

## 作物生理・細胞工学

# ジベレリンとサイトカイニンがイネの穂ばらみ期耐冷性に及ぼす影響

張祖建・中村貞二\*・国分牧衛・西山岩男

(東北大学)

**要旨：**水稻品種ササニシキを供試し，1次枝梗分化期から小胞子初期までジベレリン，ジベレリン生合成阻害剤とサイトカイニンを処理し，耐冷性に及ぼす影響を検討した．茎葉へのジベレリン処理と根へのサイトカイニン処理により小胞子初期冷温区（昼 17°C—夜 12°C，5日間）の受精率は有意に低下した．反対に，茎葉へのジベレリン生合成阻害剤処理により受精率は顕著に増加した．また，耐冷性が異なるササニシキとひとめぼれにジベレリン生合成阻害剤を処理した結果，両品種ともに冷温区の受精率が高まる傾向が認められ，その程度は耐冷性が弱いササニシキで顕著であった．ササニシキについて葯当たりの花粉数を観察した結果，ジベレリンおよびサイトカイニン処理により冷温区の花粉数だけでなく常温区の花粉数も減少した．反対に，ジベレリン生合成阻害剤処理により冷温区，常温区の両方で花粉数が顕著に増加した．冷温区の受精率は，冷温区の花粉数と正の相関関係が認められ，また常温区の花粉数とも正の相関関係が認められた．以上より，ジベレリンとサイトカイニン処理がイネの穂ばらみ期耐冷性を低下させること，そしてそれは花粉数を減少させて生じることが明らかとなった．また，ジベレリン，サイトカイニン処理は常温下でも花粉数を減少させることから，これらは体質的にイネの耐冷性を低下させると考えられた．多室素はイネの耐冷性を低下させること，また体内のジベレリンやサイトカイニンレベルを上昇させることが報告されていることから，室素はジベレリンやサイトカイニンを通じて耐冷性に影響する可能性が示唆された．

**キーワード：**イネ，花粉，サイトカイニン，ジベレリン，受精率，小胞子初期，耐冷性，室素．

室素肥料はイネの穂ばらみ期冷温による不稔を助長することが知られており（佐々木・和田 1975，天野ら 1984 a，Satake ら 1987，小山田 1995，Hayashi ら 2000），室素施肥法は冷害対策技術には避けられない重要な課題として注目されている．また，堆肥施用の圃場では無堆肥の圃場と比較して葉身の室素含有率は同じであっても冷温による受精率の低下が小さいこと，堆肥区は無堆肥区よりも根が良く発達し，その活性も高いことが報告されている（天野ら 1980，1984 b）．近年になって，イネ穂ばらみ期冷害における不受精には，小胞子数あるいは花粉数が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた（Nishiyama 1982，1983，刈屋 1994，西山 1999）．さらに，室素施肥により葯当たりの小胞子数，そして，常温下および冷温下の充実花粉数が減少することが証明された（Hayashi ら 2000，立田 1999）．Nishiyama (1996) は，室素施肥→根→花粉数→受精の連鎖を解明することは冷害に関するメカニズムの解明には重要であり，冷害研究のセントラルドグマとして研究を展開することを提唱している．著者らは多室素および水分条件を変えてイネを栽培した結果，地上部や1穂穎花数に対する相対的根量と穂ばらみ期耐冷性の間に正の相関関係があること（張ら 2000），また実験的に相対的根量および根の生理的活性を低下させると，穂ばらみ期耐冷性も低下すること（張ら 2001）を示した．すなわちセントラルドグマの一部ではあるが，耐冷性における根の重要性を明らかにした．

一方，室素は前述の耐冷性低下の他に，茎葉のジベレリンの増加をもたらすことが知られている（Osada ら 1973，高橋 1979）．また，イネの穂における内生ジベレリン含量は穂の伸長に従い急激に増加し，開花期に最大に達すること（Suzuki ら 1981，Kobayashi ら 1990），穂のジベレリンは主に葯に含まれていることが明らかとなった（Murakami 1983）．茎葉のジベレリン生合成系が阻害されている短銀坊主や矮稲 C においても穂の内生ジベレリンレベルは正常であることから（Kobayashi ら 1989，小林 1997），ジベレリンが葯および花粉の発育には重要な役割を果たしていることが推定されている．耐冷性に関連して，葯や花粉発達におけるジベレリンの効果や役割を明らかにした報告はないが，不受精に関する報告がいくつかされている．Nishiyama (1975) と岡部ら (1994) はジベレリンが穂ばらみ期不受精を増加させることを，佐竹 (1990) と吉岡・菅 (1996) はジベレリンの生合成阻害剤は穂ばらみ期不受精を低下させることを報告した．さらに，低温によって生じた小穂の異常形態がジベレリンによっても発生することが示されていることから（清水・久野 1966），イネの穂ばらみ期冷温による不受精の発生には内生ジベレリンが関与していることが示唆された．以上のことから，室素が稲体の内生ジベレリンレベルの上昇を通じて，穂ばらみ期耐冷性を低下させる可能性が考えられる．

また，室素はジベレリンの他に溢泌液や葉のサイトカイ

2001年1月12日受理．\*連絡責任者（〒981-8555 仙台市東北大院農学研究科，nakamura@bios.tohoku.ac.jp）．本研究の一部は文部省科学研究費（No. 10460008）による．

ニンを増加させることが知られている (Yoshida and Oritani 1974, Sumelson ら 1993). 耐冷性が根と関係する事実から (天野 1984 b, Yamamoto and Nishimura 1986, 張ら 2001), サイトカイニンは耐冷性に関係する可能性が大きいと推察された. 耐冷性に対するサイトカイニンの効果に関する報告は少なく, 効果が認められなかったり (Nishiyama 1975), 僅かに耐冷性を増やすなど (馬場 1988), 明確な結果が得られていないのが現状である.

以上より, イネの穂ばらみ期耐冷性に植物ホルモンが関わっていると考えられるが, 冷害発生のメカニズムにおける植物ホルモンと耐冷性の関係に関する研究は未展開の状態である. とくに窒素と関係するジベレリンやサイトカイニンがイネ穂ばらみ期耐冷性にどのように関わるのか, 冷害発生のセントラルドグマにおいてどんな役割を果たしているかは全く解明されていない.

そこで, 本研究はジベレリンおよびサイトカイニンとイネの穂ばらみ期耐冷性の関係を明らかにする目的で, 外生ジベレリンとサイトカイニンおよびジベレリン生合成阻害剤をイネに処理し, イネの穂ばらみ期冷温による不受精に及ぼす影響, そして不受精と花粉数との関係を調査した.

## 材料と方法

### 第1実験

耐冷性がやや弱のササニシキ (佐々木 1995) を供試し, 1999 年の 2 月~7 月に実験を行った. 催芽種子を pH 5.5 に調整した水道水を用い, サランネット上で 3.2 葉期まで生育させた後, 4 L のプラスチックポットに円形 15 本植えとし, 昼 24°C-夜 19°C (昼 06:00~18:00) の自然光ファイトロン内で材料を水耕栽培した. 水耕栽培する方法は前報と同様であった (張ら 2000). 分けつは出現時に速やかに除去し, 主茎のみを生育させた.

