

## 第4章 *aberrant regionalization of embryo 3* 変異体を用いた胚

### の領域化の解析

#### 緒言

前二章で解析した *SHL* 遺伝子は、*SAM* の分化領域の確保に関わっていると考えられた。しかし、*shl* 変異体における *SAM* 分化予定領域の位置は正常であり、胚の領域化および軸の分化は、ほぼ正常に行われていた。したがって、次に解明すべき課題は、*SAM* の分化位置を決定する胚の領域化および軸分化の制御機構であると考えられる。

本章で述べる、胚の“領域”や“軸”とは、序論で述べたように、前後および背腹といった方向性を持った動物の胚で器官分化が起こるしくみを説明あるいは表現するために考え出された概念である。ショウジョウバエの胚発生研究では、遺伝学的研究によって領域を形成するメカニズム（領域はそれ以前に分化した軸に沿って形成される）が明らかにされた。ショウジョウバエの胚は、前後軸に沿った、前部および後部の末端構造を形成する領域、頭部領域、胸部領域および腹部領域の 5 つからなる。変異体の作出によって、それぞれの領域の形成（ただし、頭部と胸部は一体となって形成される）に必要な遺伝子群（*BICOID*、*NANOS* および *TORSO* など）が存在することが明らかになった（Nusslein-Volhard et al., 1980; 1987）。これらの遺伝子は、ショウジョウバエの胚の軸分化に関わる。つまり、軸分化に関わる遺伝子の発現が細胞に位置情報を与え、その結果として領域が形成されるのである。その後、分子生物学的研究によって軸に沿った領域の分化が、物質の勾配によるものであることが分子レベルで確認された（総説参照: St Johnston and Nusslein-Volhard, 1992）。

序論で述べたように、植物の胚発生研究は、ショウジョウバエをはじめとする動物の胚発生研究に大幅に遅れをとっており、植物の胚における“軸”、“位置情報”および“領域”について、これまでに十分な考察がなされてこなかった。Jurgens et al. (1991) は、シロイヌナズナの胚は、先端部—基部軸に沿って、先端部、中央部、基部から構成されていると考え、それらの欠失と考えられる変異体を解析した。しかし、その原因遺伝子として単離されたものの多くが小胞輸送やオーキ

シンの輸送および感受性に関係するものであり、それ自身の産物の勾配などが各領域形成のための位置情報として機能しているわけではなかった (Shevell et al., 1994; Busch et al., 1996; Lukowitz et al., 1996; Hardtke and Berleth, 1998; Jang et al., 2000; Schrick et al., 2000; Assaad et al., 1996; 2001)。しかし、シロイヌナズナを用いた胚発生研究で、オーキシンが、植物の胚の器官分化に非常に重要であることは明らかになった。完成胚が球状などの表現型を示す *GN* 遺伝子は、小胞輸送に関係するタンパク質をコードするが、オーキシンの *efflux carrier* である *PINFORMED 1 (PIN1)* の局在に必要であることもわかってきており (Steinmann et al., 1999)、オーキシンの輸送には小胞輸送の正常な進行が必要であるという、オーキシンと小胞輸送の関係も明らかになってきている (Steinmann et al., 1999; Geldner et al., 2001)。また、シロイヌナズナの胚の基部の欠失変異体とされる *monopteros*、*bodenlos* および *auxin resistant 6* 変異体は、いずれもオーキシン感受過程に異常が見られた (Hardtke and Berleth, 1998; Hamann et al., 1999; Hobbie et al., 2000)。さらに、コムギの胚をオーキシン輸送阻害剤で処理すると、器官の数や位置に異常が起こったため、胚の器官数、分化位置の決定に、オーキシンが重要な役割を果たしていると考えられている (Fischer et al., 1996; 1997; Fischer-Iglesias et al., 2000)。

シロイヌナズナを用いた解析で、変異体の原因遺伝子の産物が直接胚の領域化に関与している例がなかったことが、シロイヌナズナでの変異体単離が不十分であることを示しているのか、動物と植物 (シロイヌナズナ) の胚発生でのパターン形成のしくみの違いによるのかはわからない。それを明らかにするひとつの方法として、イネでこれまでに単離されている、胚器官が増加する変異体の解析が挙げられると考えられる。胚器官が増加する変異体は、軸分化の様式および領域化に関わる遺伝子の変異による可能性があり、シロイヌナズナでは得られていないタイプの変異体である。これらの変異体の同定や解析により、植物の胚において *SAM* が分化する領域について新たな知見が得られるに違いない。

これまでに、イネの胚で幼根が増加する変異体 *multiple radicle 1*、イネの *SAM* が胚の頂部に分化し幼根の増加も観察される変異体 *apical displacement 1*、イネの胚器官 (*SAM* および幼根) の増加が見られる *aberrant regionalization of embryo 1 (are1)* および *are2* 変異体の解析が進められている (Kinae et al., 1998; 1999; 伊藤, 私信)。しかし、*are* 変異体に関しては、いまだ軸の分化や領域化を考えに入れた考察が確立されていない。

そこで、イネの SAM の分化領域を決定するために必要と考えられる、胚における軸の分化や領域化の機構を明らかにする目的で、完成胚で *are1* および *are2* 変異体と同様に SAM や幼根が増加する *are3* 変異体の解析を行った。

## 材料および方法

イネ品種台中 65 号の受精卵に化学突然変異源 MNU (N-methyl-N-nitrosourea) を処理した M2 集団から選抜された胚発生変異体のうち、1 系統は、胚の SAM および幼根が増加するもので、それまでに同定されていた *are1* および *are2* と形態が類似していたことから、*are3* と命名し、解析をおこなった。この変異は、後代の分離比から、単因子劣性によるものと確認された。なお、*are3* 変異体の劣性ホモ個体は稔性を持つため、実験には劣性ホモの植物体を用いた。

パラフィン切片および *in situ* ハイブリダイゼーションは、第 1 章と同様におこなった。発芽は、MS 培地 (Murashige and Skoog, 1962) 上でおこない、28℃ 一定のインキュベーターないで約 1 週間生長させた。その後、土の入ったポットに移植し、圃場条件下で生育させた。

## 結果

### 1、完成胚の形態

*are3* 変異体の約 50% の完成胚において、SAM および幼根、あるいはいずれかが 2 つ以上に増加していた。SAM の増加は約 20% の胚で観察された。増加にはいくつかのタイプがあった。すなわち、ひとつの鞘葉のなかに 2 つの SAM を持つもの (図 4-1 A)、別々の鞘葉を持つ SAM が隣り合って存在するもの (図 4-1 B)、および別々の鞘葉を持つ SAM が離れて存在するもの (図 4-1 C、D) である。それぞれの出現頻度は、SAM が 2 つに増加したものでは、約 20%、約 50% および約 30% であった。一方、幼根の増加は、約 40% の胚で観察された。複数の幼根は近い位置に分化し、根端は胚柄の方向を向いていた。また、ひとつの根冠を共有し、2 本の根が融合している場合もあった。SAM が増加している場合はほとんど幼根の増加を伴っており、幼根の増加と SAM の増加の間には有意な相関

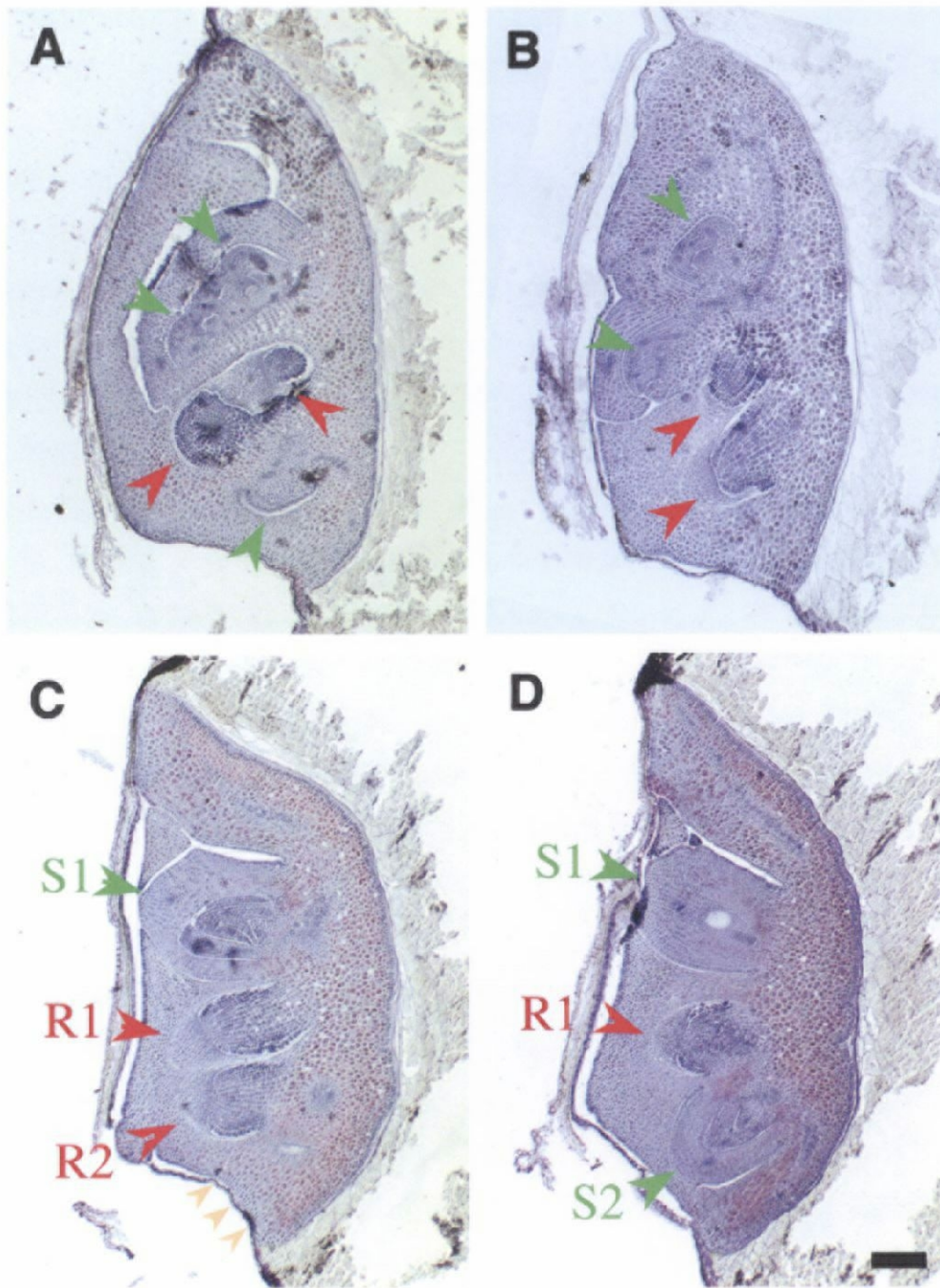


図4-1 *are3* 変異体の完成胚（器官数の増加が見られるもの）。

A：ひとつの鞘葉のなかに2つのSAMが存在するもの。B：別々の鞘葉を持つSAMが隣り合って存在するもの。C、D：別々の鞘葉を持つSAMが離れて存在するもの。C、Dは同じ胚である。緑の矢頭はシュートを、赤の矢頭は幼根、オレンジの矢頭は、胚の基部表皮に異所的に分化した柵状の細胞を示している。Bar=200  $\mu$ m。

があった（相関係数 0.50）（表 4-1）。ただし、SAM が増加しない場合も、約 20% の胚では幼根の増加が見られ、幼根は SAM よりも増加しやすい傾向にあることが明らかになった。また、*are3* 変異体の完成胚では、胚の基部に異所的に胚盤が増加しているものも見られた。胚盤の増加は、SAM および幼根の増加と有意な相関関係を示した（それぞれの相関係数、0.33、0.59）（表 4-2、表 4-3）。ここで、異所的な胚盤形成は、胚盤の基部にも維管束が通っていること、胚の基部表皮が正常な胚盤上皮と同様な柵状になっている（図 4-1 C）ことを基準として判断した。SAM および幼根の増加が見られない胚のうちで胚盤の増加が見られたのは、約 10% であったが、SAM あるいは幼根が増加している場合には、約 35% の胚で胚盤の増加が起こっていた。

器官の増加が見られない胚のうち、約 60% の胚は野生型と変わらない形態を示したが、残りの 40% の胚では、シュートの伸長方向が、胚の先端部方向（図 4-2 A）、基部方向（図 4-2 B）、側部方向（図 4-2 C、D）に少しずれたものが同程度の頻度で観察された。

以上、*are3* 変異体の完成胚には、SAM および幼根、あるいはいずれかが増加するもの（約 50%）と増加はしないがシュートの分化位置や伸長方向が異常であるもの（約 20%）および野生型と区別の付かないもの（約 30%）の 3 つのタイプが存在した。

## 2、胚発生過程

*are3* 変異体の胚発生は、野生型に比べ、極端に遅れていた。野生型では受粉後 5 日目には第 1 葉が分化する。しかし、*are3* 変異体では、受粉後 5 日目になっても胚長 100  $\mu$ m 程度の球状胚のステージが継続していた（図 4-3）。しかし、背腹性を示唆する細胞の液胞化の程度は胚の背腹で違いが見られ、*are3* 変異体でも受粉後 5 日目には背腹性は獲得していると思われた（図 4-3 B）。

受粉後 6 日目になると、発生が早いものと遅いものの差が顕著になった。受粉後 6 日目には、発生の早いものでは、胚盤、鞘葉および幼根の分化が形態的に確認できるようになった（図 4-4 A-C）。鞘葉の突起が見られ始めた胚は野生型の同様のステージ（受粉後 4 日目）のものより縦長で、鞘葉の突起は相対的に胚の先端部に見られた（図 4-4 A）。この、比較的発生が進んでいる胚の中には、SAM の分化位置が通常の腹側と異なり、側部に存在するものもあった（図 4-4 B、C）。これらの比較的発生が進んでいる胚は、その頻度から考えて、完成胚で、野生型

