Co (20 KR)	211.0 ± 20.1	237.5 ± 29.8
SR-6	50 mM EMS ⁴⁾	217.3 ± 14.5	—

The differences in the breaking tensile strength among the three mutant lines, SR-4, Hokuriku No. 143 (SR-5) and SR-6 were not significant, while the differences among Nan-jing 11, SR-1, SR-2 and these three lines were significant ($p < 0.01$).

¹⁾ Breaking tensile strength of ten spikelets each in fifty panicles from thirty-five to forty days after heading was measured in a paddy field.

²⁾ The breaking tensile strength of twenty spikelets was measured thirty days after flowering in a green house.

³⁾ Average and S. D.

⁴⁾ EMS: Ethylmethane sulfonate

Fig. 1. Degree of shattering in the mutant lines induced from an *indica* rice variety, "Nan-jing 11".
 A: Nan-jing 11, n=50, B: SR-2, n=50
 C: Hokuriku No. 143 (SR-5), n=50,
 D: SR-6, n=50, E: SR-4, n=50
 F: SR-1, n=50
 ▼: Average value of breaking tensile strength (gf)

20.1, 217.1 ± 14.5 の脱粒性難の値を示した。また SR-1 については、 279.1 ± 22.2 と突然変異系統中最も高い値で脱粒性極難を示した。差の検定の結果、SR-4, SR-5, SR-6 の 3 系統間では有意差の認められなかったが、この 3 系統と SR-2 との間では 1% 水準で有意差が認められた。また SR-1 についても、他の突然変異 4 系統との間で 1% 水準で有意差が認められた。

(2) 温室栽培個体

脱粒性程度の経時的変化における、原品種南京 11 号および難脱粒性突然変異 3 系統の品種・系統間差は明瞭であった (Fig. 2, Table 2)。

南京 11 号の抗張強度 (gf) は、開花 5 日目までには 240 から 270 まで増すが、開花後 5 から 10 日目には 240 まで減じた。その後抗張強度 (gf) は、10 日目から 15 日にかけて減少し、最終的には脱粒性極易の 60 前後の値を示すようになった。この値は、それ以後開花 33 日目まで維持された。突然変異系統については、全ての系統で開花後 10 日目までは抗張強度が高くなる。その後、SR-1 を除く突然変異変異系統では 10 日目から 15 日にかけて、南京 11 号と同様に抗張強度が減じた。

Fig. 2. Changes in shattering degree in the mutant lines resistant to shattering after flowering.

まず SR-2 の開花翌日の抗張強度 (gf) は、200 を示し、南京 11 号より低かったが、5 日目から 7 日目にかけて 240~250 に増加し、その後は減じ、最終的には 150~170 の範囲で脱粒性やや難のほぼ一定の値を示しながら 33 日目まで推移した。また SR-5 については、開花翌日の抗張強度 (gf) は、南京 11 号とほとんど差がないが、15 日目以降、250~270 までの脱粒性難の一定の値で推移した。SR-1 については、開花翌日より 270 という高い抗張強度 (gf) を示し、また開花後 10 日目にも 350 という値を示した。その後も 300 以上の、脱粒性極難の値を 33 日目まで維持した。

圃場条件と温室条件との脱粒性程度を比較すると、脱粒性極易の南京 11 号は温室条件のものが、より低い抗張強度を、突然変異系統のうち脱粒性難の SR-5 と極難の SR-1 の 2 系統については、温室条件のものがより強い抗張強度の値をとる傾向を示した。つまり温室条件の方が、各系統間の脱粒性程度の違いをより顕著に生じた。しかし各系統間における脱粒性程度の順序関係は、栽培条件に関係なく同じであった。

3. 離層形成の有無

突然変異系統 SR-1, SR-2, SR-5 および原品種の南京 11 号の 4 系統において、離層形成程度および小穂内部構造に明瞭な系統間差が認められた。

つまり原品種の南京 11 号では、開花後 2 日目にはすでに護穎基部に部分的ではあるが離層が観察された (Fig. 3 B)。開花後 15 日目には離層はほぼ完全になり、開花 30 日目にはより明瞭になった (Fig. 3 C, 3 D)。一方突然変異系統では、脱粒性やや難の SR-2 は全期間を通じて明瞭な離層形成が認められなかったが、開花 15 日目に護穎基部の組織細胞の密度が粗になり、その組織に部分的細胞群の崩壊 (以下、細胞群の崩壊とする) が認められた (Fig. 3 F)。また SR-2 では離層形成とは別に、護穎基部から副護穎にかけての組織が南京 11 号や他の突然変異系統に比べて細長いことが観察され、離層形成以外的小穂内部構造も突然変異を併発していることを確認した (Fig. 3 E)。SR-5 では、細胞群の崩壊が開花後 2 日目に観察され、その程度は SR-2 において 15

Fig. 3. Longitudinal sections of the abscission region between pedicel and rachilla of an *indica* rice variety "Nan-jing 11" and mutant lines resistant to shattering.