植物ホルモン処理としてサイトカイニン, ジベレリンおよびジベレリンとサイトカイニンの組み合わせの三処理を設けた. ジベレリン処理として 1 次枝梗分化開始期 (冷温処理 16 日前頃) から, 1 ポット当たり  $10^{-6}$  M の GA<sub>3</sub> 溶液 50 mL を週 3 回茎葉散布した. サイトカイニン処理として同じ時期から trans-zeatin を  $10^{-7}$  M になるよう水耕液に投与した. ジベレリンとサイトカイニンの組み合わせ処理は上記二処理を同時に行った.

本実験では穂上の特定位置の穎花, すなわち第 1~3 枝梗の上から 3~5 番目の穎花 (特定穎花) のみを供試した. 冷温処理は予め顕微鏡により特定穎花が小孢子初期に当たる葉耳間長を確認し, その葉耳間長の前後のいろいろな発育段階に冷温処理が開始されるようポットごとに処理開始日を調整した. 冷温処理は昼 17°C-夜 12°C (昼 06:00~18:00) で 5 日間行った. 出穂期に個体ごとに出穂日を記録した. 成熟後, 穂の形質および特定穎花の受精率を調査した. 冷温区では受精率と冷温処理開始日から出穂日までの日数の関係から, 受精率が最低となる日数とその前後

1 日の計 3 日間に出穂した個体の平均値をその処理区の受精率とした. その結果, 受精率測定に用いた各処理当たりの個体数は 11~18 であった.

### 第2実験

1999 年の 5 月~10 月に実験を行った. ササニシキを供試し, 4 L のプラスチックポットに円形 15 本植えとし, ガラス室で第 1 実験と同様に水耕栽培した.

1 次枝梗分化期 (冷温処理 14 日前頃) から冷温処理終了時までジベレリン, サイトカイニンおよびジベレリン生合成阻害剤の 3 処理を行った. ジベレリン処理, サイトカイニン処理は第 1 実験と同じである. ジベレリン生合成阻害剤はプロヘキサジオン・カルシウム塩 (後文はプロヘキサジオン Ca と略す. 商品名: ビビフル. 宮澤ら 1997) を用い, 1 ポット当たり  $10^{-6}$  M の水溶液 50 mL を週 3 回茎葉散布した.

冷温処理は第 1 実験と同じように行った. また別の個体で危険期に葉色 (SPAD 値) を葉色計 (ミノルタ製, SPAD-502) で測り, その後葉茎穂と根に分けて, 通風乾燥し乾物重を測定した. 成熟後穂の形質および特定穎花の受精率を個体ごとに測定した. 冷温区の受精率の算出方法は第 1 実験と同様, 受精率と冷温処理開始日から出穂日までの日数の関係から, 受精率が最低となる日数とその前後 1 日の計 3 日間に出穂した個体の平均値をその処理区の受精率とした. その結果, 受精率測定に用いた各処理当たりの個体数は 12~20 となった.

花粉数を測定するために, 常温区および冷温区ともに穂の開花開始と予想される日の前日の夜に特定穎花を 1 個体分ずつ採取し, 50% のエタノールで固定した. 常温区では処理当たり 4 個体 (穂) 分の特定穎果を固定した. 冷温区では処理ごとに 1 ポット分 (15) 個体のすべての特定穎果を固定した. 成熟後の受精率の算出結果より, 冷温処理開始日から出穂日までの日数が受精率の算出に用いた個体と同じ個体, すなわち危険期に正確に冷温処理された個体の特定穎果を 4 個体分選り出した. 1 個体 (穂) の 9 粒の特定穎花の中からランダムに 4 穎花を選び, 花粉数測定の対象穎花とした. 1 穎花中では花粉数が多い葯 (内穎側中央部) と花粉数が少ない葯 (外穎側中央部) (奈良ら 1999) の計 2 葯, 区当たり 16 穎花分の計 32 葯を測定した. スライドガラス上に葯を置き, その長さを測定した後, ヨード・ヨードカリ (I-KI) 溶液中で解剖し, 花粉を完全に取出して葯壁を除き, 光学顕微鏡下で花粉数を数えた. その際, ヨード・ヨードカリ溶液で濃く染まった花粉を充実花粉と判断した. なお, 操作または観察中に乾かないように, 適量のグリセリンを加えた.

### 第3実験

1999 年 5 月~10 月に行った. 耐冷性が極強のひとめぼれ (佐々木 1995) と耐冷性がやや弱のササニシキを用い,

第1表 ジベレリン, サイトカイニンおよびそれらの組み合わせ処理が穂の形質に及ぼす影響 (実験1).

処 理	少肥区		多肥区	
	1穂穎花数	1次枝梗数	1穂穎花数	1次枝梗数
無処理	57.8	6.9	88.3	8.5
GA <sub>3</sub>	58.6	7.0	110.0**	8.9
Zeatin	55.9	6.6	93.2*	8.6
GA <sub>3</sub> +Zeatin	56.8	6.7	102.3**	8.7

\*, \*\*: それぞれ5%, 1%水準で無処理に対して有意差あり.

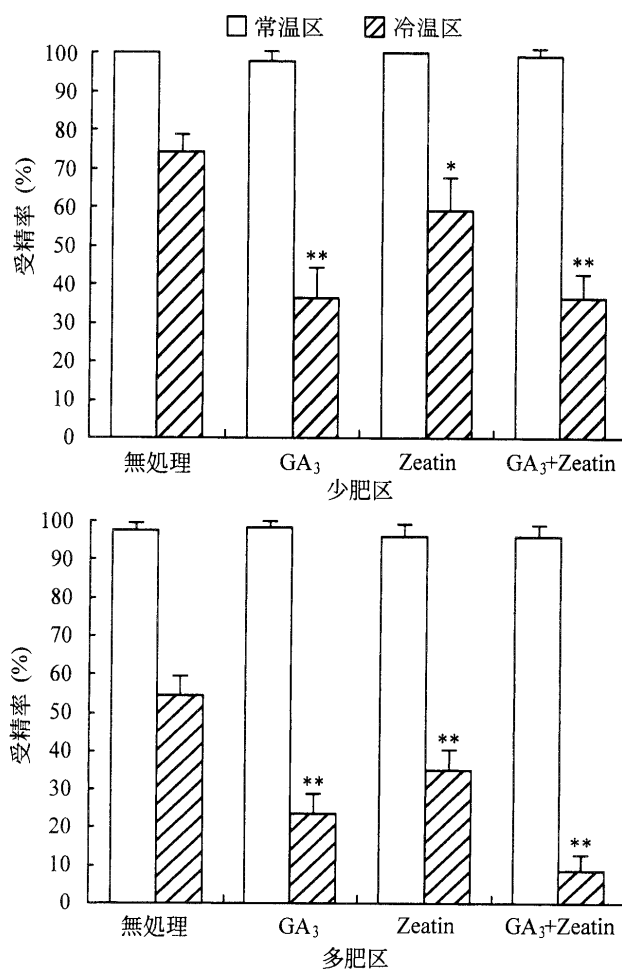
戸外で栽培した. 4 L のプラスチックポットに沖積水田土壌を詰め, 催芽種子を円形 20 粒播きした (佐竹 1972). 分けつは出現後直ちに除去して主茎のみを供試材料とした. 施肥は基肥で, 被覆尿素肥料 (LP 100) を用い, 窒素成分でポット当たり 2.4 g とした. 1 次枝梗分化開始期 (冷温処理 12 日前頃) から冷温処理が終わるまでジベレリン合成阻害剤プロヘキサジオン Ca を処理した. 濃度は  $10^{-7}$  M と  $10^{-5}$  M の 2 段階を設け, 1 ポット当たり 50 mL を週 3 回茎葉散布した. 冷温処理および受精率の算出は第 1 実験と同様に行った. 各処理当たりの個体数は 19~41 であった. また危険期の葉色 (SPAD 値) と最終稈長を測定した.