表4-1 *are3*変異体の胚におけるSAM数と幼根数の関係

幼根数	SAM数			
	1	2	3	4
1	63	2	1	0
2	22	8	4	1
3	3	6	0	2
4	0	1	0	0

表4-2 *are3*変異体の胚におけるSAM数と胚盤数の関係

胚盤数	SAM数			
	1	2	3	4
1	65	7	1	1
2	19	7	4	3

表4-3 *are3*変異体の胚における幼根数と胚盤数の関係

胚盤数	幼根数		
	1	2	3
1	60	12	2
2	5	20	6

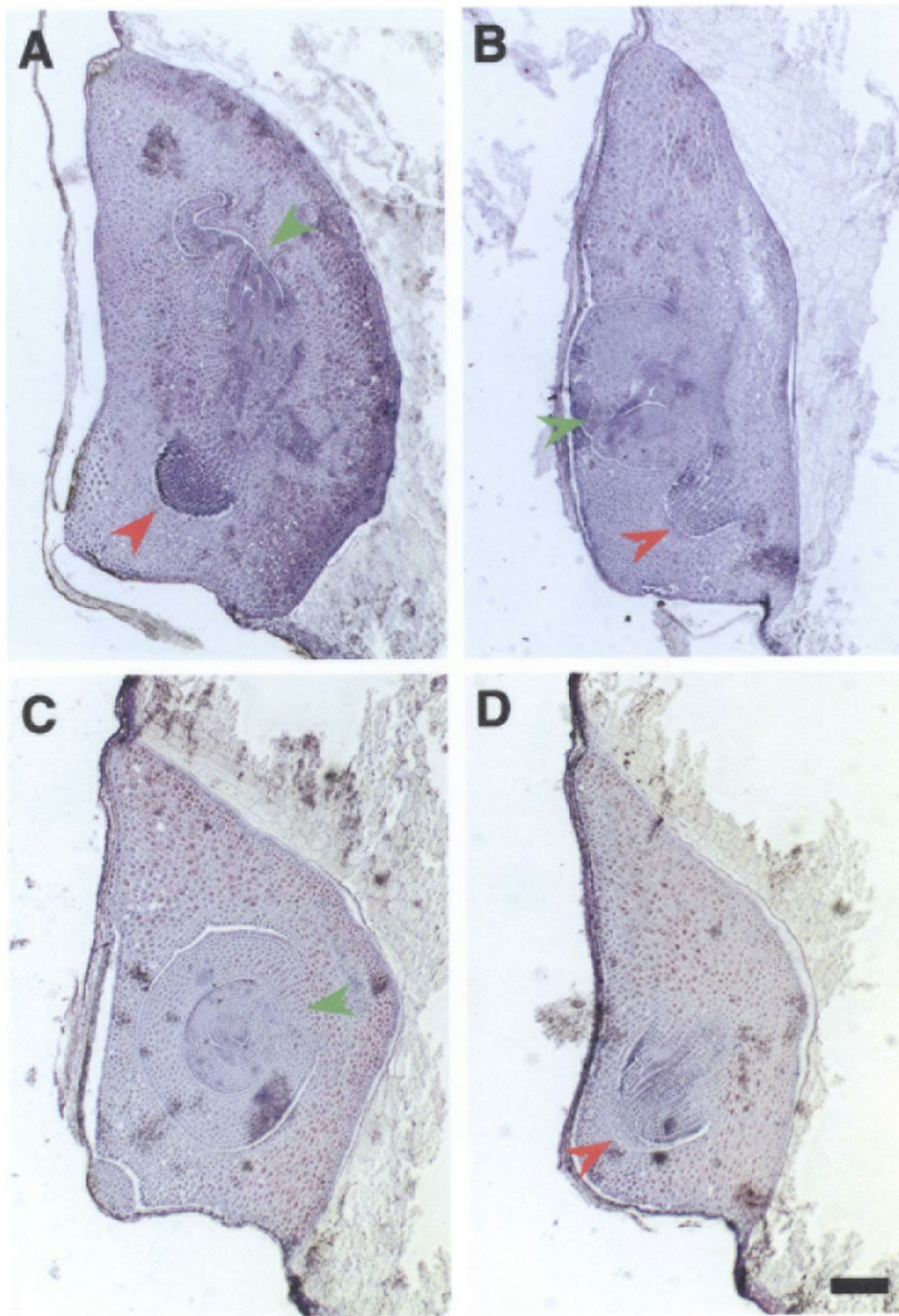


図4.2 *are3* 変異体の完成胚（器官数の増加が見られないもの）。

A：シュートの伸長方向が胚の先端部方向にずれているもの。B：シュートの伸長方向が胚の基部方向にずれているもの。C、D：シュートの伸長方向が胚の側部方向にずれているもの。C、D は同じ胚である。緑の矢頭はシュートを、赤の矢頭は幼根を示している。Bar=200 $\mu$ m。



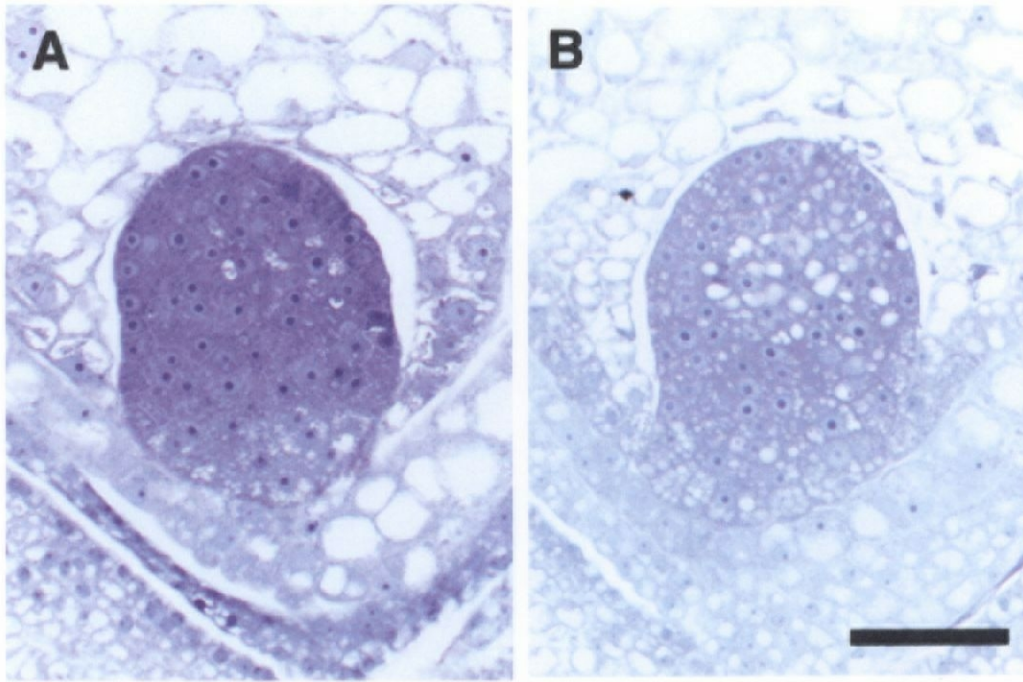


図43 受粉後3日目の野生型の胚および受粉後5日目の *are3* 変異体の胚。  
A: 野生型。B: *are3* 変異体。Bar=50  $\mu$ m。

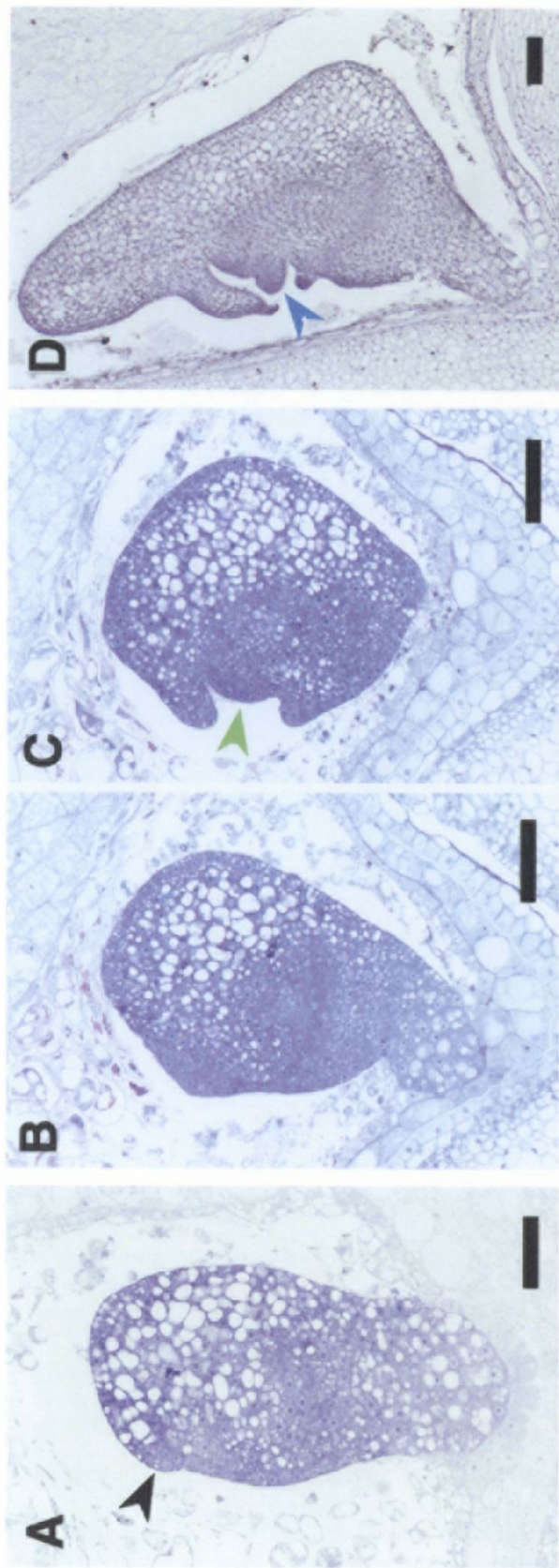


図4-4 *are3* 変異体の胚発生過程 (比較的発生が早いもの)。  
 A-C: 受粉後6日目の胚。A: 鞘葉 (黒矢頭) が胚の比較的頂部に分化している。B、Cは同じ胚で、  
 SAM (緑の矢頭) が胚の側部に分化している。D: 受粉後8日目の胚。第1葉 (青矢頭) が分化し始めて  
 いる。Bars=50 $\mu$ m。

と変わらないもの、シュートの伸長方向が側部に傾いているものにあたると思われた。これらの胚は、受粉後 8 日目には本葉の分化を開始した (図 4-4 D)。

一方、発生が遅い胚では、受粉後 7 日目以降に、基部の背腹軸方向への肥大がみられた (図 4-5)。ただし、これらの胚の発生の遅れの幅は広がった。受粉後 10 日目以降には、SAM および幼根が複数できていたり (図 4-6 A、B)、SAM の分化位置が基部 (図 4-6 C) および先端部 (図 4-6 D) にずれたりしていることを確認することができるようになった。ここまでの解析で、完成胚で器官が複数形成された個体や SAM が基部および先端部にずれていた個体の発生は遅いということがわかった。また、完成胚で見られたシュートの伸長方向の異常は、SAM の分化位置の異常によるものであると推測できた。

### 3、胚発生中の *OSHI* および *OsSCR* の発現

胚発生過程の観察をおこなったところ、形態的分化以前の胚発生過程でなんらかの異常が起こっていることが示唆された。そこで、分子マーカーとして *OSHI* および *OsSCR* を用いて *in situ* ハイブリダイゼーションをおこなった。

#### 3-1 *OSHI* の発現

*OSHI* は、野生型のイネの胚では、受粉後 3 日目の球状胚の段階で、将来シュートが分化すると思われる領域 (胚の腹側) で発現し始め、受粉後 4 日目には、SAM からエピブラストおよび幼根にかけた領域に発現が広がるが、受粉後 7 日目以降、その発現領域は徐々に狭くなり、受粉後 20 日目には SAM 付近に限定される。

*are3* 変異体では、受粉後 4 日目の、胚長 80  $\mu$ m から 90  $\mu$ m の球状胚で *OSHI* の発現が見られた (図 4-7 A)。胚長 80  $\mu$ m から 150  $\mu$ m の球状胚の約半数で、発現が胚の腹側から側面におよび、野生型よりも広がっていた (図 4-7 B、C)。残り半数の胚は、野生型と同程度の広さの領域での発現が見られた。受粉後 6 日目以降胚発生に遅れが見られる胚では、この傾向はさらに顕著に検出することができ、胚の背側にまで発現が拡大しているものもあった (図 4-8 A、B、D、E)。この発現領域は、複数のシュートや幼根が分化してきたことがわかるステージになると、その位置と対応していた。また、完成胚で SAM の位置に異常が見られたものにあたる発現パターンを示した胚もあった (図 4-8 A-C)。