A : Nan-jing 11

a : abscission layer, p : pedicel, r : rudimentary glume, s : sterile glume, sz : supporting zone
vt : vascular tissue

B : Nan-jing 11 (two days after flowering)

C : Nan-jing 11 (fifteen days after flowering)

D : Nan-jing 11 (thirty days after flowering)

E : SR-2

F : SR-2 (fifteen days after flowering)

G : Hokuriku 143 (fifteen days after flowering)

H : SR-1 (thirty days after flowering)

日目に観察されたものと同程度であった。また開花後15日目以降、さらに細胞群の崩壊の進行を確認することができたが、明瞭な離層形成には至らなかった (Fig. 3 G)。SR-1 では、全観察期間を通して細胞群の崩壊および離層形成は全く認められなかった (Fig. 3 H)。

考 察

本研究では、脱粒性程度の評価および離層形成程度の違いにより、5つの難脱粒性突然変異系統を、①脱粒性

極難で離層形成あるいは細胞群の崩壊が全く認められない SR-1, ②脱粒性難で細胞群の部分的崩壊が観察されるのみで明瞭な離層形成が認められない 3 系統 (SR-4, SR-5, SR-6), ③脱粒性やや難で部分的細胞群の崩壊のみが認められる SR-2, の 3 つのグループに分類できた。

脱粒性と離層形成とは密接な関係があるとされている。つまり小穂の護穎基部で離層細胞群が形成され, その細胞群の崩壊により離層が形成され脱粒すると考えられている。また細胞群の形成程度や細胞群の崩壊程度の違いにより, 脱粒性程度が変化すると考えられている。(陳・井之上 1982 a, b, 陳ら 1982, 1992, Hu *et al.* 1964, Srinivas *et al.* 1979, 顔 1974, Zee *et al.* 1979)。

本研究においても, 3 グループの脱粒性程度の違いは, それぞれ離層細胞の形成あるいは細胞群の崩壊などに関与する, 異なる 3 種の遺伝変異により生じたものと考えられる。ただ SR-2 は, 細胞群の崩壊が他の系統に比べて少ない系統であるにもかかわらず, 最も弱い抗張強度を示し脱粒性やや難であった。脱粒性程度の違いは, 離層の形成とともに離層と中心維管束との間にある厚膜細胞の幅 (Zee *et al.* 1979), 離層間にある中心維管束 (supporting zone) の大きさ (Srinivas *et al.* 1979), さらに厚膜細胞の幅や supporting zone の大きさに加えて護穎と副護穎の間にある小穂接合部分の太さ (陳・井之上 1982 a) など小穂内部構造とも関連することが明らかにされている。SR-2 では, 護穎と副護穎との間が細長くなる変異を併発しており, 離層形成過程の遺伝変異に加えて小穂内部構造の変異が抗張強度を減ずる結果になったと考えられる。

また温室栽培の原品種南京 11 号および突然変異 3 系統の経時的脱粒性程度の測定および離層形成程度の観察結果から, 離層形成あるいは細胞群の崩壊の進行とともに脱粒性程度が変化することを確認した。さらに温室条件と圃場条件との間では, 脱粒性程度に違いを生じ, 温室条件のものがより顕著に各系統間の差を示した。しかし 3 グループ間の脱粒性程度に関する順位は環境条件に関係なく同じであった。つまり脱粒性は, 登熟過程の環境条件により離層形成程度および脱粒性程度に違いを生じ易い形質であるが, 難脱粒性の変異は, 異なる環境条件でも安定して発現する遺伝変異であると考えられる。

難脱粒性突然変異個体の誘発については, γ 線照射によるものがエチルメタンスルホネート処理より高い誘発率を示した。しかし M_1 で集団採種を行ったことや反復試験もないことなどから, 両処理区の違いについてはさらに検討を要する。

謝 辞

突然変異の誘発に関して, 当時北陸農業試験場作物第二研究室の藤巻 宏博士 (現, 農業生物資源研究所),

森 宏一博士 (現, 北海道大学), 松葉捷也博士 (現, 中国農業試験場) に御協力いただきました。また各氏および矢野昌裕博士 (北陸農業試験場) には, 本論文の作成にあたり, 多くの御助言と激励をいただきました。深く感謝の意を表します。