## 結 果

### 1. ジベレリン, サイトカイニンおよびジベレリン合成阻害剤処理がイネ穂ばらみ期耐冷性に及ぼす影響

第 1 実験で異なる窒素レベル下におけるジベレリン, サイトカイニンおよびそれらの組み合わせ処理が穂の形質に及ぼす影響を第 1 表に示した. 少肥下でのジベレリン処理, サイトカイニン処理, あるいは両方の組み合わせ処理は穂の形質に影響しなかった. しかし, 多肥区では顕著な影響が見られ, ジベレリン処理およびジベレリンとサイトカイニンの組み合わせ処理により 1 穂粒数は著しく増加した. サイトカイニン処理でも同じ傾向が見られたが, その増加程度は前述の 2 処理に比べてかなり小さかった. これらの処理により 1 次枝梗数はあまり変化しなかったため, この 1 穂粒数の増加は主に 2 次枝梗が増加したためと考えられた. 処理により小穂の奇形 (清水 1966) など異常な生長は発生しなかった.

第 1 実験における常温区および冷温区の受精率を第 1 図に示した. 常温下では各ホルモン処理による受精率の変化は見られず, 窒素レベルと関係なくすべて 90% 以上の高い受精率を示し, 正常な受精が行われたことが示された. 冷温処理により少肥区, 多肥区ともに受精率が大幅に減少し, 多肥区のほうは少肥区に比べて受精率が明らかに低かった. ジベレリン処理, サイトカイニン処理およびそれらの組み合わせ処理により少肥区, 多肥区ともに冷温下の受精率が顕著に低下した. また, サイトカイニン処理に比べ



第1図 ジベレリン, サイトカイニンおよびそれらの組み合わせ処理が受精率に及ぼす影響 (実験1).

ジベレリン処理は 1 ポット当たり  $10^{-6}$  M の GA<sub>3</sub> 溶液 50 mL を週 3 回茎葉散布した. サイトカイニン処理は trans-zeatin を  $10^{-7}$  M になるよう水耕液に投与した. それらの組み合わせ処理は上記二処理を同時に行った.

\*, \*\*: それぞれ5%, 1%水準で無処理に対して有意差あり.

てジベレリン処理の方は効果が大きく, 窒素レベルに関わらず無処理の半分以下に減少した. ジベレリンとサイトカイニンの組み合わせ処理の受精率は少肥区ではジベレリン処理とあまり差がなかったが, 多肥区ではジベレリン処理に比べてより低い値を示した.

第 2 実験におけるジベレリン, サイトカイニン処理およびプロヘキサジオン Ca 処理はイネの乾物生産および根/葉茎穂比に影響しなかった (第 2 表). 冷温処理開始時の葉色は処理間の差がなく, 処理により窒素代謝に影響がないことと考えられた. 最終稈長はプロヘキサジオン Ca 処理によってのみ 20 cm 程度減少した. また, 処理により小穂の奇形 (清水 1966) など異常な生長は発生しなかった. 各処理は常温区での穂の形質に有意な影響を及ぼさなかったが, プロヘキサジオン Ca 処理は 1 穂粒数を減少させる傾向があった (第 3 表). 冷温区ではジベレリン処理とサイトカイニン処理は常温区と同じように, 影響を及ぼさなかったが, プロヘキサジオン Ca 処理は 1 穂粒数を有

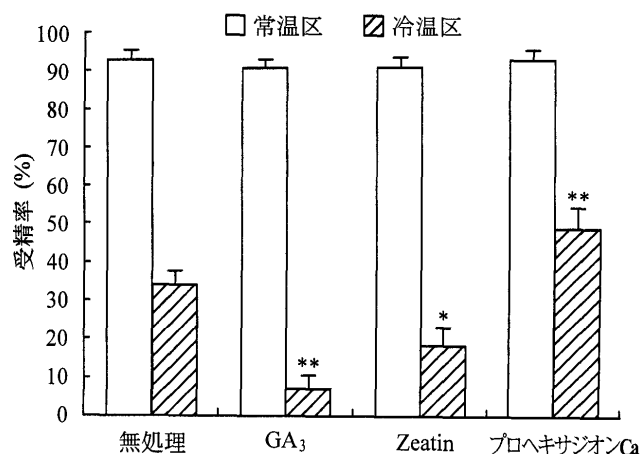
意に減少させた。

ジベレリン、サイトカイニン処理およびジベレリン生合成阻害剤処理が受精率に及ぼす影響を第2図に示した。常温区の各処理ではいずれも90%以上の高い値を示し、処理による違いは見られなかった。冷温処理により、各生長調節物質処理の受精率は大幅に減少し、無処理では35%

第2表 ジベレリン、サイトカイニンおよびジベレリン生合成阻害剤処理（プロヘキサジオンCa）がイネの生長に及ぼす影響（実験2）。

処 理	危険期乾物重		根/葉 茎穂比	危険期葉色 (SPAD値)	最終稈長 (cm)
	葉茎穂	根			
無処理	1.545	0.506	0.328	36.4	80.5
GA <sub>3</sub>	1.642	0.533	0.325	35.5	80.7
Zeatin	1.619	0.512	0.316	36.3	78.9
プロヘキサ ジオンCa	1.633	0.516	0.315	36.0	59.7 **

\*\*：1%水準で無処理に対して有意差あり。



第2図 ジベレリン、サイトカイニンおよびジベレリン生合成阻害剤処理（プロヘキサジオンCa）が受精率に及ぼす影響（実験2）。

ジベレリン処理とサイトカイニン処理は第1図と同様で、ジベレリン生合成阻害剤処理は1ポット当たり $10^{-6}$ MのプロヘキサジオンCa溶液50mLを週3回茎葉散布した。

\*, \*\*: それぞれ5%, 1%水準で無処理に対して有意差あり。

程度まで低下した。ジベレリン処理とサイトカイニン処理での受精率は無処理よりも有意に低い値を示し、とくにジベレリン処理では7%という低い値を示した。反対に、プロヘキサジオンCa処理は顕著に受精率を増加させ、無処理に比べて15%程度、ジベレリン処理に比べると42%程度高かった。