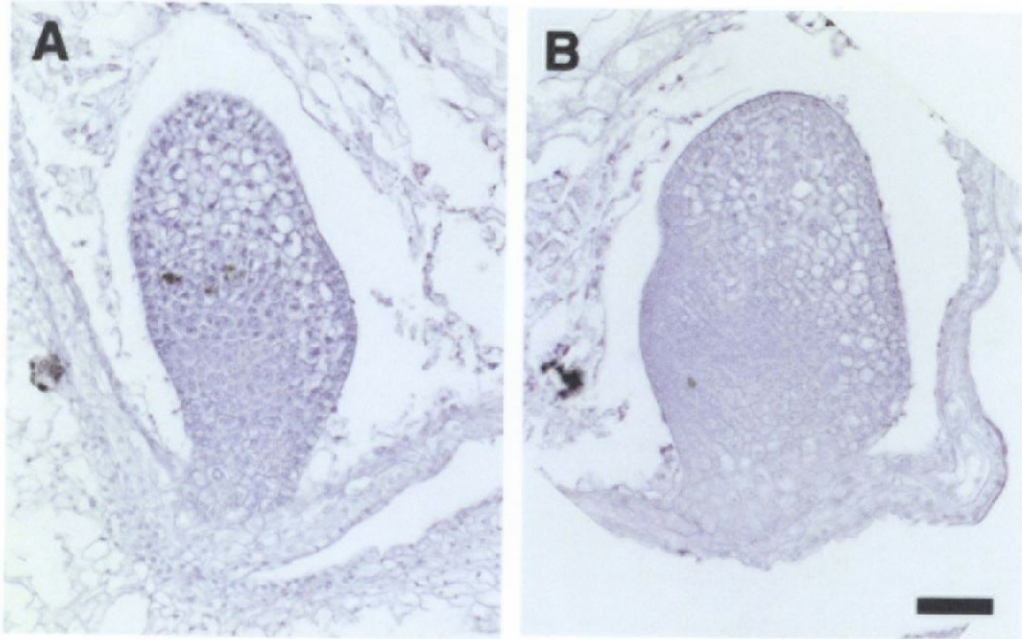


図45 受粉後7日目の *are3* 変異体の胚 (比較的発生の遅いもの)。基部の生長が見られる。Bar=50  $\mu$ m。

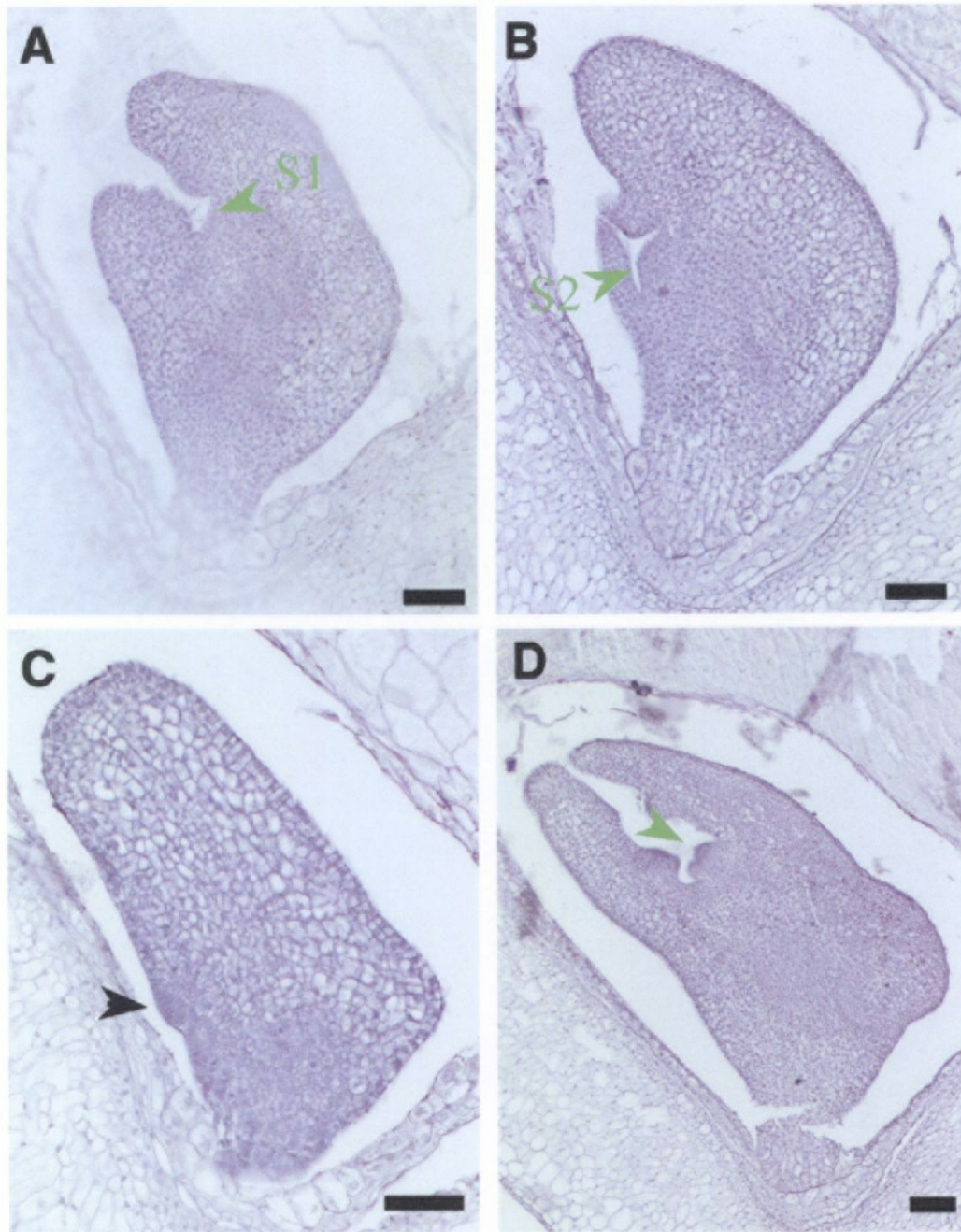


図4-6 受粉後10日目および11日目の *are3* 変異体の胚（比較的発生の遅いもの）。  
 A、B：受粉後10日目の胚。A、Bは同じ胚で、SAM（緑の矢頭）がふたつ分化している。  
 C、D：受粉後11日目の胚。C：SAMが胚の比較的基部に分化しているもの。鞘葉（黒矢頭）が胚の比較的基部に観察される。D：SAM（緑の矢頭）が胚の先端側に分化している。Bars=50  $\mu$ m。

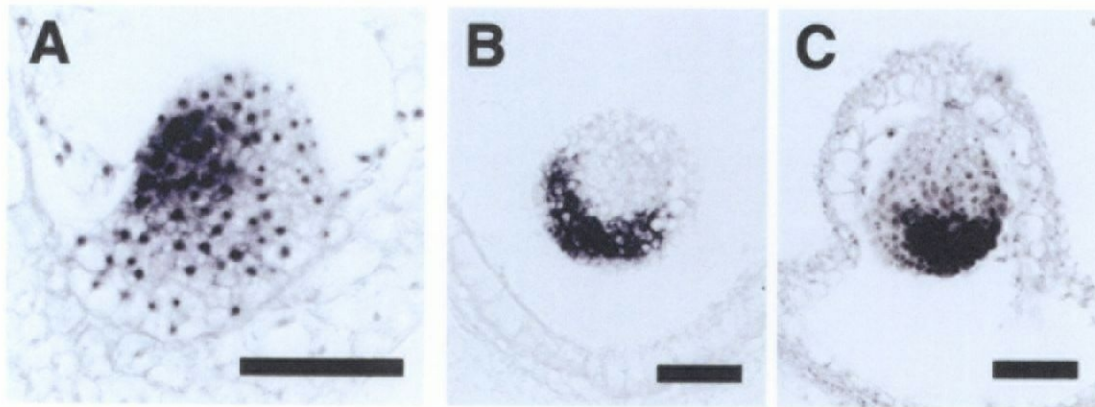


図4-7 野生型および *are3* 変異体における *OSHI* の発現パターン。  
A: 受粉後4日目の *are3* 変異体の胚。B: 受粉後6日目の *are3* 変異体の胚 (横断切片)。  
C: 受粉後6日目の野生型の胚 (横断切片)。Bars=50  $\mu$ m。

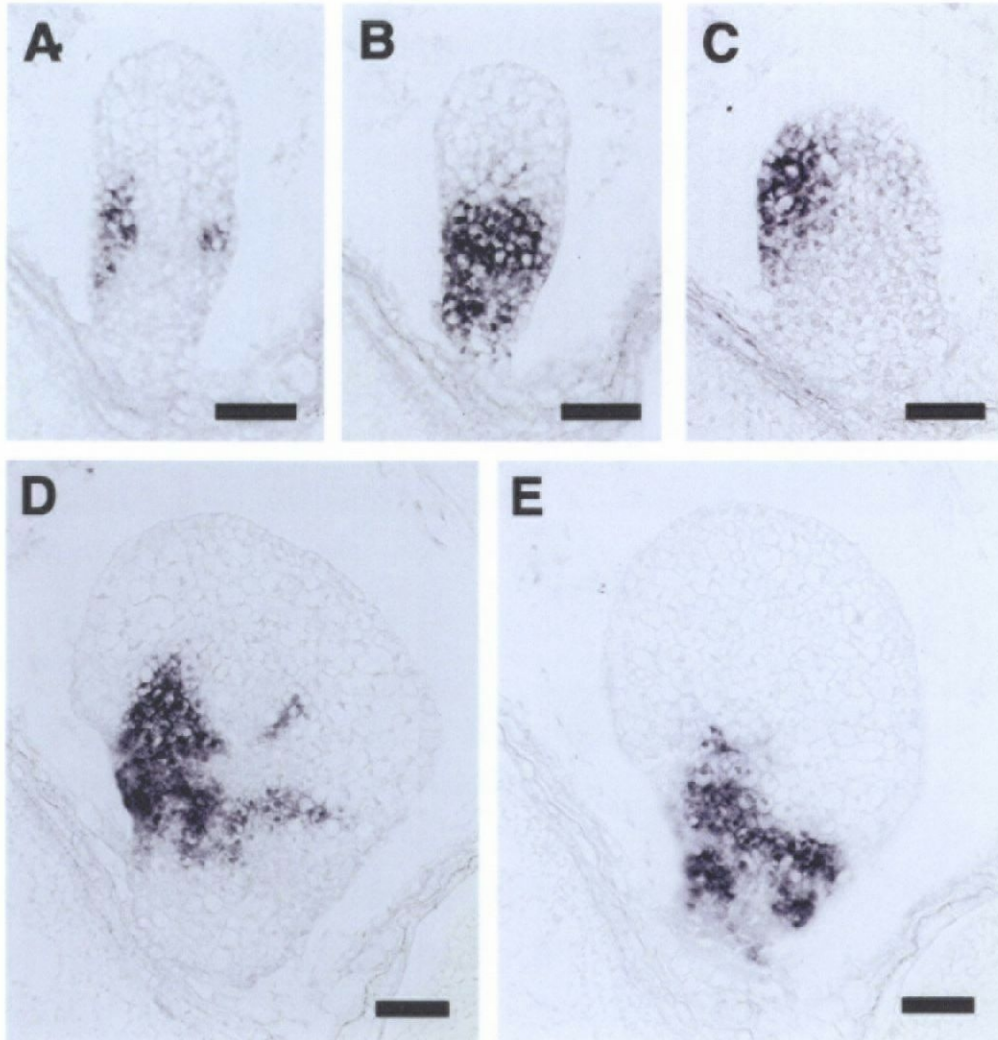


図48 *are3* における *OSHI* の発現パターン。

A、B：受粉後7日目の *are3* 変異体の胚。A、B は同じ胚であり、SAM が胚の基部に分化していると思われる。C-E：受粉後8日目の *are3* 変異体の胚。C：SAM が胚の先端部に分化していると思われる。D、E は同じ胚である。Bars=50  $\mu$ m。

### 3-2 *OsSCR* の発現

*OsSCR* は、野生型のイネの胚では、受粉後 3 日目に胚の比較的外側の 1 細胞層でリング状（球面状）に発現し始める（図 4-9 A）。

*are3* 変異体では、受粉後 5 日目の胚で発現が見られはじめた（図 4-9 B）。受粉後 4 日目から受粉後 7 日目、胚長約 200  $\mu\text{m}$  までの縦長の胚では、カップ状の *OsSCR* の発現が一カ所でみられることが多く（図 4-9 D）、カップは野生型よりも浅いカーブを描いていた。しかし、胚長約 200  $\mu\text{m}$  までの胚の段階でシグナルが複数見られるものもあった（図 4-9 C）。受粉後 7 日目以降、胚発生が遅れている胚では頻繁に、ひとつのシグナル以外に、より基部に *OsSCR* の発現が見られたり（図 4-10 A）、ふたつのアーチ状のシグナルが見られたり（図 4-10 B）した。また、胚の基部の生長後には、複数のアーチ状のシグナルが連続して検出される例もあった（図 4-10 C-E）。これらの *OsSCR* の発現パターンは、*are3* 変異体において、胚発生のごく初期から幼根の分化領域の確保の状況に異常が見られることを示していると考えられる。

### 4、栄養生長期の形態

栄養生長期に入ってから *are3* 変異体の形態には、大きな異常は見られなかったが、栄養生長初期の植物体の形態には、ふたつの特徴があった。すなわち、第 2 葉から第 4 葉の葉身が短いことと、野生型では葉身が形成されない第 1 葉に葉身が形成される場合がある（約 5% の個体において）ことである。ただし、葉身の短縮については、第 3 葉葉身が約半分の長さに短縮することがほとんどの個体で起こる以外は、個体差があり、第 2 葉葉身は約 25% の個体で、第 4 葉の葉身は約 40% の個体で短縮していた。葉身の短縮と第 1 葉での葉身形成は、胚発生時に複数の SAM が形成された場合の方がひとつの SAM の場合よりも顕著に見られた。つまり、胚発生時の異常と栄養生長初期の異常の程度には比例関係があった。栄養生長後期および生殖生長期には、全く形態的異常は見られず、稔性も非常によかった。したがって、栄養生長初期にみられた異常は、胚発生中の異常の二次的な影響である可能性が高いと思われた。

### 5、*shl are3* および *sho are3* 二重変異体の解析

*ARE3* 遺伝子が、*SHL* 遺伝子および *SHO* 遺伝子とどのように関わっているのかわかるため、*shl1-1 are3*、*shl2-6 are3*、*shl4-1 are3*、*sho2 are3* および *sho3 are3* 二重



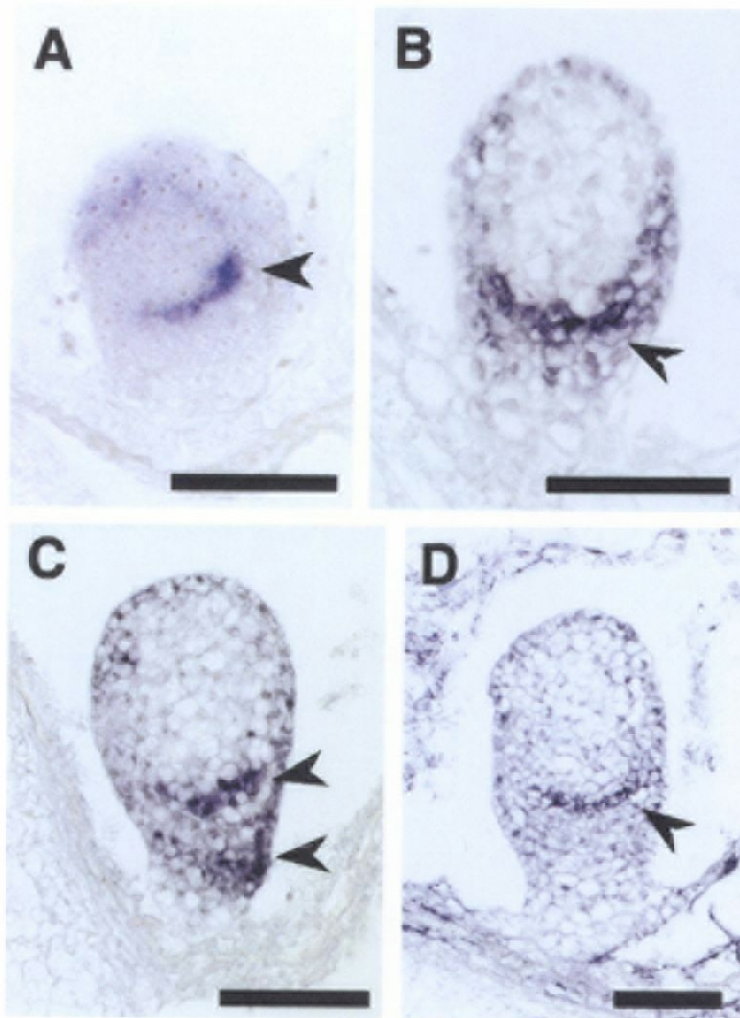


図49 野生型および*are3* 変異体における *OsSCR* の発現パターン。  
 A：受粉後3日目の野生型の胚。B：受粉後5日目の *are3* 変異体の胚。C：受粉後6日目の *are3* 変異体の胚。D：受粉後7日目の *are3* 変異体の胚。黒矢頭はシグナルを示している。Bars=50  $\mu$ m。