引用文献

- 陳 日斗・井之上準 (1982 a) 韓国の日印交雑水稻品種における脱粒性と離層組織との関係. 日作紀 51: 43-50.
- ・—— (1982 b) 韓国の日印交雑水稻における脱粒性の品種間差異と小枝梗の内部形態の関係について. 日作紀 51: 271-275.
- ・——・大村 武 (1982) 日印交雑品種の脱粒性および離層形成の遺伝. 育雑 32: 290-295.
- ・佐野芳雄・井之上準 (1992) アジア稲およびアフリカ稲と祖先野生種における小枝梗の離層の類似性について. 日作紀 61: 257-263.
- Eiguchi, M. and Y. Sano (1990) A gene complex responsible for seed shattering and panicle spreading found in common wild rices. Rice Genet. Newsl. 7: 105-107.
- Hu Chao-Hwa, Kao Kou-Nan and Chang Chia-Cheng (1964) Histological and genetic studies on shedding and lodging habits of rice plants. Botanical bulletin of academia Sinica 5: 170-180.
- Ichikawa T., T. Sugiyama, H. Takahashi and S. Miyakara (1990) Equipment for quantitative measurement of shattering habit of paddy. JARQ 24: 37-42.
- 菊池文雄・板倉 登・池橋 宏・横尾政雄・中根 晃・丸山清明 (1985) 短稈・多収水稻品種の半矮性に関する遺伝子分析. 農技研報 D 36: 125-146.
- 小林 陽 (1973) 水稻の矮性草型および脱粒性の遺伝様式と両形質間の連鎖関係について. 北陸作物学会報. 8: 29-30.
- Nagao S. and M. Takahashi (1963) Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice (Genetical studies on rice-plant, XVII). Journ. Facul. Agr., Hokkaido Univ. 53: 72-130.
- Ogi, Y., H. Kato, K. Maruyama, A. Saito and F. Kikuchi (1993) Identification of RFLP markers closely linked to the semi-dwarfing gene at the *sd-1* locus in rice. Japan. J. Breed. 43: 141-146.
- 大場伸哉・中村 淳・鶴見裕子・菊池文雄 (1989) インド型半矮性品種「台中在来 1 号」と日本型矮性品種「シラヌイ」における半矮性遺伝子の連鎖分析. 熱帯農業 33: 286-291.
- Oba, S., F. Kikuchi, K. Maruyama (1990) Genetic analysis of semidwarfness and grain shattering of chinese rice variety "Ai-Jio-Nan-Te". Japan J. Breed. 40: 13-20.
- Srinivas T., M. K. Bhashyan and H. S. R. Desikachar (1979) Histological peculiarities at the region of attachment of grain stalk associated with the shadding quality of rice.

Indian J. Agric. Sci. 49 : 78-81.

顔 吉甫 (1974) 水稻離層組織与脱粒性遺伝関係之研究. 科学農業 22 (1/2) : 62-65.

Zee, S. Y., B. S. Vergara and T. M. Chu (1979) Abscission layer in the rice pedicel. IRRN 4 (6) : 5-6.

Summary

Five mutant lines resistant to shattering were induced from an *indica* rice variety "Nan-jing 11" to breed high yielding varieties and to analyse the mechanism of the shattering habit in rice.

Base on the estimation of the shattering degree and abscission layer development, it was assumed that five mutant lines were controlled by three different and independent genetic factors.

Four mutant lines obtained among 21,000 M₂ seedling irradiated with ⁶⁰Co-rays (20KR) were designated as SR-1, SR-2 and SR-5 (Hokuriku 143). One line obtained among 20,000 M₂ seedlings treated with 50 mM Ethylmethanesulfonate solution was designated as SR-6. These mutant lines were classified into three groups based on the degrees of shattering. SR-1 with belongs to the first group showed a very strong resistance to shattering. The second group contains the three mutant lines, SR-4, Hokuriku No. 143 (SR-5) and SR-6, which were comparatively resistant to shattering. The last one, SR-2 showed a moderate resistance to shattering.

Based on microscopic observations of longitudinal sections, it was demonstrated that in the three groups of mutant lines and the original variety, Nan-jing 11, the development of the abscission layer and the structure of the spikelets were different. Nan-jing 11 developed a clear abscission layer at the base of sterile glumes in the spikelet, whereas SR-1 locked the abscission layer. SR-5 (Hokuriku 143) also locked on abscission layer, and it was observed that the cells at the base of sterile glumes underwent partial degeneration. In SR-2, the cell degeneration was less pronounced than in SR-5, and the region of between sterile glumes and rudimentary glumes was longer or more slender than in the other lines. These results indicate that the development of the abscission layer is related to the shattering habit in mutant lines classified into three groups, and that the structure of the spikelets also plays a major role in the shattering habit.

Y. Fukuta¹⁾

H. Yoshida²⁾

K. Fukui¹⁾

A. Kobayashi³⁾

¹⁾ Hokuriku National Agricultural Experiment Station, Joetsu 943-01

²⁾ National Agriculture Research Center, Tsukuba 305

³⁾ Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Tsukuba 305