第3実験では、耐冷性が極強のひとめぼれと耐冷性がやや弱のササニシキを供試して、2つの異なる濃度のプロヘキサジオンCa処理を行った。これらの処理がイネの生長および穂の形質に及ぼす影響を第4表に示した。供試品種を問わず、 $10^{-7}$ MのプロヘキサジオンCa処理は最終稈長にあまり影響しなかったが、 $10^{-5}$ MのプロヘキサジオンCa処理では最終稈長が25cm以上減少し、処理の効果が示された。常温区ではプロヘキサジオンCa処理は両品種ともに1穂粒数に影響しなかった。冷温区では $10^{-7}$ MのプロヘキサジオンCa処理は1穂粒数に影響しなかったが、 $10^{-5}$ Mの処理により両品種ともに1穂粒数は有意に減少した。

異なる濃度のプロヘキサジオンCa処理が両品種の受精率に及ぼす影響を第3図に示した。常温区では品種間差、処理の差が認められず、いずれも90%以上の高い受精率を示した。冷温区では、ササニシキ、ひとめぼれともに、プロヘキサジオンCaの処理濃度が高いほど受精率が高くなる傾向が見られたが、その傾向はササニシキでは大きく、とくに $10^{-5}$ MのプロヘキサジオンCa処理は冷温区の受精率を有意に増加させた。

第3表 ジベレリン、サイトカイニンおよびジベレリン生合成阻害剤処理（プロヘキサジオンCa）が穂の形質に及ぼす影響（実験2）。

処 理	常温区		冷温区	
	1穂穎花数	1次枝梗数	1穂穎花数	1次枝梗数
無処理	105.1	8.9	93.9	8.6
GA <sub>3</sub>	101.8	8.5	97.5	8.8
Zeatin	106.7	8.8	93.8	8.4
プロヘキサジオンCa	98.8	8.3	82.4 **	8.1

\*\*：1%水準で無処理に対して有意差あり。

第4表 ジベレリン生合成阻害剤処理（プロヘキサジオンCa）がイネの生長に及ぼす影響（実験3）。

品 種	処 理	最終稈長 (cm)	危険期葉色 (SPAD値)	常温区		冷温区	
				1穂穎花数	1次枝梗数	1穂穎花数	1次枝梗数
ササニシキ	0 M	80.1	42.0	101.6	9.5	91.7	8.7
	$10^{-7}$ M	78.1	40.8	97.3	9.3	92.5	9.0
	$10^{-5}$ M	51.9 **	41.1	100.5	8.9	82.7 **	9.0
ひとめぼれ	0 M	79.6	41.4	89.2	8.5	83.5	8.6
	$10^{-7}$ M	78.7	41.3	92.2	9.1	81.5	8.4
	$10^{-5}$ M	52.7 **	41.2	85.8	8.6	72.7 **	8.4

\*, \*\*: それぞれ5%, 1%水準で無処理に対して有意差あり。

## 2. ジベレリン, サイトカイニン処理およびジベレリン生合成阻害剤処理がイネの花粉形成に及ぼす影響

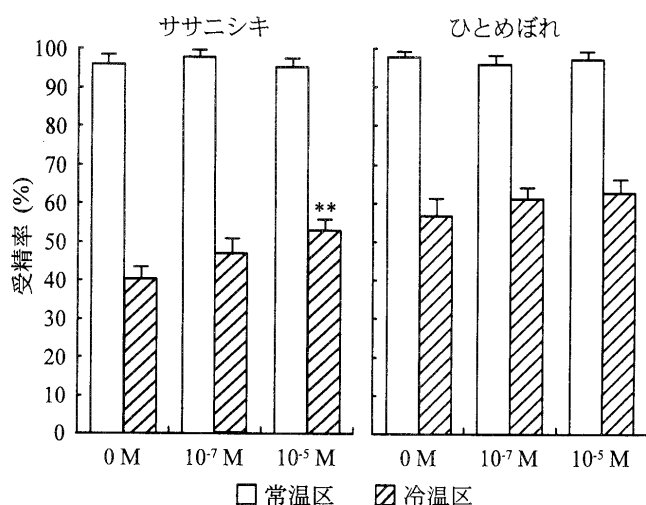
第5表には第2実験の常温区におけるジベレリン, サイトカイニンおよびジベレリン生合成阻害剤処理が葯長および花粉数に及ぼす影響を示した。穎花内の葯の位置によっても花粉数が異なり, 外穎側中央の葯は最も少なく, 内穎側中央の葯は最も多いことが報告されている(奈良ら1999)。本研究では処理の影響を正確に把握するために, また再確認する意味で, これら2つの位置の葯について花粉数を測定した。処理を問わず, 内穎側の葯が外穎側の葯

に比べて発育が良く, 葯長および花粉数が大きい値を示し, 奈良ら(1999)の報告と同様な結果となった。処理別に見ると, ジベレリン処理により, 充実花粉数および花粉総数ともに減少し, その程度は充実花粉数の方が大きかった。外穎側と内穎側の平均値をみると, ジベレリン処理による花粉総数の減少は有意ではなかったが, 充実花粉数の減少は有意であった。反対に, プロヘキサジオンCa処理では内穎側の葯でも外穎側の葯でも充実花粉数と花粉総数ともに増加した。その程度は内穎側の葯で大きく, 増加も有意であった。平均値を見ると, 充実花粉数に比べて, 花粉総数の方の増加が大きかった。外穎側, 内穎側ともにサイトカイニン処理により充実花粉数および花粉総数が減少する傾向が認められたが, 有意ではなかった。

冷温区における各処理が花粉形成に及ぼす影響を第6表に示した。各処理ともに, 冷温区の充実花粉数および花粉総数は常温区に比べて非常に低い値を示し, 常温区と同様, 内穎側の葯の花粉数は外穎側の葯に比べて多かった。ジベレリン処理, サイトカイニン処理およびジベレリン生合成阻害剤処理が葯長, 充実花粉数および花粉総数に及ぼす影響は常温区とほぼ同様であったが, 常温区に比べその変化の程度はかなり大きかった。