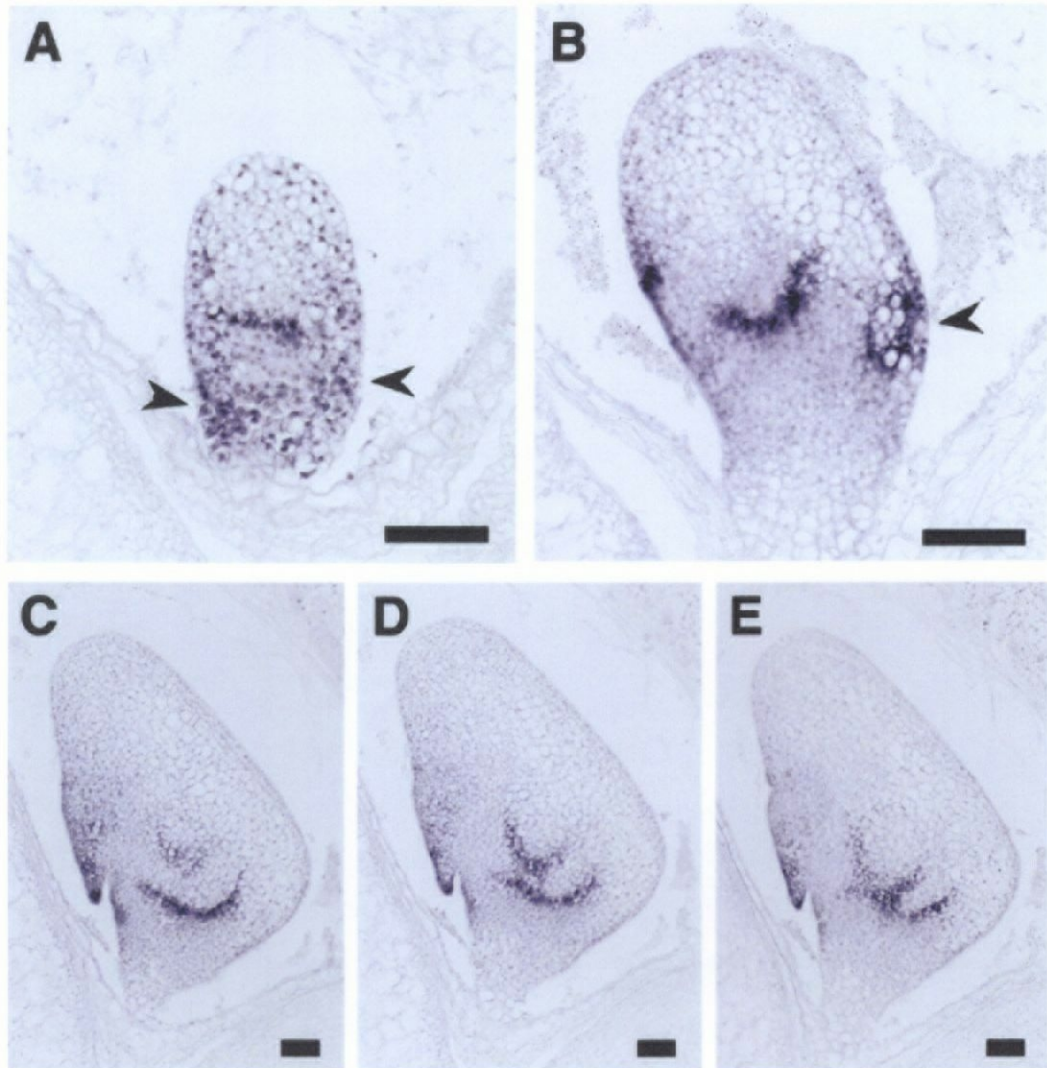


図4-10 *are3* 変異体における *OsSCR* の発現パターン。

A : 受粉後 7 日目の *are3* 変異体の胚。初めのシグナルより基部に *OsSCR* の発現が広がっている (黒矢頭)。B : 受粉後 9 日目の *are3* 変異体の胚。ふたつめの幼根に対応すると思われるシグナル (黒矢頭) が見られる。C-E : 受粉後 12 日目の *are3* 変異体の胚。C、D および E は同じ胚で、複数のアーチ状のシグナルが連続している。Bars=50  $\mu$ m。

変異体の解析をおこなった。

*shl2-6 are3* 二重変異体では、SAM が欠失する頻度が *shl2-6* 変異体よりも高く、幼根は、平均 2.3 本と、*are3* 変異体 (平均 1.5 本) よりも増加した (図 4-11)。幼根の増加様式は *are3* 変異体と同様で、おおむね胚柄の方向に根端を向け、隣接して分化していた。これらの結果は、二重変異体の表現型は相乗的であることを示している。したがって、*ARE3* 遺伝子が、シュートの分化領域の決定にも、*SHL2* 遺伝子とともに、なんらかの機能をし、それを通して、幼根の分化領域も適切な大きさに調節していることが示唆された。*shl1-1 are3* および *shl4-1 are3* 二重変異体では、SAM は欠失し、幼根の増加が頻繁に起こった。また、*sho are3* 二重変異体でも、SAM は欠失し、幼根が増加した (図 4-12)。これらの結果は、*shl2-6 are3* 二重変異体の場合と同様に解釈できる。したがって、*SHL* 遺伝子および *SHO* 遺伝子と *ARE3* 遺伝子は、SAM や幼根の分化領域の制御に共同して機能していると考えられる。

## 考察

### 1、*are3* 変異体における器官の増加様式

第 1 章で、幼根および胚盤は、SAM とは独立に分化し得ることを明らかにした。胚盤については、*are3* 変異体においても、SAM が存在しない場合にも胚盤は形成され、その結論は支持された。幼根についても同様であった。しかし、*are3* 変異体において器官が増加する場合について見ると、SAM の増加と幼根の増加には正の相関関係がみられた。さらに、胚盤の増加は SAM および幼根の増加とそれぞれ有意な相関を示した。このことは、これら 3 つの器官がセットとして増加する傾向にあることを示唆している。また、*are3* 変異体で、器官がどのように増加する場合でも、胚盤—SAM—幼根という位置関係は変わらなかった。したがって、幼根および胚盤の分化の有無は、SAM の分化の有無に依存しないが、幼根および胚盤と SAM の間には、それ以前に決まった位置関係が存在することが明らかになった。

### 2、*are3* 変異体の表現型の解釈

*are3* 変異体の形態を、本章緒論で述べた“軸”や“領域”といった概念を用い

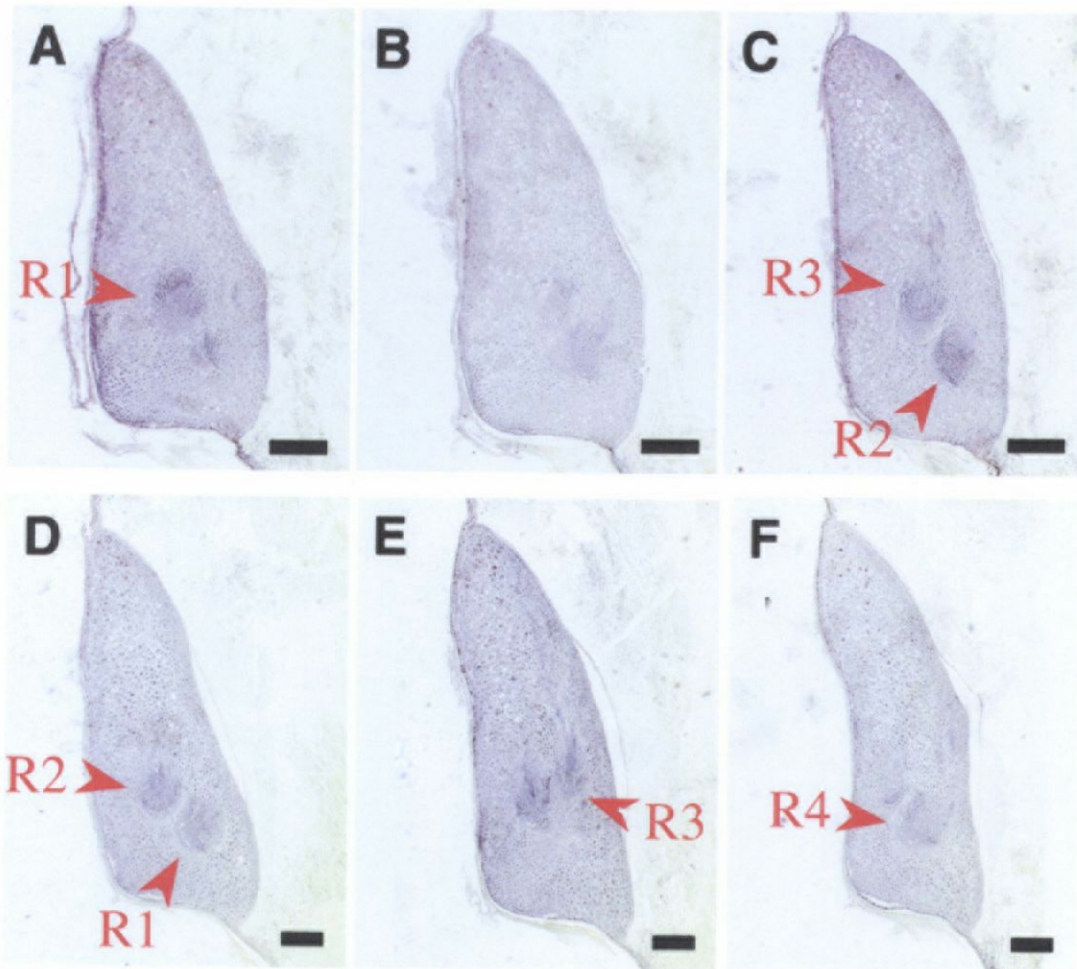


図4-11 *shl2-6 are3* 二重変異体の形態。  
 A-C および D-F は、それぞれ同じ胚。赤矢頭は幼根を示している。SAM の形成は見られない。Bars=200  $\mu$ m。

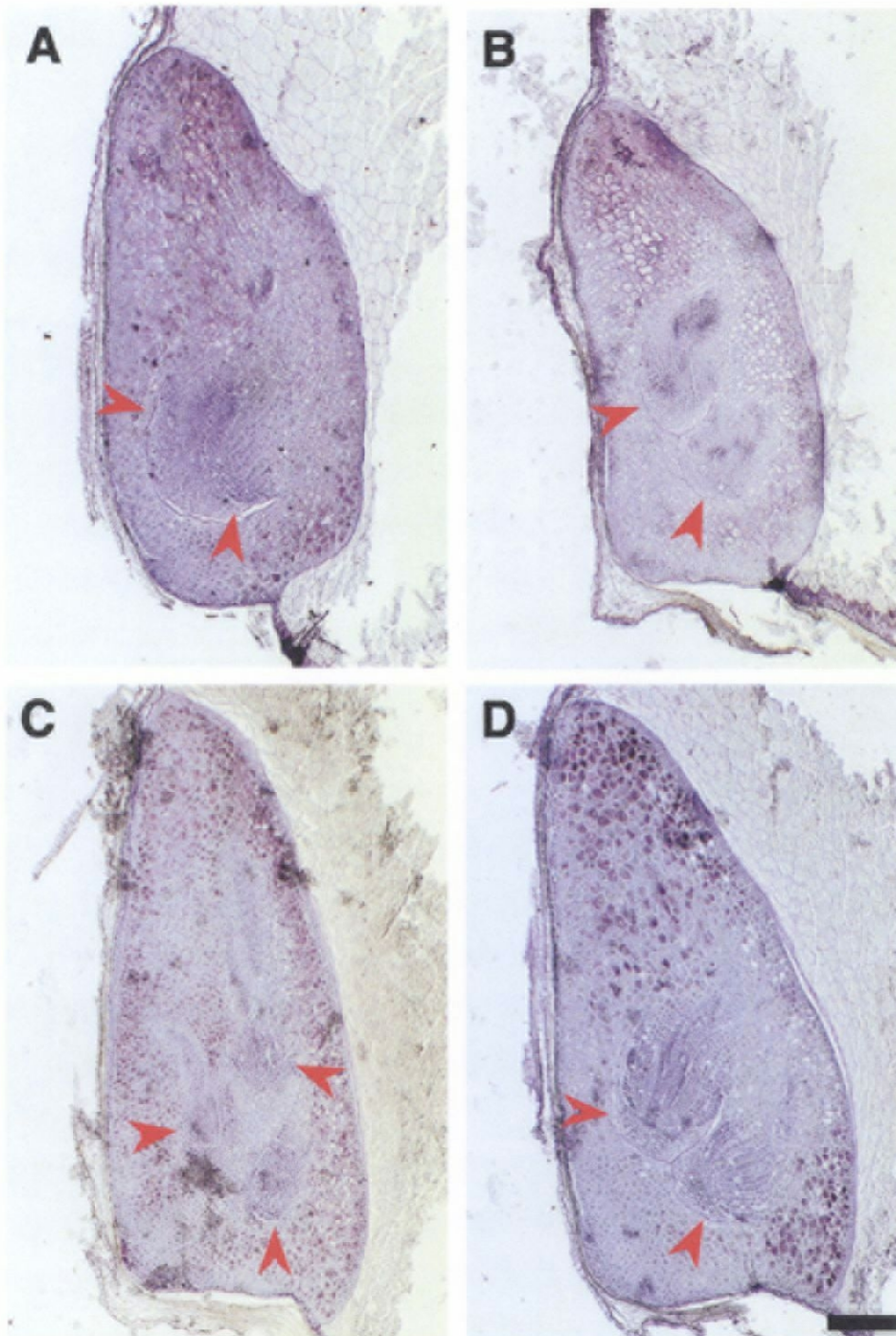


図4-12 *shl1-1 are3*、*shl4-1 are3*、*sho2 are3* および *sho3 are3* 二重変異体の形態。  
 A : *shl1-1 are3* 二重変異体。B : *shl4-1 are3* 二重変異体。C : *sho2 are3* 二重変異体。D : *sho3 are3* 二重変異体。赤矢頭は幼根を示している。SAMの形成は見られない。  
 Bar=200  $\mu$ m。

て解釈する。

イネの胚には、その形態から、先端部—基部および背腹という 2 本の軸を想定することができる。これらの軸は胚発生のごく初期に決定される。*are3* 変異体では、第 1 項でのべたように、胚盤—SAM—幼根が増加するときも、決まった位置関係をとる。これは、先端部—基部軸に沿ったパターン形成はほぼ正常におこなわれていることを示している。一方、背腹軸に沿った位置情報には乱れがあると思われる。最も考えやすい乱れとしては、SAM、胚盤および幼根の分化領域を含む腹側領域の広がりが増えられる。*are3* 変異体では、*OSHI* の発現パターンなどから考えて、その領域は、球状胚の側部あるいは背側にまで広がっている。図 4-13 は模式的に球状胚時のその様子を示してある。先ほどの腹側領域の拡大によって、SAM、胚盤および幼根のいずれもがその分化領域を拡大し、通常より数の多い器官を分化し生長していく。器官増加はみられなかったが、SAM の分化位置に異常の見られた個体については、背腹軸に沿った領域の拡大によって増加した部分の SAM の分化領域にひとつの SAM が形成されたのではないかと考えられる。

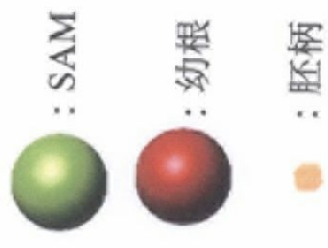
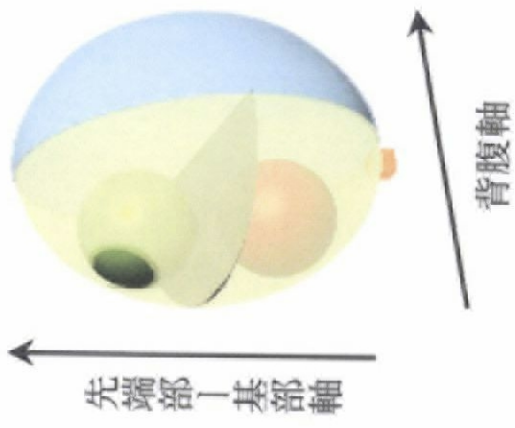
*are3* 変異体で、先端部—基部軸に沿ったパターンはほぼ正常に分化していると述べたが、*shl* 変異体との二重変異体で相乗的な表現型がみられ、また、SAM の増加が起こっていない場合にも幼根の増加は頻繁にみられたことは、先端部—基部軸に沿ったそれぞれの領域の大きさには多少の異常があることを示している。すなわち、SAM の分化領域は縮小し、幼根の分化領域は拡大しているのである。しかし、この異常は、背腹軸に沿った領域分化の異常に比べると程度が非常に小さいと思われた。

*are3* 変異体を領域化に異常をきたした変異体と考えると、SAM の分化位置が先端部および基部にずれたときや SAM や幼根の数が増加したときに、胚発生の速度が非常に遅かったことは興味深い。因果関係は明らかでないが、領域化の異常（軸に沿った領域のアイデンティティを与えるプログラム）と発生の早さ（細胞分裂頻度を調節するプロセスなど）に相関があるのである。