## 3. ジベレリン, サイトカイニン処理およびジベレリン生合成阻害剤処理における花粉形成とイネ耐冷性の関係

第4図には冷温区における各生長調節物質処理の受精率と充実花粉数および花粉総数との関係を示した。受精率と葯当たりの充実花粉数, 花粉総数ともに正の相関関係が認



第3図 ジベレリン生合成阻害剤処理(プロヘキサジオンCa)が異なる品種の受精率に及ぼす影響(実験3)。処理法は第2図と同様。

\*\* : 1%水準で無処理に対して有意差あり。

第5表 ジベレリン, サイトカイニンおよびジベレリン生合成阻害剤処理(プロヘキサジオンCa)が常温区の葯長および花粉数に及ぼす影響(実験2)。

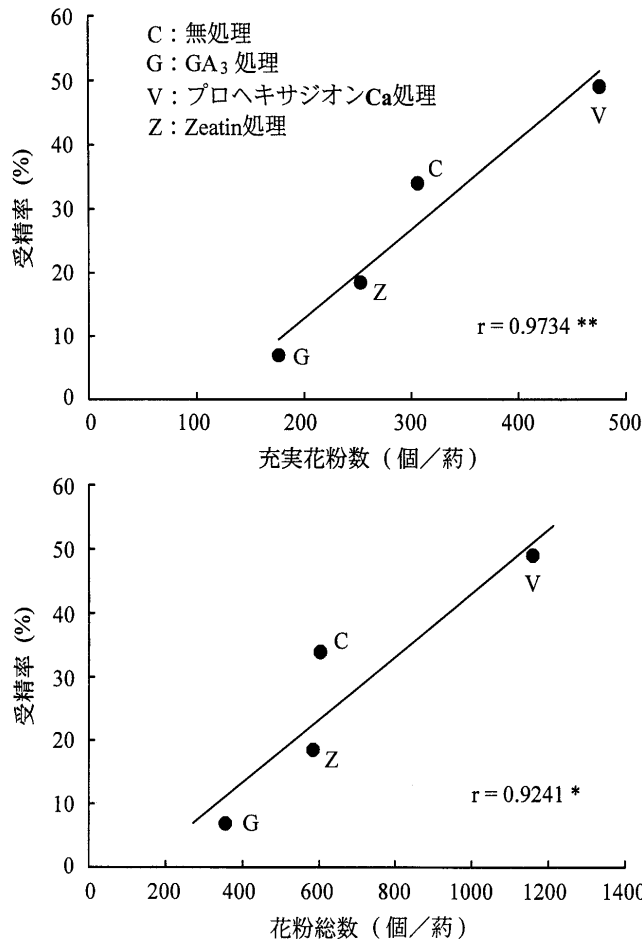
処 理	外穎側			内穎側			平均値		
	葯長	充実花粉数	花粉総数	葯長	充実花粉数	花粉総数	葯長	充実花粉数	花粉総数
無処理	1.834	948.9	1131.3	1.869	991.4	1196.1	1.851	970.2	1163.7
GA <sub>3</sub>	1.726 *	612.1**	962.0 *	1.907	852.1*	1219.7	1.816	732.1**	1090.8
Zeatin	1.751	885.7	1049.1	1.843	994.7	1161.0	1.817	940.2	1105.1
プロヘキサジオンCa	1.886	1003.1	1274.5	2.000**	1118.1*	1415.1*	1.943**	1060.6	1344.8**

\*, \*\*: それぞれ5%, 1%水準で無処理に対して有意差あり。

第6表 ジベレリン, サイトカイニンおよびジベレリン生合成阻害剤処理(プロヘキサジオンCa)が冷温区の葯長および花粉数に及ぼす影響(実験2)。

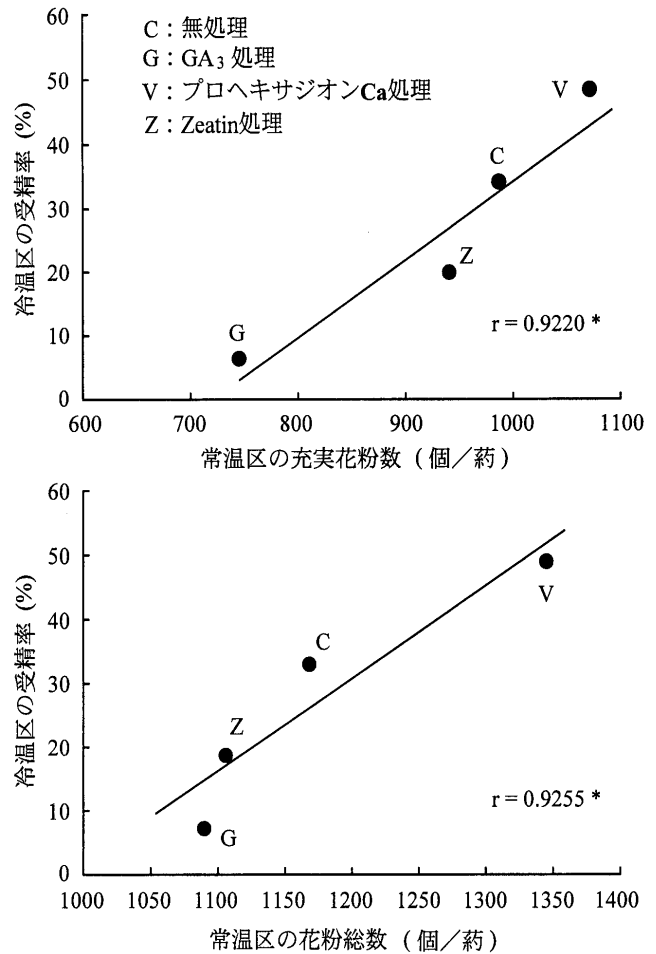
処 理	外穎側			内穎側			平均値		
	葯長	充実花粉数	花粉総数	葯長	充実花粉数	花粉総数	葯長	充実花粉数	花粉総数
無処理	1.583	225.2	526.5	1.695	385.7	681.0	1.639	305.5	603.7
GA <sub>3</sub>	1.583	123.9 *	279.0**	1.709	229.3**	433.0**	1.646	176.6**	356.0**
Zeatin	1.558	151.3	472.4	1.743	353.6	698.7	1.650	252.4	585.6
プロヘキサジオンCa	1.781**	344.9 *	1063.3**	1.897**	606.4**	1250.1**	1.839**	475.7**	1156.7**

\*, \*\*: それぞれ5%, 1%水準で無処理に対して有意差あり。



第4図 冷温区における各生長調整物質処理の受精率と充実花粉数および花粉総数との関係 (実験2)。

\*, \*\*: それぞれ5%, 1%水準で有意。



第5図 生長調整物質を処理した場合の冷温区の受精率と常温区の充実花粉数および花粉総数との関係 (実験2)。

\*: 5%水準で有意。

められ、葯当たりの充実花粉数の方がより高い相関関係を示した。

第5図には生長調節物質を処理した場合の冷温区の受精率と常温区の葯当たりの充実花粉数および花粉総数との相関関係を示した。両者ともに高い正の相関が認められた。

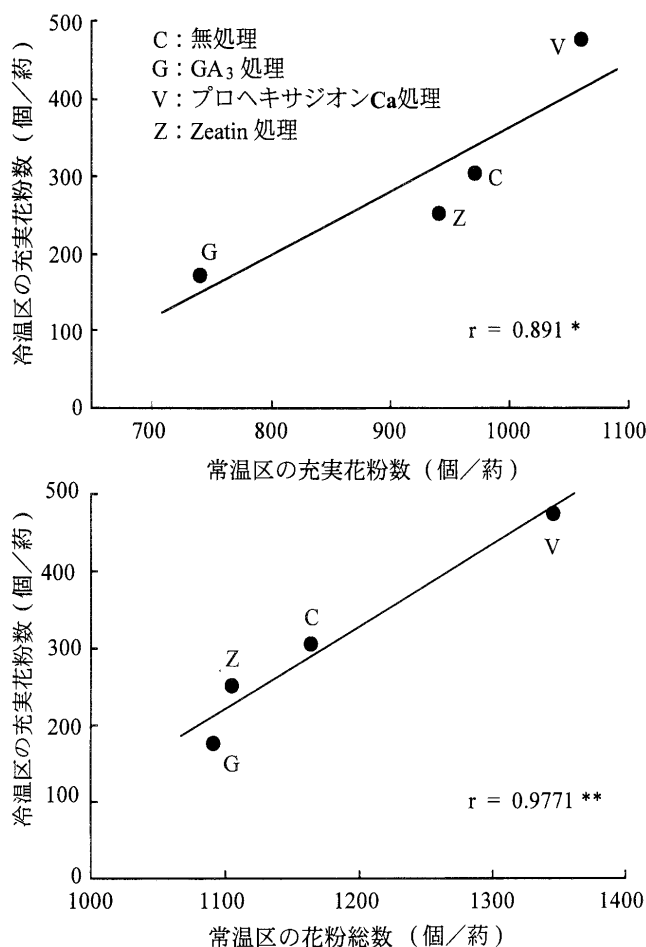
生長調整物質を処理した場合の冷温区の充実花粉数と常温区の充実花粉数および花粉総数との間にはいずれも高い相関が認められ (第6図), 冷温区の充実花粉数と常温区の花粉総数の相関はより高かった。

## 考 察

多窒素条件下ではイネの穂ばらみ期耐冷性が低下すること (佐々木 1975, Satake ら 1987, Hayashi ら 2000), また茎葉のジベレリンレベル (Osada ら 1973, 高橋 1979) と溢液や葉のサイトカイニンレベル (Yoshida 1974, Sumelson ら 1993) が増加することから, これらの植物ホルモンが耐冷性に及ぼす影響を本実験で検討した。実験1では, 窒素レベルに関わらず, ジベレリンとサイトカイニン処理は少肥区および多肥区におけるイネの耐冷性を著しく低下させ, その程度は多肥条件下の方が大きかった。また, ジベレリンとサイトカイニンの組み合わせ

処理はそれぞれの単独処理よりも効果が大きかった (第1図)。以上より, 両植物ホルモンにはイネ穂ばらみ期耐冷性を低下させる働きがあることが示唆された。

実験2では, ジベレリンとサイトカイニン処理の効果を再確認するため, さらに, 耐冷性におけるジベレリンの生理機能を検証するために, ジベレリンとサイトカイニン処理に加え, ジベレリン生合成阻害剤 (プロヘキサジオン Ca) 処理を行った。冷温区の受精率は無処理に比べてジベレリン処理では25%以上減少, サイトカイニン処理でも15%以上減少し (第2図), 実験1の結果と同じ傾向であった。ジベレリン処理と反対に, プロヘキサジオン Ca 処理によりジベレリン生合成を抑制するとその受精率は15%以上も増加した (第2図)。実験1, 2の他にも予備実験を行っているが, その場合もジベレリン処理とサイトカイニン処理はイネ穂ばらみ期耐冷性を低下させた。従って, イネの穂ばらみ期耐冷性にジベレリンとサイトカイニンが関与することが明らかとなった。また, ジベレリンおよびサイトカイニンは生長促進ホルモンであること, 反対に, 生長抑制ホルモンであるアブシジン酸はイネの耐冷性を増加させる (馬場ら 1985, 中嶋ら 1994) ことから, イネの生長を促進することがイネ穂ばらみ期耐冷性にとって



第6図 生長調節物質を処理した場合の冷温区の充実花粉数と常温区の充実花粉数および花粉総数との関係 (実験2).

\*, \*\*: それぞれ5%, 1%水準で有意.

むしろ不利であることが示唆された.

また, 実験3では耐冷性が極強のひとめぼれと耐冷性がやや弱のササニシキ (佐々木 1995) を用い, プロヘキサジオンCa処理によりジベレリン生合成を阻害し, 穂ばらみ期耐冷性に及ぼす影響を検討した. その結果, 両品種ともにプロヘキサジオンCa処理により耐冷性が高まる傾向, また処理濃度が高くなるに従い耐冷性が高まる傾向が認められた (第3図). 品種間の差を比べると, 耐冷性が弱いササニシキの方が耐冷性が強いひとめぼれよりも処理に対する反応が敏感で, 冷温区の受精率が顕著に増加した. 前報 (張ら 2000) では, ひとめぼれ, ササニシキの両品種とも窒素施肥の増加に伴い相対的根量と耐冷性が減少したが, 相対的根量の減少に対する耐冷性の低下は, ササニシキの方がひとめぼれよりも著しいことが示された. また, 土壌の還元性を高めて根の生理的活性を低下させた場合でも, ササニシキの方が耐冷性の低下がより著しいことが示された (張ら 2001). 以上より, 耐冷性が弱い品種では耐冷性に影響を及ぼす諸処理に対する反応が敏感であることが示唆された.

イネ穂ばらみ期耐冷性を左右する原因が充実花粉数であることが近年の研究で明らかになってきている (Ni-

shiyama 1982, 1983, Satake 1989, Hayashi ら 2000). 本実験でも各処理における常温下および穂ばらみ期冷温下での充実花粉数, また, 特に常温下の場合は分化した小胞子数にほぼ一致すると考えられる花粉総数を調査した. その結果, 花粉総数および充実花粉数は常温区でも, 冷温区でも, ジベレリン処理とサイトカイニン処理により減少する傾向が認められ, 特にジベレリン処理ではその程度が大きかった (第5表, 第6表). ジベレリン処理と反対に, ジベレリン生合成阻害剤処理は花粉総数および充実花粉数を著しく増加させた. 以上より, 花粉形成においてジベレリンとサイトカイニンが重要な役割を果たすことが示唆された. 各植物調節物質処理は常温区で花粉総数および充実花粉数を低下 (ジベレリン, サイトカイニン) あるいは増加 (プロヘキサジオンCa) させること (第5表), また, 冷温区ではその増減の程度は常温区に比べて大きいことから (第6表), ジベレリンやサイトカイニンは小胞子の分化, そしてさらには退化に影響する可能性が示され, 今後検討が必要である.

生長調節物質処理による冷温区の受精率の変化は葯当たりの充実花粉数や花粉総数と相関関係が認められ, 特に充実花粉数との相関が高かった (第4図). 従って, 生長調節物質処理は窒素 (Hayashi 2000) や穎花の穂上位置 (Nishiyama 1982) と同様, 花粉の形成や充実を通じて耐冷性に影響することが示された. また, 常温区の充実花粉数や花粉総数は冷温区の受精率と, そしてそれぞれ冷温区の充実花粉数と相関があることから (第5図, 第6図), 冷温に遭遇しない場合のもともとの花粉総数および充実花粉数が冷温区の充実花粉数, ひいては耐冷性に関して重要であることが示された. イネの耐冷性を論じる時にはイネの体質あるいはイネの健康という言葉はよく使われており, 花粉の形成能力はその一つの指標として挙げられている (西山 1997, 森脇 2000). 本実験は, この体質の一つとして常温下における花粉総数あるいは充実花粉数が候補に挙げられることを示す結果となった. そして, その体質にはジベレリンやサイトカイニンが影響することが明らかとなった.