### 3、*ARE3* 遺伝子の機能

第二項のように *are3* を解釈すると、*ARE3* 遺伝子の機能は、イネの胚における軸、特に背腹軸に沿った領域分化を正常におこなわせる、具体的には、背側あるいは腹側の領域の広さを規定する、ということになる。

# 野生型



# are3変異体

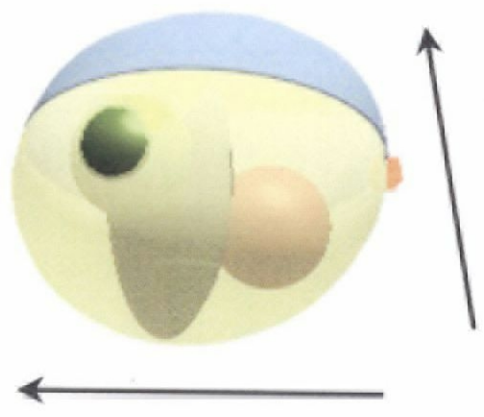
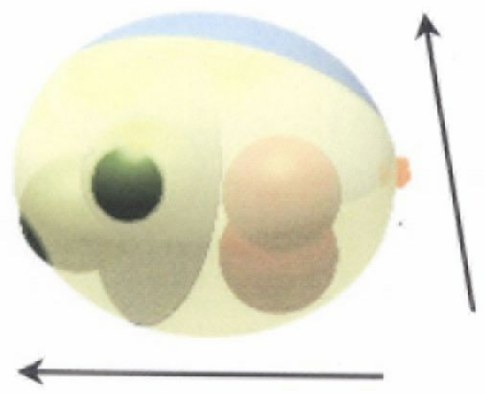


図4-13 野生型および*are3*変異体の球状胚時の領域化の模式図。  
 黄色の領域が腹側の領域、水色の領域が背側の領域を示している。SAMおよび幼根は腹側の領域内に分化する。  
 腹側の領域にある仕切りは、SAMの分化領域と幼根の境界を示している。*are3*変異体の左の模式図は、  
 SAMおよび幼根が増加する場合を、右の模式図は、SAMの分化位置の異常が見られる場合を示している。

ある領域の広さを規定する方法はいくつか考えられる。これまでにあきらかになっているものとして、ある領域に拮抗する領域のアイデンティティー遺伝子の発現によるものである。この例としては、シロイヌナズナの花の ABC モデルにおける A 遺伝子と C 遺伝子の関係がよく知られている (Bowman et al., 1991; Coen and Meyerowitz, 1991; Weigel and Meyerowitz, 1994)。もし、*ARE3* 遺伝子がこの方法で腹側の領域の広さを規定しているのであるとすると、*ARE3* 遺伝子の機能は、胚の背側の領域のアイデンティティーを決めている、ということになる。この他には、ある領域と他の領域の境界を決定するというものや、遺伝子の発現領域での細胞分裂頻度を調節することによって領域の広さを調節するというものがあるが、これらは、*CLV1* や *SUPERMAN* 遺伝子の機能を考える上での仮説として考えられたものであり、現段階で証明されているわけではない (Laux and Schoof, 1997; Sakai et al., 1995)。*ARE3* 遺伝子の機能の実体は、ショウジョウバエで試みられたように、分子生物学的研究や生理学的研究が進むことで明らかになるであろう。

緒論で述べたように、近年のシロイヌナズナやコムギを用いた解析から、オーキシンが胚の細胞に位置に関するなんらかの情報を与えるひとつの要素である可能性は非常に高いと考えられている (Fischer et al., 1996; 1997; Fischer-Iglesias et al., 2000; Hardtke and Berleth, 1998; Steinmann et al., 1999; Geldner et al., 2001; Hamann et al., 1999; Hobbie et al., 2000)。特にコムギの胚を用いた研究では、これまでに解析の進んでいる双子葉植物の変異体では報告されたことのなかった、胚器官の増加という表現型が、オーキシン輸送阻害剤を使用することによって生じることが明らかになり、しかも、その研究で観察された表現型は、*are3* 変異体のものと非常によく似ていた。オーキシンと *ARE3* 遺伝子の関係が明らかになることで、植物の胚発生研究は新しいステージに進むことになるだろう。



## 総合考察

本研究は、イネの SAM の分化および維持機構に異常の見られるさまざまな変異体を用いて、その遺伝的制御機構の解明を目的としておこなった。以下では、ここまで述べた変異体の解析で示されたイネの SAM の分化および維持における遺伝的プログラムについて考察する。

### SAM の分化とイネの胚

序論でも述べたように、植物の SAM は、胚発生過程で分化する。これまで多種類のイネの胚発生変異体の解析から、イネの胚発生過程には、図 5-1 のような制御プロセスが存在すると考えられてきた。すなわち、まず、胚のパターンあるいは極性（先端部—基部および背腹）が確立され、その後、適切な領域に器官分化が決定され、それと同時にそれぞれの領域の位置の制御や胚および器官の大きさの制御もなされ、形態形成につながるというのである（Kitano et al., 1993; Hong, 1996）。

本研究では、SAM の分化に注目した変異体の解析により、上のような制御プロセスに精密度を付与することができた。つまり、これまで漠然とパターン形成と表現されてきた発生プロセスに、軸の分化から領域化を経て器官分化に至る、次のようなプロセスが存在することが明らかになったのである。まず、*are3* 変異体および *shl* 変異体の解析から、初期胚に形成される先端部—基部軸と背腹軸に沿った領域形成は、独立におこなわれるものであることがわかった。*are3* 変異体では、先端部—基部軸に沿った領域分化は比較的正常におこなわれていたが、背腹軸に沿った領域分化が異常であり、それが胚器官の数や位置の異常につながっていた。一方、*shl* 変異体では、背腹軸に沿った領域分化は正常におこなわれており、先端部—基部軸に沿った領域分化時に SAM の分化領域の確保が正常になされず、それによって幼根分化領域が拡大し、幼根数が増加することがあった。

次に、先端部—基部軸に沿った領域分化および器官分化について考える。*shl* 変異体で見られた、SAM の分化領域の縮小が幼根の分化領域の拡大につながるという現象は、*shl* 変異体に限られた特異的なものではなく、*mr1* 変異体の幼根増加もこの現象によるものであると考えられている（Kinae et al., 1998）。さらに、

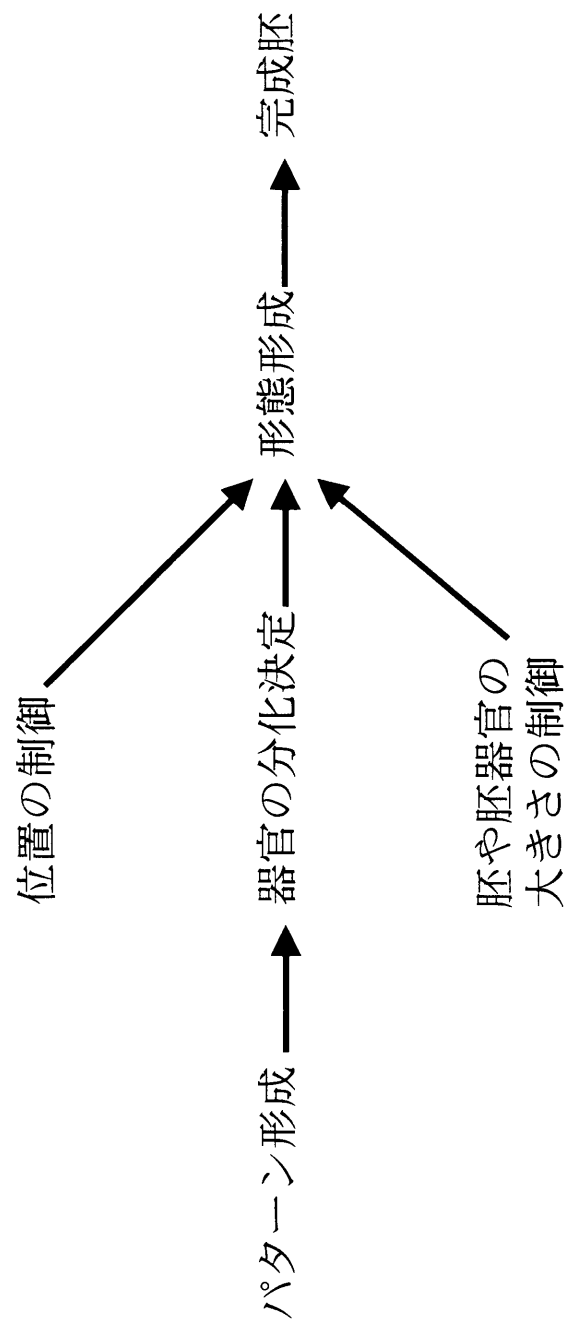


図5-1 従来考えられてきたイネの胚発生で働く制御プロセス。

*shl* 変異体では、SAM の欠失に伴って幼根が増加する例がみられるが、幼根を欠失する *radicleless* (*ral*) 変異体で SAM の増加はみられない (Hong et al., 1995)。したがって、SAM の分化領域の縮小は、幼根の分化領域に影響するが、幼根の分化領域の縮小が SAM の分化領域の拡大につながることはないと予測された。これは、おそらく SAM の分化領域は幼根の分化領域よりも先にあるいは優先して決定され、SAM の分化領域の確保は幼根の分化領域の拡大抑制につながることを示していると思われる。

SAM と胚盤の分化については、遺伝的に独立であると考えられるが、分化決定後の胚盤に対しては、SAM (あるいはその分化領域) が影響を与えていると考えられた。

本研究で解析した変異体の野生型遺伝子が、以上のような発生プロセスにおいてどのように位置づけられるか、考えてみる (図 5-2)。まず、*ARE3* 遺伝子は、*ARE1* 遺伝子とともに、胚の背腹軸に沿った領域分化の過程で重要な働きをしており、それを通して、先端部—基部軸に沿った領域化時、SAM の分化領域の確保にも関わっていることが明らかになった。先端部—基部軸に沿った領域化には、*ARE2* 遺伝子などが関わっていると考えられる (木苗, 私信)。次に、*SHL* 遺伝子は、*OSHI* の上流で、主に SAM の分化領域の確保に携わっていると考えられた。*odm129* 変異体と *shl* 変異体との二重変異体の解析と *OSHI* の発現解析から、*odm129* の野生型遺伝子も SAM の分化領域の確保に、*SHL* 遺伝子と共同して、*OSHI* の下流であるいはそれとは独立に関わっていることがわかった。さらに、*sho* 変異体での *OSHI* の発現と、*sho* 変異体と *odm129* 変異体の二重変異体の解析から、*SHO* 遺伝子も *OSHI* の上流で SAM の分化領域の確保時に機能していることが明らかになった。また、胚の基部領域の確保には、*RAL* 遺伝子や *CLUB-SHAPED EMBRYO* (*CLE*) 遺伝子が関与していると考えられる (Hong et al., 1995)。

最後に、イネの SAM の分化の舞台となった胚について、本研究で得られた結果から考えられることについて図示した (図 5-3)。SAM の分化は、胚器官の形成にとって非常に重要な位置を占めていると思われた。胚盤の分化は SAM の分化とは独立に起こるが、その生長は SAM の活性に依存する。また、SAM は、胚盤の生長のプログラムを時間的に正常に制御してもいると思われた。次に、幼根は、基本的に SAM と独立に分化が決定されるが、分化決定後は SAM の分化領域の確保が幼根の分化領域の拡大を抑制している。胚盤と並び、主にイネ科で見られる器官である鞘葉やエピブラストは、SAM の分化に依存して分化しており、