立田 (1999) は窒素施肥の異なる圃場で栽培したイネの充実花粉数を比較し, 基肥窒素や幼穂形成期頃の追肥が多い場合では葯長や葯幅が短く, 充実花粉数を減少させる, すなわち体質を悪化させることを報告した. 本実験ではジベレリンとサイトカイニン処理は多窒素処理と同じように常温区の花粉数を減少させ, 冷温処理区の花粉数や受精率を低下させることが分かった. 一般に, 窒素レベルを上げると, 茎葉のジベレリンレベル (Osada ら 1973, 高橋 1979) と溢液や葉のサイトカイニンレベル (Yoshida 1974, Sumelson ら 1993) が増加することから, 窒素多肥による耐冷性の低下においてジベレリンとサイトカイニンが重要な役割を果たしていることが推察され, 今後の研究が期待される.

植物の地下部／地上部比が窒素栄養に応じて変化することはよく知られている。また、窒素と密接な関係にあるジベレリン (Osada ら 1973, 高橋 1979) は地下部よりも地上部の生長を促進することが明らかにされている。その理由としては、根の伸長に必要なジベレリンの量は茎の伸長に必要な量より少なく、通常は根の伸長に必要なジベレリンの量は満たされているために、ジベレリン処理は根の伸長を促進せず、地上部の生長を促進するからと考えられている (谷本 1999, Inada ら 2000)。一方、窒素と関係するサイトカイニン (Yoshida 1974, Sumelson ら 1993) も地下部より地上部の生長を促進するが (Kuiper 1988, Werf and Nagel 1996, Beck 1996), その理由として、植物は根で窒素を感知した後短時間でサイトカイニンを体内に蓄積すること、また窒素とサイトカイニンにより誘導される蛋白質をエンコードする遺伝子の同一性が高いことから (Sakakibara ら 1998), 窒素はサイトカイニンを介し、生長を制御する遺伝子ヘシグナルを伝達し、地下部／地上部比を低下させると考えられている (榊原 1999)。以上より、多窒素条件による地下部と地上部の生長の変化にはジベレリンやサイトカイニンが関与していると考えられる。著者らは前報 (張 2000) で地上部に対する相対的根量は窒素レベルにより変化し、それは穂ばらみ期耐冷性と密接な関係にあること、また、実験的に相対的根量や根の生理的活性を減少させると耐冷性は低下すること (張ら 2001) を明らかにした。窒素と密接に関係するジベレリン (Osada ら 1973, 高橋 1979) やサイトカイニン (Yoshida 1974, Sumelson ら 1993) は相対的根量や根の生理的活性の低下を通じてイネ穂ばらみ期耐冷性に影響を及ぼすのか、または相対的根量や根の生理的活性には関係せずに耐冷性に影響を及ぼすのかについて、今後明らかにする必要があると思われる。

**謝辞:** ジベレリン生合成阻害剤プロヘキサジオン Ca (ビビフル) を提供して頂いたクミアイ化学工業株式会社生物科学研究所の中山礎氏に深い感謝の意を表します。

## 引用文献

- 天野高久・森脇良三郎 1980. 水稻の障害型冷害に関する研究. IV 2, 3 の根部処理が不稔発生に及ぼす影響. 日作紀 49 (別 1): 187—188.
- 天野高久・森脇良三郎 1984a. 水稻の冷害に関する栽培的研究. 第 2 報 穂孕期不稔に関する葉身の限界窒素含有率. 日作紀 53: 1—6.
- 天野高久・森脇良三郎 1984b. 水稻の冷害に関する栽培的研究. 第 3 報 穂孕期不稔に対する堆肥施用の効果. 日作紀 53: 7—11.
- 馬場超・田辺猛・玉井富士雄・元田義春 1985. 水稻の耐冷性に関する生理生態的研究. 第 2 報 植物ホルモンと耐冷性との関係. 日作紀 (別 1): 262—263.
- 馬場超・田辺猛・玉井富士雄 1988. 水稻品種の耐冷性に関する生理生態的研究. 第 9 報 植物ホルモン剤の葉面散布が水稻の生育及び耐冷性に及ぼす影響. 日作紀 (別 1): 163—164.
- Beck, E.H. 1996. Regulation of shoot/root ratio by cytokinins from roots in *Urtica dioica*: Opinion. Plant and Soil 185: 3—12.
- Hayashi, T., K. Kashiwabara, T. Yamaguchi and S. Koike 2000. Effects of high nitrogen supply on the susceptibility to coolness at the young microspore stage in rice. Plant Prod. Sci. 3: 323—327.
- Inada S., M. Tominaga and T. Shimmen 2000. Regulation of root growth by gibberellin in *Lemna minor*. Plant Cell Physiol. 41: 657—665.
- 刈屋国男 1994. イネ花粉と耐冷性に関する諸問題. 農及園 69: 1099—1105.
- Kobayashi, M., A. Sakurai, H. Saka and N. Takahashi 1989. Quantitative analysis of endogenous gibberellins in normal and dwarf cultivars of rice. Plant Cell Physiol. 30: 963—969.
- Kobayashi, M., H. Kamiya, A. Sakurai, H. Saka and N. Takahashi 1990. Metabolism of gibberellins in cell-free extracts of anthers from normal and dwarf rice. Plant Cell Physiol. 31: 289—293.
- 小林正智 1997. ジベレリン, オーキシシン等内生成調節物質による植物の生活環制御機構の研究. 植物の化学調節 32: 27—34.
- Kuiper, D. 1988. Growth responses of *Plantago major* L. ssp. *Pleiosperma* (pilger) to changes in mineral supply. Plant Physiol. 87: 555—557.
- 宮澤武重・中山礎・松澤政文 1997. プロヘキサジオン・カルシウム塩の作用機構並びに実用化に関する研究. 植物の化学調節 32: 17—26.
- 森脇勉 2000. イネの健康を何でとらえるか —いわゆる耐冷性との関連において—. 農及園 75: 67—76.
- Murakami, Y. 1983. Endogenous gibberellins in the panicle of rice plants determined by the rice seeding bioassay. JARQ 17: 149—153.
- 中嶋泰則・井上正勝・禿泰雄 1994. 水稻の穂ばらみ期耐冷性に及ぼすアブジシン酸 (ABA) の効果. 日作紀 63 (別 1): 102—103.
- 奈良吉主・中村貞二・西山岩男 1999. イネの葇長の穎花内および穂内変異について. 日作紀 68 (別 2): 282—283.
- Nishiyama, I. 1975. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XI Effects of some substances on sterility. Jpn. J. Crop. Sci. 48: 397—402.
- Nishiyama, I. 1982. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXIII. Anther length, pollen number and the difference in susceptibility to coolness among spikelets on the panicle. Jpn. J. Crop Sci. 51: 462—469.
- Nishiyama, I. 1983. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXVI. The number of ripened pollen grains and the difference in susceptibility to coolness among spikelets on the panicle. Jpn. J. Crop Sci. 52: 307—313.
- Nishiyama, I. 1996. Strategies for the research to overcome cool weather damage in rice plants. In Ishii, R. and T. Horie ed., Crop Research in Asia: Achievements and Perspective. Proc. 2nd Asian Crop Sci. Confer. Kyoritsu Printing's, Tokyo. 246—251.
- 西山岩男 1999. 環境ストレスに対する生き残り戦略としての花粉数. 生物の生殖と遺伝的多様性. 東北大学遺伝生態研究センター. 121—131.
- 岡部和広・小野里浩二・角田公正 1994. 穂ばらみ期におけるジベレリン生合成阻害剤処理が水稻の稔実に及ぼす影響. 日作紀 63 (別