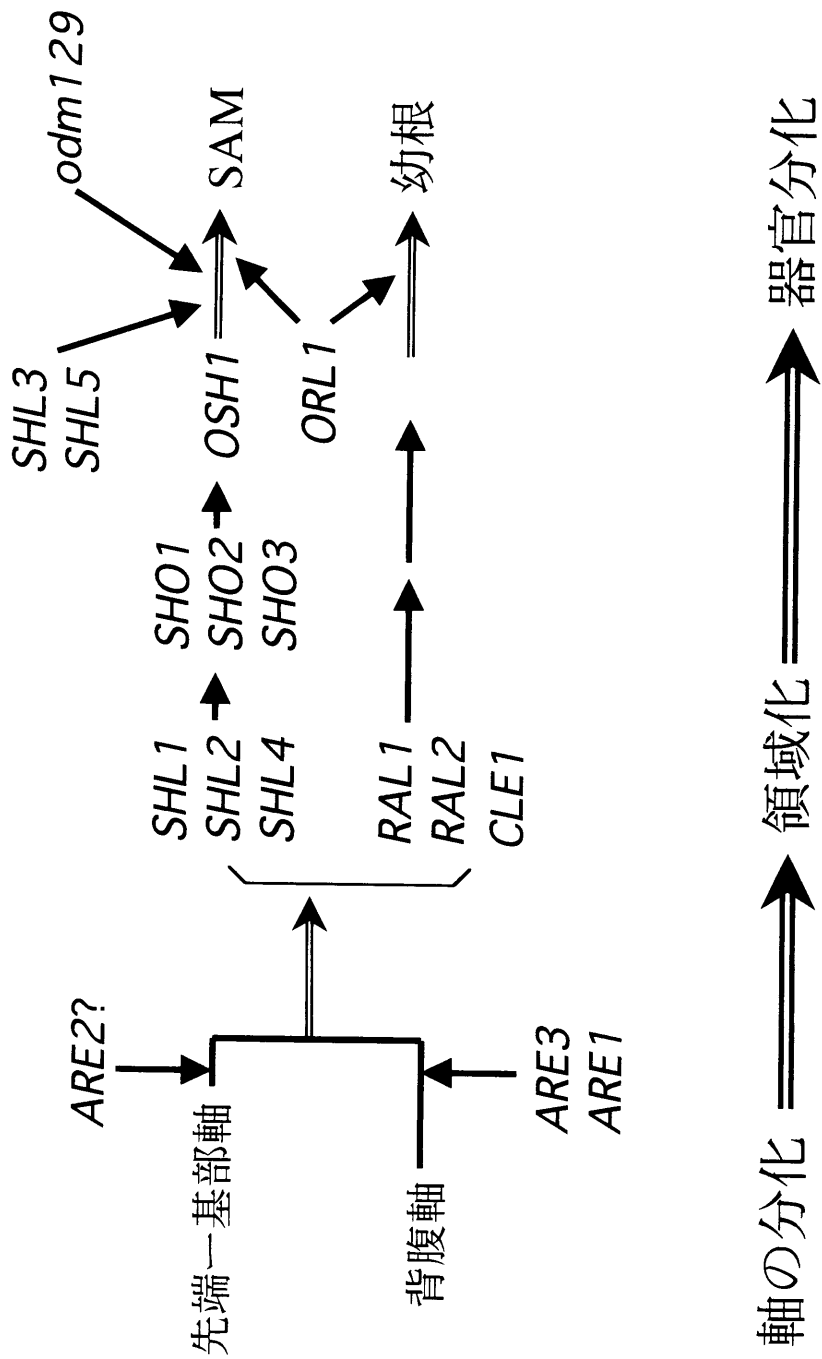


図5-2 本研究および近年イネの胚発生研究で明らかになったイネの胚発生で働く制御プロセスと変異体の野生型遺伝子の相互関係。

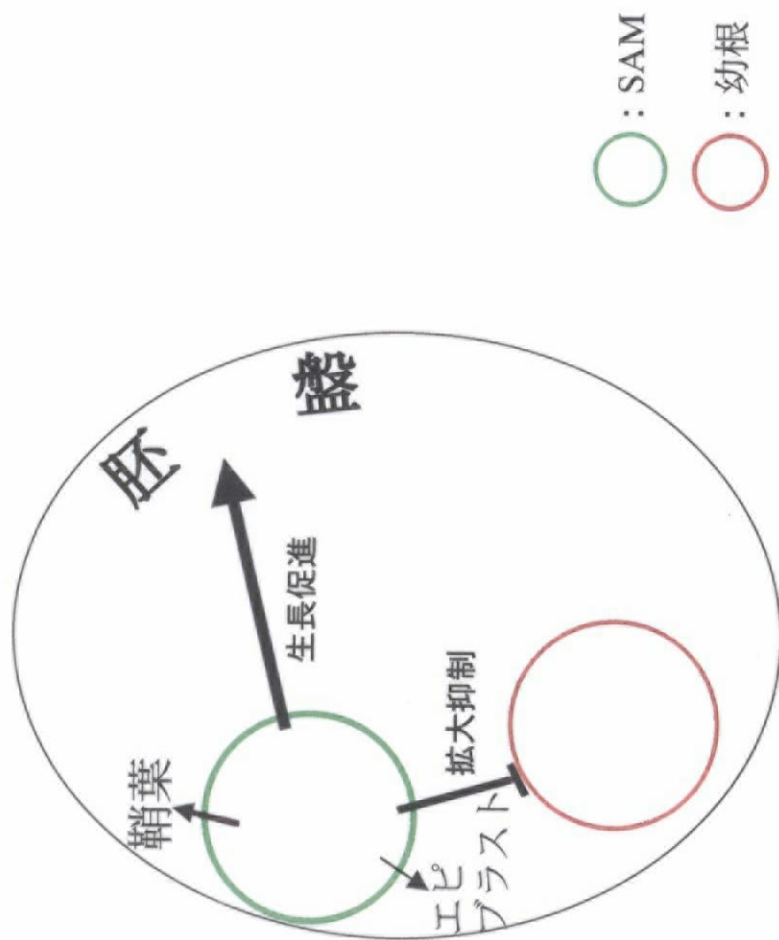


図5-3 SAMと胚その他の器官の関係。

鞘葉の分化はエピプラストよりもより完全な SAM の機能を必要とすると考えられた。

## SAM の維持と植物体

弱い *shl* 変異体の同定と解析から、*SHL* 遺伝子、*SHO* 遺伝子および *OSHI* は、胚発生時の SAM 分化の場合と同様の関係で、SAM の indeterminate な細胞の維持に関わっていることが明らかになった。

さらに、第 3 章の解析では、イネ栄養生長初期の SAM の維持に関与する遺伝子の変異体が、SAM だけでなく、植物体の他の部分にもさまざまな異常を見せた。このことから、SAM の維持をつかさどる遺伝子には多種多様なものがあり、SAM の維持における遺伝的プログラムは、植物体の他の部分の発生を推進するプログラムとも絡み合った、非常に複雑なものであることが明らかになった。本研究で解析した遺伝子が SAM 以外にその発生に関わった植物体の部分は、葉、根、SAM の直下の茎、分げつ芽であった。

葉と SAM の関係については、葉が SAM から分化するものであるので、序論で述べたように、古くから研究されている。これまでの研究で得られた知見には、SAM の発生が葉の発生に影響を与えるという方向性のものが多かった。しかし、近年、シロイヌナズナでは、葉の向軸側のアイデンティティーの存在と SAM の維持に関係がある、さらに言うと、葉の発生が SAM の発生に影響を与えている例が報告されている (Lynn et al., 1999; Kerstetter et al., 2001)。本研究で用いた *odm247* は、成熟した葉で細胞分裂異常を起こすという、これまで解析されてこなかったタイプの変異体であった。さらなる解析により、SAM と葉の関係性について、新たな知見が得られるであろう。

根に存在する根端分裂組織 (RAM) と SAM は、植物が胚発生以後も生長を続けるためには不可欠な器官である。これまでに、オーキシン反応性などの観点から同定した変異体が、SAM および RAM の発生に関わっていたという例は報告されているが、SAM および RAM の維持に着目して解析された変異体は非常に少ない。そのなかで、シロイヌナズナの *FASCIATA* 遺伝子は、クロマチン assembly factor をコードしており、SAM および RAM での遺伝子発現を安定にする過程で機能していると推測された (Kaya et al., 2001)。本研究で解析した、SAM の維持および幼根の伸長に異常をきたした変異体の中にも、SAM と RAM に共通した

発生プロセスに関わっているものがあると思われる。

以上、本研究で SAM の維持に注目して同定した変異体は、イネの SAM の維持機構を考える上で、植物体の他の器官の発生を加味した総合的な視点が必要であることを示唆している。

### イネの SAM の分化および維持の遺伝的骨格

シロイヌナズナでは、*STM* および *WUS* という転写因子と、それと拮抗関係およびループ状の発現制御関係にある *CLV* 遺伝子群が、SAM 自身の維持に関与する遺伝子群の骨格となっており、それとの関係を考える形で、次々と SAM の分化および維持に関与する遺伝子およびその変異体の解析がなされてきた（総説参照: Bowman and Eshed, 2000; Clark, 1997; 2001; Doerner, 1999）。

イネにおいて、SAM をめぐる遺伝的プログラムの骨格をなす遺伝子が、本研究で解析をおこなった、*SHL* 遺伝子であると思われる。さらに、*ARE3* 遺伝子、*SHO* 遺伝子および *odm129* の野生型遺伝子は、*SHL* 遺伝子となんらかの相互作用をする、協同的な関係にあることが明らかになった。これらの遺伝子の中には、シロイヌナズナでこれまで解析されてきたもの以外の新規なものも含まれていると考えられる。したがって、これらを中心に SAM に関する解析をすすめていくことで、イネ独自の SAM の発生の制御機構の遺伝的モデルをたてることができるはずである。

以上、本研究では、これまでに明らかになっていた SAM の分化および維持機構に関する知見に、遺伝学的に新しい見解を加えることができたと考えられる。基礎研究の面から考えても、応用研究の面から考えても、イネという作物の発生研究は、遺伝学的知見を含んでこそ意味をなすと思われる。それと同時に変異体の解析からは、その原因遺伝子の機能を探る以外の考察を得られることが多く、遺伝学的研究というのは魅力ある学問である。今後、その魅力が広く理解され、他のアプローチと統合され、イネやその他の植物の発生における謎が解明され、その知見が応用されるまでになることを期待する。

## 摘要

植物のシュートの形成は、茎頂分裂組織 (SAM) の活性に依存しており、シュートの人為的制御を展望する上で、SAM の分化および維持機構の解明が不可欠である。SAM についての遺伝学的研究は、シロイヌナズナで精力的に進められているが、単子葉植物ではほとんど行われていない。そこで、本研究では、イネの SAM の分化過程および維持過程に異常が見られる変異体を用い、SAM の分化から維持に至る遺伝的プログラムを解明することを目的とした。

### 1、茎頂分裂組織を欠失する *shootless* 変異体の解析

5 遺伝子座に由来する、SAM を欠失する *shootless* (*shl*) 変異体 (*shl1*~*shl5*) が得られた。ほとんどの *shl* 変異体では、胚発生過程で、SAM が分化せず、完成胚では、シュート (SAM と 3 枚の本葉)、鞘葉およびエピブラストが欠失していた。*shl1*、*shl2*、*shl4* および *shl5* 変異体では、幼根は正常に分化していた。一方、*shl3* の幼根は胚発生過程で休眠することなく発根し、完成胚では褐変、枯死していた。また、*shl1*、*shl2*、*shl4* および *shl5* 変異体の胚では、正常な胚盤の分化が見られた。このように、胚盤および幼根は SAM とは遺伝的に独立に分化するのに対し、鞘葉およびエピブラストの分化は SAM の分化に依存していた。*shl* 変異体のカルスからの不定芽形成を試みたところ、野生型のカルスからは、多くの不定芽が再分化してきたが、*shl1*、*shl2* および *shl4* 変異体のカルスからは、全く再分化しなかった。このことから、*SHL1*、*SHL2* および *SHL4* 遺伝子は、SAM の分化に一般的に必要なことが明らかになった。*shl* 変異体のカルスからは、不定芽は分化しなかったが不定葉が形成され、葉原基は SAM とは独立に分化し得ることが示唆された。

イネの胚発生初期に、SAM の分化予定領域で発現する、イネホメオボックス遺伝子 *OSHI* をプローブとして、*in situ* ハイブリダイゼーションを行ったところ、*shl1*、*shl2* および *shl4* 変異体の胚では、*OSHI* の発現領域は野生型よりも極端に狭くなっていた。一方、*shl3* および *shl5* 変異体では、ほぼ正常な発現を示した。このことから、*shl1*、*shl2* および *shl4* 変異体の胚では、SAM の分化領域が正常に確保されておらず、一方、*shl3* および *shl5* 変異体では、SAM 分化予定領域が、比較的正常に確保されていると考えられた。したがって、*SHL1*、*SHL2* および *SHL4*



遺伝子は *OSHI* の上流で機能し、*SHL3* および *SHL5* 遺伝子は *OSHI* の下流あるいは *OSHI* とは独立に機能していることが明らかになった。

## 2、弱い表現型を示す *shootless2* 変異体および *shootless1* 変異体を用いた茎頂分裂組織の分化・維持機構の解析

分化後の SAM における *SHL* 遺伝子の機能を明らかにするため、弱い表現型を示す 3 系統の *shl2* 変異体 (*shl2-6*~*shl2-8*) と 1 系統の *shl1* 変異体 (*shl1-3*) を同定し、解析した。

弱い *shl2* 変異体の胚では、胚盤および幼根の他に、SAM、本葉およびエピブラストが分化した。しかし、鞘葉の分化は見られなかった。3 つの弱い *shl2* 変異体の間では、胚の表現型に強弱が認められた。すなわち、SAM の分化頻度は *shl2-6* 変異体で最も低く、*shl2-8* 変異体で最も高かった。また、*shl2-6* および *shl2-7* 変異体では、分化した SAM のほとんどが胚発生中に消失したが、*shl2-8* 変異体では完成胚でも SAM が観察された。胚における *OSHI* の発現は、野生型よりは狭かったが、*shl2-8* 変異体で最も広く、*shl2-6* 変異体で最も狭い領域で見られた。このように、3 つの弱い変異体の中で、胚での *OSHI* の発現領域の広さ、SAM 分化の頻度および SAM が維持される期間の間には、正の相関が認められた。*shl1-3* 変異体は、*shl2-8* 変異体とほぼ同様の表現型を示した。

最も弱い表現型を示す *shl1-3* および *shl2-8* 変異体を用いて、シュートの構造および SAM の消失過程を調査した。いずれの変異体も、栄養生長初期には、葉形、葉の組織、葉序および葉間期などに異常が見られた。SAM は扁平であり、多くの場合、*OSHI* の発現領域が狭くなっており、未分化な細胞の割合が、野生型に比べて小さくなっていることがわかった。播種後 1 週間以降になると、SAM の L1 層からトライコームが分化し、*OSHI* の発現領域がより内部に限定されているものが見られた。また、SAM の位置に葉原基が分化し、*OSHI* の発現が見られないものもあった。これらのことは、SAM 内の未分化な細胞が減少し、外側の細胞から葉のアイデンティティを獲得し、やがて SAM が消失するという現象が起こっていることを示している。また、細胞分裂の S 期に特異的に発現する *histoneH4* 遺伝子を用い、*shl1-3* および *shl2-8* 変異体の SAM に対し、*in situ* ハイブリダイゼーションをおこなったところ、野生型より多く、かつ、SAM 内の異常な部位での発現が見られた。これらの結果は、*shl1-3* および *shl2-8* 変異体の SAM のオーガニゼーションや、細胞分裂の空間的制御が異常であることを示している。

以上の解析から、*SHL1* および *SHL2* 遺伝子は、SAM の分化だけでなく、維持にも不可欠であり、さらに、葉の分化や形態形成にも関わっていることが明らかになった。また、SAM は、どれくらいの数の未分化な細胞が確保されているかによって、さまざまな程度に構築され、維持されることも示唆された。

*shl* 変異体の胚および植物体の形態は、これまでにイネで解析されている *shoot organization (sho)* 変異体と非常によく似ていた。*shl2 sho2* 二重変異体を作成したところ、二重変異体は、*shl2* 変異体と同じ表現型を示した。このことから、*SHL2* 遺伝子は *SHO2* 遺伝子の上流で SAM の分化および維持に関わっていると考えられた。

### 3、茎頂分裂組織の維持に異常が見られる変異体の同定と解析

SAM の分化には、*SHL* 遺伝子以外にも、多くの遺伝子が関与していると考えられたので、発芽後まもなく枯死する変異体を 16 系統同定、解析した。16 系統の変異体は、SAM だけでなく、植物体の他の部分（葉、根、SAM の直下の茎、分げつ芽）にもさまざまな異常を見せた。このことから、SAM の維持をつかさどる遺伝子には多種多様なものがあり、SAM の維持における遺伝的プログラムは、他の器官や植物体全体の発生を制御するプログラムとも絡み合った、非常に複雑なものであることが明らかになった。

16 系統の中から選抜して詳細に解析をおこなった *odm129* 変異体では、胚発生の遅れ、扁平でオーガニゼーションが異常な SAM、不規則な葉序、形態異常の葉といった表現型が見られ、その野生型の遺伝子は、イネの発生において多面的で重要な機能を持っていると考えられた。さらに、*odm129* 変異体と *shl2-6* 変異体および *sho1* 変異体との二重変異体の表現型がいずれも相乗的であったことから、*odm129* の野生型遺伝子は、*SHL2* 遺伝子および *SHO1* 遺伝子と共同して SAM の分化および維持に関与していることが明らかになった。

### 4、*aberrant regionalization of embryo 3* 変異体を用いた胚の領域化の解析

SAM の分化位置を決定する胚の軸分化および領域化の制御機構の解明のため、胚発生中に SAM や幼根が増加する *aberrant regionalization of embryo 3 (are3)* 変異体の解析を行った。

*are3* 変異体の完成胚では、約 50% の個体で、SAM および幼根、あるいはいずれれかが増加していた。増加した SAM の位置関係は、ひとつの鞘葉の中にふたつ

の SAM が形成されるものから、別々の鞘葉を持った SAM が離れた位置に形成されるものまで連続的であった。幼根は、互いに隣り合って、根端を胚柄に向けて増加した。また、胚盤が異所的に形成されることによる増加も見られた。SAM、幼根および胚盤の増加の間には、有意な相関が認められ、それらが一つのセットとして制御されていると考えられた。また、器官がどのように増加する場合でも、胚盤—SAM—幼根という位置関係は変わらなかった。

イネの胚には、その形態から、先端部—基部と背腹の 2 本の軸を想定することができる。*are3* 変異体では、胚盤—SAM—幼根の位置関係が保たれていたことから、先端部—基部軸に沿った領域分化はほぼ正常におこなわれていると考えられた。一方、*are3* 変異体の初期胚での *OSHI* の発現は、背側方向に拡大しており、背腹軸に沿った領域分化には大きな異常があり、それが器官増加につながっていると思われた。

以上の解析より、*ARE3* 遺伝子は、イネの初期胚において腹側あるいは背側の領域の広さを規定することで、特に背腹軸に沿った領域分化に関わっていると考えられる。さらに、*shl2-6 are3* 二重変異体を作成したところ、相乗的な表現型が見られたので、*SHL2* 遺伝子と共同して SAM の分化領域の確保を促進していることが明らかになった。

以上、本研究は、SAM に関わる多様な変異体を同定、解析し、イネの SAM の分化および維持過程に関与する遺伝子の機能解析と遺伝子間の相互作用の解明をおこなったものである。

## 謝辞

人間性が至らなかった私に対して、非常に温かく、適切な指導をしてくださいました、東京大学大学院農学生命科学研究科の長戸康郎教授に心から感謝いたします。分子生物学的知識に乏しく、技術的にも非常に至らない私に対して、さまざまな助言やご指導をしてくださった、東京大学大学院農学生命科学研究科の平野博之助教授および吉田薫助教授に対しては、反省と感謝の念がたえません。また、現茨城大学農学部の久保山勉助教授にはさまざまな面での御指導をいただき、深く感謝しています。日頃から、非常に興味深い科学的知見を教授くださった伊藤純一助手に尊敬と感謝の意を表します。また、日々、ひととしての生き方について考えさせてくださった、高木俊江助手にも心から感謝いたします。

本研究の随所に利用させていただきました、*OSHI* をころよくくださった名古屋大学生物分子応答研究センターの松岡信教授と研究室のみなさんには深くお礼申し上げます。また、*RAmyIA* をくださった北海道大学理学部山口淳二教授および園田裕さんにはプローブの作り方まで教えていただきました。ありがとうございました。*RAmyIA* のプローブづくりは、本研究室の石川元一くんがおこなってくれました。とても助かりました。ありがとうございます。本研究の材料を提供してくださいました九州大学大学院生物資源環境科学府の佐藤光教授にも深く感謝しています。名古屋大学大学院生命農学研究科の北野英己助教授には、研究面および精神面でのサポートをしばしばしていただきました。心から感謝いたします。

本研究の土台をつくってくださった洪淳寛さん、*shl* 変異体の *in situ* ハイブリダイゼーションで多大な協力をしてくださった西村明日香さんには、どれだけお礼を申し上げてもたりません。ありがとうございました。また、*are3* 変異体については、立場上、十分ご自分で手がけることもできたにもかかわらず、ころよく解析させてくださり、さまざまな議論にもつきあってくださった、本研究室の木苗貴秀さんにも、心よりお礼申し上げます。*are3* 変異体の解析には、明らかに、*shl* 変異体の解析とは異なる楽しさがありました。

思い起こせば、ちょっとしたなりゆきで育種学研究室に入ってから6年が過ぎようとしています。育種学研究室を選ぶにあたり、直接的にも間接的にも、積極的にも消極的にも、プラスやマイナス、いろんな影響を与えてくださったすべてのみなさんに、感謝しています。育種学研究室に入ってから一研究室の中でも外

でも、いろんな出会いの連続でした。当初はその一つ一つを思い起こしてここで  
お礼申し上げるつもりでしたが、次から次へと思いつかんで筆が進み、どうも本  
文よりも長くなりそうな心配がしてきましたので、ここではひかえさせていただ  
きます。かなり素敵な6年でした。ここから感謝しています。本当に、みなさ  
ん、ありがとうございました。そして、これからもよろしくお願いします。

この論文が6年間に見合うものなのかは謎であり、ときにはこんな自分で通用  
するのかな、こんなので続けてもな一と思ったりはするものの、どこかしら素晴  
らしいみなさんに囲まれ、なんだかんだいって楽しく過ごすことができ、続けて  
いけばいつかどうにかなるのではないかと楽観し、自分もできるところまでは  
日々学びつつ研究を続けていきたいと思えるようになりした。ひよんななりゆき  
から一歩進んで、とりあえず自分の道として研究をとらえられるようになったの  
は大きな収穫です。やはりみんなのおかげです。ありがとう。

## 引用文献

- Aida, M., Ishida, T., Fukaki, H., Fujisawa, H. and Tasaka, M. (1997) Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: an analysis of the *cup-shaped cotyledon* mutant. *Plant Cell* 9, 841-857.
- Aida, M., Ishida, T. and Tasaka, M. (1999) Shoot apical meristem and cotyledon formation during *Arabidopsis* embryogenesis: interaction among the *CUP-SHAPED COTYLEDON* and *SHOOT MERISTEMLESS* genes. *Development* 126, 1563-1570.
- Asai, K., Satoh, N., Sasaki, H., Satoh, H. and Nagato, Y. (2002) A rice heterochronic mutant, *moril*, is defective in the juvenile-adult phase change. *Development* 129 (in press)
- Assaad, F. F., Huet, Y., Mayer, U. and Jurgens, G. (2001) The cytokinesis gene *KEULE* encodes a sec1 protein that binds the syntaxin KNOLLE. *The Journal of Cell Biology* 152, 531-543.
- Assaad, F. F., Mayer, U., Wanner, G. and Jurgens, G. (1996) The *KEULE* gene is involved in cytokinesis in *Arabidopsis*. *Mol. Gen. Genet.* 253, 267-277.
- Barton, M.K. and Poethig, R.S. (1993) Formation of the shoot apical meristem in *Arabidopsis thaliana* : an analysis of development in the wild type and in the *shoot meristemless* mutant. *Development* 119, 823-831.
- Bertrand-Garcia, R. and Freeling, M. (1991) *Hairy-sheath frayed 1-O*: a systemic, heterochronic mutant of maize that specifies slow developmental stage transitions. *Amer. J. Bot.* 78, 747-765.
- Bohmert, K., Camus, I., Bellini, C., Bouchez, D., Caboche, M. and Christoph, B. (1998) *AGO1* defines a novel locus of *Arabidopsis* controlling leaf development. *The EMBO Journal* 17, 170-180.
- Bowman, J. L. and Eshed, Y. (2000) Formation and maintenance of the shoot apical meristem. *Trends in plant science* 5, 110-115.
- Bowman, J. L., Smyth, D. R. and Meyerowitz, E. M. (1991) Genetic interactions among floral homeotic genes of *Arabidopsis*. *Development* 112, 1-20.
- Boyd, L. (1931) Evolution in the monocotyledonous seedling: a new interpretation of the morphology of the grass embryo. *Bot. Soc. Edinb. Trans. Proc.* 30, 286-303.

- Brand, U., Fletcher, J. C., Hobe, M., Meyerowitz, E. M. and Simon, R. (2000) Dependence of stem cell fate in *Arabidopsis* on a feedback loop regulated by *CLV3* activity. *Science* 289, 617-619.
- Brenner, S. (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 77, 71-94.
- Brown, W. V. (1960) The morphology of the grass embryo. *Phytomorphology* 10, 215-223.
- Bryne, M. E., Barley, R., Curtis, M., Arroyo, J. M., Dunham, M., Hudson, A. and Martienssen, R. A. (2000) *ASYMMETRIC LEAVES 1* mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis*. *Nature* 408, 967-971.
- Busch, M., Mayer, U. and Jurgens, G. (1996) Molecular analysis of the *Arabidopsis* pattern formation gene *GNOM*: gene structure and intragenic complementation. *Mol. Gen. Genet.* 250, 681-691.
- Callos, J. D., DiRado, M., Xu, B., Behringer, F. J., Link, B. M. and Medford, J. I. (1994) The *forever young* gene encodes an oxidoreductase required for proper development of the *Arabidopsis* vegetative shoot apex. *Plant journal* 6, 835-847.
- Chaudhury, A. M., Letham, S., Craig, S. and Dennis, E. D. (1993) *amp1*-a mutant with high cytokinin levels and altered embryonic pattern, faster vegetative growth, constitutive photomorphogenesis and precocious flowering. *Plant J.* 4, 907-916.
- Chu, C. C., Wang, C.S., Sun, C.C., Hsu, C., Yin, K.C. and Chu, C.Y. (1975) Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments of the nitrogen source. *Scient. Sin.* 18, 659-668.
- Chuck, G., Lincoln, C. and Hake, S. (1996) *KNAT1* induces lobed leaves with ectopic meristems when overexpressed in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 8, 1277-1289.
- Clark, S. E. (1997) Organ formation at the vegetative shoot meristem. *Plant Cell* 9, 1067-1076.
- Clark, S. E. (2001) Meristems: start your signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4, 28-32.
- Clark, S. E., Jacobsen, S. E., Levin, J. Z. and Meyerowitz, E. M. (1996) The *CLAVATA* and *SHOOT MERISTEMLESS* loci competitively regulate meristem activity in *Arabidopsis*. *Development* 122, 1567-1575.
- Clark, S. E., Running, M. P. and Meyerowitz, E. M. (1993) *CLAVATA1*, a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Development* 119, 397-418.

- Clark, S. E., Running, M. P. and Meyerowitz, E. M. (1995) *CLAVATA3* is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as *CLAVATA1*. *Development* 121, 2057-2067.
- Clark, J. K. and Sheridan, W.F. (1991) Isolation and characterization of 51 embryo-specific mutants of maize. *The Plant Cell* 3, 935-951.
- Clark, S. E., Williams, R. W. and Meyerowitz, E. M. (1997) The *CLAVATA1* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*. *Cell* 89, 575-585.
- Darwin, C. (1859) *The origin of species*. John Murray, London.
- Doerner, P. (1999) Shoot meristems: intercellular signals keep the balance. *Current Biology* 9, 377-380.
- Dudley, M. and Poethig, R. S. (1991) The effect of a heterochronic mutation, *Teopod2*, on the cell lineage of the maize shoot. *Development* 111, 733-740.
- Dudley, M. and Poethig, R. S. (1993) The heterochronic *Teopod1* and *Teopod2* mutations of maize are expressed non-cell-autonomously. *Genetics* 133, 389-399.
- Eames, A. J. (1961) *Morphology of the Angiosperms*. McGraw-Hill, New York.
- Endrizzi, K., Moussian, B., Heacker, A., Levin, J. Z. and Laux, T. (1996) The *SHOOT MERISTEMLESS* gene is required for maintenance of undifferentiated cells in *Arabidopsis* shoot and floral meristems and acts at a different regulatory level than the meristem genes *WUSCHEL* and *ZWILLE*. *The Plant Journal* 10, 967-979.
- Eshed, Y., Baum, S. F. and Bowman, J. L. (1999) Distinct mechanisms promote polarity establishment in carpels of *Arabidopsis*. *Cell* 99, 199-209.
- Fischer, C. and Neuhaus, G. (1996) Influence of auxin on the establishment of bilateral symmetry in monocots. *The Plant Journal* 9, 659-669.
- Fischer, C., Speth, V., Fleig-Eberenz, S. and Neuhaus, G. (1997) Induction of zygotic polyembryo. *The Plant Cell* 9, 1767-1780.
- Fischer-Iglesias, C., Sundberg, B., Neuhaus, G. and Jones, A. M. (2001) Auxin distribution and transport during embryonic pattern formation in wheat. *The Plant Journal* 26, 115-129.
- Fleming, A. J., McQueen-Mason, S., Mandel, T. and Kuhlemeier, C. (1997) Induction of leaf primordia by the cell wall protein expansin. *Science* 276, 1415-



1418.

- Fletcher, J. C., Brand, U., Running, M. P., Simon, R. and Meyerowitz, E. M. (1999) Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in *Arabidopsis* shoot meristems. *Science* 283, 1911-1914.
- Gaut, B. S. and Doebley, J. F. (1997) DNA sequence evidence for the segmental allotetraploid origin of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 6809-6814.
- Gisel, A., Barella, S., Hempel, F. D. and Zambryski, P. C. (1999) Temporal and spatial regulation of symplastic trafficking during development in *Arabidopsis thaliana* apices. *Development* 126, 1879-1889.
- Green, P. B. (1992) Pattern formation in shoots: a linky role for minimal energy configurations of the tunica. *Int. J. Plant Sci.* 153, 59-75.
- Hardtke, C. S. and Berleth, T. (1998) The *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development. *The EMBO Journal* 17, 1405-1411.
- Hong, S.-K. (1996) Mutational analysis of early embryogenesis in rice. 東京大学大学院博士論文.
- Hong, S.-K., Aoki, T., Kitano, H., Satoh, H. and Nagato, Y. (1995) Phenotypic diversity of 188 rice embryo mutants. *Developmental Genetics* 16, 298-310.
- 原 襄 (1972) 植物の形態. 裳華房
- Ishida, T., Aida, M., Takada, S. and Tasaka, M. (2000) Involvement of *CUP-SHAPED COTYLEDON* genes in gynoecium and ovule development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 41, 60-67.
- Itoh, J., Hasegawa, A., Kitano, H. and Nagato, Y. (1998) A recessive heterochronic mutation, *plastchron1*, shortens the plastochron and elongates the vegetative phase in rice. *Plant Cell* 10, 1511-1521.
- Itoh, J., Kitano, H., Matsuoka, M. and Nagato, Y. (2000) *SHOOT ORGANIZATION* genes regulate shoot apical meristem organization and the pattern of leaf primordium initiation in rice. *Plant Cell* 12, 2161-2174.
- 伊藤純一 (2000) イネにおける葉の分化様式の発生遺伝学的研究. 東京大学大学院博士論文.
- Jackson, D. and Hake, S. (1999) Control of phyllotaxy in maize by the *abphyll* gene. *Development* 126, 315-323.