- 2) : 169—170.
- Osada, A., H. Suge, S. Shibukawa and I. Noguchi 1973. Change of endogenous gibberellins in rice plants as affected by growth stage and different growth conditions. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* 42 : 41—45.
- 小山田善三 1995. 東北地方における 1993 年の水稲冷害. *日作紀* 64 : 166—171.
- Sakakibara, H., M. Suzuki, K. Takei, A. Deji, M. Taniguchi and T. Sugiyama 1998. A response-regulator homologue possibly involved in nitrogen signal transduction mediated by cytokinin in maize. *Plant J.* 14 : 337—344.
- 榊原均 1999. 植物の器官間コミュニケーション, サイトカイニンを紹介した窒素シグナルの器官間情報伝達. *科学と生物* 37 : 218—219.
- Samuelson, M.E. and C.M. Larsson 1993. Nitrate regulation of zeatin riboside levels in barley root: Effects of inhibitors of N assimilation and comparison with ammonium. *Plant Sci.* 93 : 77—84.
- 佐々木一男・和田定 1975. イネの冷害不稔発生に及ぼす窒素, 磷酸, および加里の影響. *日作紀* 44 : 250—254.
- 佐々木武彦 1995. 水稲耐冷性育種技術の開発と良食味・耐冷性品種「ひとめばれ」の育成. *農業技術* 50 : 54—57.
- 佐竹徹夫 1972. イネポット栽培の改良法—生育時期の揃った穂を得るために—. *日作紀* 41 : 361—362.
- Satake, T., S.Y. Lee, S. Koike and K. Kariya 1987. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXVII. Effect of water temperature and nitrogen application before the critical stage on the sterility induced by cooling at the critical stage. *Jpn. J. Crop Sci.* 56 : 404—410.
- Satake, T. 1989. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXIX. The mechanism of enhancement in cool tolerance by raising water temperature before the critical stage. *Jpn. J. Crop Sci.* 58 : 240—245.
- 佐竹徹夫 1990. 水稲の障害型冷害軽減に対するイナベンフィド施与の効果. *農及園* 65 : 747—750.
- 清水正治・久野勝治 1966. 低温による水稲小穂の形態形成的異常について. *日作紀* 35 : 91—99.
- Suzuki, Y., S. Kuroguchi, N. Murofushi, Y. Ota and N. Takahashi 1981. Seasonal changes of GA<sub>1</sub>, GA<sub>19</sub> and abscisic acid in three rice cultivars. *Plant Cell Physiol.* 22 : 1085—1093.
- 高橋信孝 1979. イネ科植物における植物生長調整物質の生理的役割に関する研究. 昭和 54 年度農水産業特別試験報告書. 20.
- 谷本英一 1999. ジベレリンによる根の伸長制御に関する生理学・生化学・生物物理学的研究. *植物の化学調節* 34 : 10—20.
- 立田久善 1999. 水稲の耐冷性関連形質としての葯長, 葯幅, および充実花粉数に及ぼす施肥窒素の影響. *日作紀* 68 : 187—193.
- Werf, A. and W.O., Nagel 1996. Carbon allocation to shoots and roots in relation to nitrogen supply is mediated by cytokinins and sucrose: Opinion. *Plant and soil.* 185 : 21—32.
- Yamamoto, T. and M. Nishimura 1986. Relation between the tolerance to the sterility type of cool injury and the amount of bleeding water in rice plants. *Jpn. J. Breed.* 36 : 147—154.
- Yoshida, R. and T. Oritani 1974. Studies on nitrogen metabolism in crop plants XIII. Effects of nitrogen top-dressing on cytokinin content in the root exudate of rice plant. *Jpn. J. Crop Sci.* 43 : 47—51.
- 吉岡藤治・菅洋 1996. イネ (*Oryza sativa* L.) の冷温処理による種子稔性の低下と穂における内生ジベレリンとの関係. *育種* 46 : 173—178.
- 張祖建・中村貞二・千葉雅大・西山岩男 2000. イネの穂ばらみ期不受精耐冷性と相対的根量の相関関係. *日作紀* 69 : 175—181.
- 張祖建・中村貞二・西山岩男 2001. イネの穂ばらみ期耐冷性に及ぼす相対的根量および根の生理的活性の変化の影響. *作紀* 70 : 84—91.

**Effects of Gibberellin and Cytokinin on the Resistance to Cool Weather at the Young Microspore Stage in Rice Plants:** Zujian ZHANG\*, Teiji NAKAMURA, Makie KOKUBUN and Iwao NISHIYAMA (*Grad. School of Agr. Sci., Tohoku Univ., Sendai 981-8555, Japan*)

**Abstract:** The effects of gibberellin, cytokinin and an inhibitor of gibberellin biosynthesis on spikelet fertility and the number of pollen grains were examined in rice plants which were cooled at the young microspore stage. Spikelet fertility in the cooled plants was decreased by the application of GA<sub>3</sub> or trans-zeatin during the period from the primary rachis branch differentiation stage to the young microspore stage, and increased by the application of prohexadione-calcium, an inhibitor of gibberellin biosynthesis. The number of pollen grains per anther in both the cooled and control plants was reduced by the application of GA<sub>3</sub> or trans-zeatin, and increased by prohexadione-calcium application. Spikelet fertility in the cooled plants was positively correlated with the number of pollen grains not only in the cooled plants, but also in the control plants. It was concluded that both gibberellin and cytokinin weakened the cool-weather resistance through inhibition of pollen formation. Since nitrogen is known to weaken the cool-weather resistance, reduce the number of pollen grain, and increase the endogenous levels of gibberellin and cytokinin in rice plants, it appears that nitrogen weakens the cool-weather resistance by increasing the endogenous levels of gibberellin and cytokinin.

**Key words:** Cool-weather resistance, Cytokinin, Fertility, Gibberellin, Nitrogen, Pollen, Rice, Young microspore stage.