- Jang, J., Fijioka, S., Tasaka, M., Seto, H., Takatsuto, S., Ishii, A., Aida, M., Yoshida, S. and Sheen, J. (2000) A critical role of sterols in embryonic patterning and meristem programming revealed by the *fackel* mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Genes&Development* 14, 1485-1497.
- Jurgens, G., Mayer, U., Torres Ruiz, R. A., Berleth, T. and Misera, S. (1991) Genetic analysis of pattern formation in the *Arabidopsis* embryo. *Development Supplement* 1, 27-38.
- Kaplan, D. R. and Cooke, T.J. (1997) Fundamental concepts in the embryogenesis of dicotyledons: a morphological interpretation of embryo mutants. *Plant Cell* 9, 1903-1919.
- Kaya, H., Shibahara, K.I., Taoka, K.I., Iwabuchi, M., Stillman, B. and Araki, T. (2001) *FASCIATA* genes for chromatin assembly factor-1 in *Arabidopsis* maintain the cellular organization of apical meristems. *Cell* 12, 131-142.
- Kayes, J. M. and Clark, S. E. (1998) *CLAVATA2*, a regulator of meristem and organ development in *Arabidopsis*. *Development* 125, 3843-3851.
- Keddie, J. S., Carroll, B.J., Thomas, C.M., Reyes, M.E.C., Klimyuk, V., Holtan, H., Gruissem, W. and Jones, J.D.G. (1998) Transposon tagging of the *Defective embryo and meristems* gene of Tomato. *Plant Cell* 10, 877-887.
- Kerstetter, R. A., Bollman, K., Taylor, R. A., Bomblied, K. and Poethig, R. S. (2001) *KANADI* regulates organ polarity in *Arabidopsis*. *Nature* 411, 706-709.
- Kerstetter, R. A., Laudencia-Chinguanco, D., Smith, L. G. and Hake, S. (1997) Loss-of-function mutations in the maize homeobox gene, *knotted1*, are defective in shoot meristem maintenance. *Development* 124, 3045-3054.
- Kerstetter, R. A. and Hake, S. (1997) Shoot meristem formation in vegetative development. *Plant Cell* 9, 1001-1010.
- Kinae, T., Matsuoka, M. and Nagato, Y. (1999) *apical displacement 1* affects the shoot position and the number of radicles in rice embryo. *Rice Genetics Newsletter* 16, 27-30.
- Kinae, T., Satoh, H., Kitano, H. and Nagato, Y. (1998) A *multiple radicle 1* mutation affects the number of radicles and the vegetative growth in rice. *Rice Genetics Newsletter* 15, 93-96.
- Kitano, H., Tamura, Y., Satoh, H. and Nagato, Y. (1993) Hierarchical regulation of

- organ differentiation during embryogenesis in rice. *The Plant Journal* 3, 607-610.
- Kouchi, H. and Hata, S. (1993) Isolation and characterization of novel nodulin cDNA representing genes expressed at early stages of soybean nodule development. *Mol. Gen. Genet.* 238, 106-119.
- 菊池一浩 (1999) イネ *OsNAC* 遺伝子ファミリーの分子生物学的研究. 東京大学大学院博士論文.
- Laufs, P., Dockx, J., Kronenberger, J. and Trass, J. (1998) *MGOUN1* and *MGOUN2*: two genes required for primordium initiation at the shoot apical and floral meristems in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 125, 1253-1260.
- Laux, T., Mayer, K. F. X., Berger, J. and Jurgens, G. (1996) The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem identity in *Arabidopsis*. *Development* 122, 87-96.
- Laux, T. and Schoof, H. (1997) Maintaining the shoot meristem-the role of *CLAVATA1*. *Trends in Plant Science* 2, 325-327.
- Lenhard, M. and Laux, T. (1999) Shoot meristem formation and maintenance. *Current Opinion in Plant Biology* 2, 44-50.
- Lewis, E. B. (1978) A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature* 276, 565-570.
- Lindsey, K. and Topping, J. F. (1993) Embryogenesis: a Question of pattern. *Journal of experimental Botany* 44, 359-374.
- Long, J. A., Moan, E.I., Medford, J.I. and Barton, M.K. (1996) A member of the KNOTTED class of homeodomain proteins encoded by the *STM* gene of *Arabidopsis*. *Nature* 379, 66-69.
- Lukowitz, W., Mayer, U. and Jurgens, G. (1996) Cytokinesis in the *Arabidopsis* embryo involves the syntaxin-related *KNOLLE* gene product. *Cell* 84, 61-71.
- Lynn, K., Fernandez, A., Mitsuhiro, A., Sedbrook, J., Tasaka, M., Masson, P. and Barton, M. K. (1999) The *PINHEAD/ZWILLE* gene acts pleiotropically in *Arabidopsis* development and has overlapping functions with the *ARGONATURE1* gene. *Development* 126, 469-481.
- Matsuoka, M., Ichikawa, H., Saito, A., Tada, Y., Fujimura, T. and Kano-Murakami, Y. (1993) Expression of a rice homeobox gene causes altered morphology of transgenic plants. *Plant Cell* 5, 1039-1048.

- Mayer, K. F. X., Schoof, H., Haecker, A., Lenhard, M., Jurgens, G. and Laux, T. (1998) Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem. *Cell* 95, 805-815.
- Mayer, U., Torres Ruiz, R. A., Berleth, T., Misera, S. and Jurgens, G. (1991) Mutations affecting body organization in the *Arabidopsis* embryo. *Nature* 353, 402-407.
- McConnell, J. R. and Barton, M. K. (1995) Effect of mutation in the *PINHEAD* gene of *Arabidopsis* on the formation of shoot apical meristem. *Developmental Genetics* 16, 358-366.
- McConnell, J. R., Emery, J., Eshed, Y., Bao, N., Bowman, J. and Barton, M. K. (2001) Role of *PHABULOSA* and *PHAVOLUTA* in determining radial patterning in shoots. *Nature* 411, 709-713.
- Medford, J. I., Behringer, F.J., Callos, J.D. and Feldmann, K.A. (1992) Normal and abnormal development in the *Arabidopsis* vegetative shoot apex. *Plant Cell* 4, 631-643.
- Mendel, G. (1865) Versuche uber Pflanzen-Hybriden. *Verhandlung naturforschungs Verein Brunn* 4, 3-17.
- Meyerowitz, E. M. (1989) *Arabidopsis*, a useful weed. *Cell* 56, 263-270.
- Meyerowitz, E. M. and Pruitt, R. E. (1985) *Arabidopsis thaliana* and plant molecular genetics. *science* 229, 1214-1218.
- Moussian, B., Schoof, H., Haecker, A., Jurgens, G. and Laux, T. (1998) Role of the *ZWILLE* gene in the regulation of central shoot meristem cell fate during *Arabidopsis* embryogenesis. *The EMBO Journal* 17, 1799-1809.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- Nusslein-Vollhard, C., Frohnhofer, H.G. and Lehmann, R. (1987) Determination of anteroposterior polarity in *Drosophila*. *Science* 238: 1675-1681.
- Nusslein-Vollhard, C., Lohs-Schardin, M., Sander, K. and Cremer, C. (1980) A dorso-ventral shift of embryonic primordia in a new maternal-effect mutant of *Drosophila*. *Nature* 283, 474-476.
- 西田治文 (1998) 植物のたどってきた道. 日本放送出版協会.
- Ori, N., Eshed, Y., Chuck, G., Bowman, J. L. and Hake, S. (2000) Mechanisms that

- control *knox* gene expression in the *Arabidopsis* shoot. *Development* 127, 5523-5543.
- Parsons, R. L., Behringer, F. J. and Medford, J. I. (2000) The *SCHIZOID* gene regulates differentiation and cell division in *Arabidopsis thaliana* shoots. *Planta* 211, 34-42.
- Pien, S., Wyrzykowska, J., McQueen-Mason, S., Smart, C. and Fleming, A. (2001) Local expression of expansin induces the entire process of leaf development and modifies leaf shape. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98, 11812-11817.
- Plantefol, L. (1949) A new theory of phyllotaxis. *Nature* 163, 331-332.
- Poethig, R. S. (1988) Heterochronic mutations affecting shoot development in maize. *Genetics* 119, 959-974.
- Pogany, J. A., Simon, E. J., Katzman, R. B., De Guzman, B. M., Yu, L. P., Trotochaud, E. and Clark, S. E. (1998) Identifying novel regulators of shoot meristem development. *J. Plant Res.* 111, 307-313.
- Prigge, M. J. and Wagner, D. R. (2001) The *Arabidopsis* *SERRATE* gene encodes a zinc finger protein required for normal shoot development. *Plant Cell* 13, 1263-1279.
- Reinhardt, D., Wittwer, F., Mandel, T. and Kuhlemeier, C. (1998) Localized upregulation of a new expansin gene predicts the site of leaf formation in the tomato meristem. *Plant Cell* 10, 1427-1437.
- Richards, F. J. (1948) The geometry of phyllotaxis and its origin. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 2, 217-245.
- Richards, F. J. and Schwabe, W. W. (1969) Phyllotaxis: a problem of growth and form. In *Plant Physiology. A Treatise*, 5A, ed. F. C. Steward. Academic Press, New York.
- Rinne, P. L. H. and van der Schoot, C. (1998) Symplasmic fields in the tunica of the shoot apical meristem. *Development* 125, 1477-1485.
- Roth, I. (1955) Zur morphologischen deutung des grasembryos und verwandter embryotypen. *Flora* 142, 564-600.
- Sakai, H., Medrano, L.J., Meyerowitz, E.M. (1995) Role of *SUPERMAN* in maintaining *Arabidopsis* floral whorl boundaries. *Nature* 378, 199-203.
- Sargant, E. and Arber, A. (1915) The comparative morphology of the embryo and

- seedling in the Gramineae. *Ann. Bot.* 29, 161-222.
- Sato, Y., Hong, S., Tagiri, A., Kitano, H., Yamamoto, N., Nagato, Y. and Matsuoka, M. (1996) A rice homeobox gene, *OSHI*, is expressed before organ differentiation in a specific region during early embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 8117-8122.
- Sattler, R. and Maier, U. (1977) Development of the epiphyllous appendages of *Begonia hispida* var. *cucullifera*: implications for comparative morphology. *Can. J. Bot.* 55, 411-425.
- Scanlon, M. J. and Freeling, M. (1997) Clonal sectors reveal that a specific meristematic domain is not utilized in the maize mutant *narrow sheath*. *Developmental biology* 182, 52-66.
- Scanlon, M. J., Schneeberger, R.G. and Freeling, M. (1996) The maize mutant *narrow sheath* fails to establish leaf margin identity in a meristematic domain. *Development* 122, 1683-1691.
- Schichnes, D., Schneeberger, R. and Freeling, M. (1997) Induction of leaves directly from leaves in the maize mutant *Lax midrib-O*. *Developmental biology* 186, 36-45.
- Schneeberger, R., Tsiantis, M., Freeling, M. and Langdale, J. A. (1998) The *rough sheath 2* gene negatively regulates homeobox gene expression during maize leaf development. *Development* 125, 2857-2865.
- Schoof, H., Lenhard, M., Haecker, A., Mayer, K. F. X., Jurgens, G. and Laux, T. (2000) The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristem is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes. *Cell* 100, 635-644.
- Schrick, K., Mayer, U., Horrichs, A., Kuhnt, C., Bellini, C., Dangl, J., Schmidt, J. and Jurgens, G. (2000) *FACKEL* is a sterol C-14 reductase required for organized cell division and expansion in *Arabidopsis* embryogenesis. *Genes&Development* 14, 1471-1484.
- Schwabe, W. W. (1971) Chemical modification of phyllotaxis and its implications. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 25, 301-322.
- Semiarti, E., Ueno, Y., Tsukaya, H., Iwakawa, H., Machida, C. and Machida, Y. (2001) The *ASYMMETRIC LEAVES 2* gene of *Arabidopsis thaliana* regulates formation of a symmetric lamina, establishment of venation and repression of meristem-related homeobox genes in leaves. *Development* 128, 1771-1783.

- Sentoku, N., Sato, Y., Kurata, N., Ito, Y., Kitano, H. and Matsuoka, M. (1999) Regional expression of the rice *KN1*-type homeobox gene family during embryo, shoot, and flower development. *Plant Cell* 11, 1651-1663.
- Sheridan, W. F. (1988) Maize developmental genetics: genes of morphogenesis. *Annu. Rev. Genet.* 22, 353-385.
- Sheridan, W. F. and Clark, J.K. (1987) Maize embryogeny: a promising experimental system. *Trends Genet.* 3, 3-6.
- Shevell, D. E., Leu, W.-M., Gillmor, C. S., Xia, G., Feldmann, K. A. and Chua, N.-H. (1994) *EMB30* is essential for normal cell division, cell expansion, and cell adhesion in *Arabidopsis* and encodes a protein that has similarity to *Sec7*. *Cell* 77, 1051-1062.
- Smith, L. G., Jackson, D. and Hake, S. (1995) Expression of *knotted1* marks shoot meristem formation during maize embryogenesis. *Developmental Genetics* 16, 344-348.
- Snow, M. and R. Snow (1931) Experiments on phyllotaxis. I. The effect of isolating a primordium. *Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. B* 221, 1-43.
- Souer, E., Houwelingen, A., Kloos, D., Mol, J. and Koes, R. (1996) The *No Apical Meristem* Gene of *Petunia* is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. *Cell* 85, 159-170.
- St Johnston, D. and Nusslein-Volhard, C. (1992) The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* embryo. *Cell* 68, 201-219.
- Steinmann, T., Geldner, N., Grebe, M., Mangold, S., Jackson, C. L., Paris, S., Galweler, L., Palme, K. and Jurgens, G. (1999) Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF. *Science* 286, 316-318.
- Steeves, T.A. and Sussex, I.M. (1989) Patterns in plant development. 2nd ed. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK.
- Sugimoto, N., Takeda, G., Nagato, Y. and Yamaguchi, J. (1998) Temporal and spatial expression of the  $\alpha$ -amylase gene during seed germination in rice and barley. *Plant Cell Physiol.* 39, 323-333.
- Takada, S., Hibara, K., Ishida, T. and Tasaka, M. (2001) The *CUP-SHAPED COTYLEDON1* gene of *Arabidopsis* regulates shoot apical meristem formation. *Development* 128, 1127-1135.

- Telfer, A. and Poethig, S. (1998) *HASTY*: a gene that regulates the timing of shoot maturation in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 12, 1889-1898.
- Timmermans, M. C., Hudson, A., Becraft, P. W. and Nelson, T. (1999) *ROUGH SHEATH 2*: a myb protein that represses knox homeobox genes in maize lateral organ primordia. *Science* 284, 151-153.
- Tsiantis, M., Schneeberger, R., Golz, J. F., Freeling, M. and Langdale, J. A. (1999) The maize *rough sheath 2* gene and leaf development programs in monocot and dicot plants. *Science* 284, 154-156.
- Veit, B., Briggs, S. P., Schmidt, R. J., Yanofsky, M. F. and Hake, S. (1998) Regulation of leaf initiation by the *terminal ear 1* gene of maize. *Nature* 393, 166-168.
- Vernoux, T., Kronenberger, J., Grandjean, O., Laufs, P. and Trass, J. (2000) *PIN-FORMED 1* regulates cell fate at the periphery of the shoot apical meristem. *Development* 127, 5157-5165.
- Vollbrecht, E., Riser, L. and Hake, S. (2000) Shoot meristem size is dependent on inbred background and presence of the maize homeobox gene, *knotted1*. *Development* 127, 3161-3172.
- Waites, R. and Hudson, A. (1995) *phantastica*: a gene required for dorsoventrality of leaves in *Antirrhinum majus*. *Development* 121, 2143-2154.
- Waites, R., Selvadurai, H. R. N., Oliver, I. R. and Hudson, A. (1998) The *PHANTASTICA* gene encodes a MYB transcription factor involved in growth and dorsoventrality of lateral organs in *Antirrhinum*. *Cell* 93, 779-789.
- Wallace, A.R. (1855) On the law which has regulated the introduction of new species. *Ann. Mag. Nat. Hist.* 16: 184-196.
- Wardlaw, C. W. (1949) Experiments on organogenesis in ferns. *Growth Suppl.* 13, 93-131.
- Wardlaw, C.W. (1968) *Morphogenesis in plants*. Methuen, London.
- Weigel, D. and Meyerowitz, E. M. (1993) Activation of floral homeotic genes in *Arabidopsis*. *Science* 261, 1723-1726.
- Weigel, D. and Meyerowitz, E.M. (1994) The ABCs of floral homeotic genes. *Cell* 78, 203-209.
- Whittier, D. P. (1962) The origin and development of apogamous structure in the bryophyte of *Pteridium* in sterile culture. *Phytomorphology* 12, 10-20.



- Williams, P. F. (1975) *The shoot apex and leaf growth: A study in quantitative biology.*  
Cambridge University Press, Cambridge.
- Williams-Carrier, R. E., Lie, Y. S., Hake, S. and Lemaux, P. G. (1997) Ectopic expression of the maize *kn1* gene phenocopies the Hooded mutant of barley. *Development* 124, 3737-3745.
- Wolpert, L. (1969) Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. *J. Theor. Biol.* 25, 1-47.
- Yu, L. P., Simon, J., Trotochaud, A. E. and Clark, S. E. (2000) *POLTERGEIST* functions to regulate meristem development downstream of the *CLAVATA* loci. *Development* 127, 1661-1670.