

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05549

研究課題名（和文）水稻高温不稔耐性に及ぼす葯気孔の生理的役割の解明

研究課題名（英文）Role of anther stomata in tolerance of high temperature-induced spikelet sterility in rice

研究代表者

羽方 誠（Hakata, Makoto）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・上級研究員

研究者番号：80450336

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：これまでに高温不稔耐性品種の葯に存在する気孔数は高温感受性品種と比べ多い傾向があり、葯の気孔数と耐性には正の相関関係があることが明らかになった。本研究では、葯の気孔の生理的役割として、蒸散により葯の温度上昇を抑制させることで、葯壁内の花粉が感知する高温ストレス程度を軽減し、花粉の質を維持する。葯の気孔を介する蒸散促進に伴い、葯内の脱水により開裂が促され、花粉飛散を誘導することを検証実験により明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

温暖化の進行に伴い、近年散見される高温不稔の発生頻度が増加し、米の収量の不安定化が危惧されており、食糧の安定供給の観点から、早急に高温不稔耐性品種を育成する必要がある。しかしながら、高温不稔を誘導する生理的メカニズムについては依然として不明な点が多く、高温不稔の耐性向上を目指した品種開発には至っていない。本研究は葯に存在する気孔が高温不稔耐性に及ぼす生理的メカニズムを明らかにした点で学術的意義は大きく、今後の耐性品種作出が期待される。

研究成果の概要（英文）：The reduction in rice yield caused by high temperature-induced spikelet sterility has become a major concern in global rice production. Our recent studies have revealed a correlation between the number of stomata in anthers and the tolerance of high temperature-induced spikelet sterility in rice. In this project, we clarified that the role of anther stomata in rice is to facilitate cooling through transpiration and to promote dehydration by verification experiment. This means that higher number of stomata in the anthers, the better the quality and quantity of pollen that falls on the pistil is ensured, which increases tolerance to high-temperature-induced spikelet sterility.

研究分野：作物生産科学

キーワード：高温不稔 葯 気孔 イネ

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2014年に作成されたIPCC第5次評価報告書によると、今世紀末に向かって地球温暖化の進行が予測されている。近年、地球温暖化による作物生産への影響が顕在化し、特に水稲では、白未熟粒が多発して玄米品質が低下しており、更に気温が上昇すると、高温不稔が多発して収量が不安定化すると危惧されている。高温不稔は受粉・受精過程で何らかの問題が生じ、米が稔らなくなる現象で、主に開花時の気温が35前後になると発生することが知られている(松井2009)。日最高気温が35を超える猛暑日が頻繁に観測された2007年の関東や東海地方では、調査対象となった水稲圃場の多くで10%以上の不稔率となった(Hasegawa et al. 2011)。このため、今後、国内外の米生産の安定化に向け、高温不稔の発生要因の解明やその成果を利用した耐性品種の育成は喫緊の課題である。高温不稔の発生要因については、葯の開裂不良により雌しべの柱頭に着床する花粉の量が少なくなる(Satake and Yoshida 1978)ことや、花粉の充実不足により花粉の質が劣化する(Matsui et al. 2000)ことなどが報告されている。このほか、高温に加えて高湿度環境が不稔を助長する(Weerakoon et al. 2008)ことから、温湿度の変化が葯の水分状態に作用していると推測される。このため、これらの要因が複合的に作用することで不稔に至ると考えられる。しかし、それが如何にして高温不稔を誘導するのか、その生理的メカニズムは依然として不明な点が多く、高温不稔の耐性向上を目指した品種や対策技術の開発には至っていない。

これまでに研究代表者らは、高温不稔の発生要因解明のため感受性部位である葯に着目し、花粉の量と質に関与する組織レベルでの品種間差を調べてきた。葯の表面には表皮細胞から分化した気孔が存在することが知られてきた(武岡2000)が、葯気孔の存在意義については研究例がなく、その役割は不明なままである。これまでに代表者らは、高温耐性品種(高温不稔が発生し難い品種)の葯に存在する気孔数は高温感受性品種(高温不稔が発生し易い品種)と比べ多い傾向があり、葯の気孔数と耐性には正の相関関係があることを明らかにした。葯の気孔は過去注目されてこなかったものの、葉の表面に存在する気孔と同様に葯における蒸散(植物体内の水分を体外に放出すること)に強く関与していることが推測される。葯中に保管されている花粉は葯が開裂することで、雌しべに向かって落下していくが、葯が開裂するためには、その前に脱水が起こらねばならない。このことから、葯気孔が葯の水分状態の制御に関わり、高温不稔耐性に大きく貢献するのではないかとの考えに至った。

2. 研究の目的

高温不稔の発生要因を解明するため、葯の気孔に着目し、以下のような仮説を構築した。すなわち、葯の気孔数の多い品種では、蒸散により葯(すなわち花粉)の温度上昇を軽減させることで、葯壁内の花粉が感知する高温ストレス程度を軽減できる(花粉の質の維持)。葯の気孔を介する蒸散促進に伴い、葯内の脱水が促され、開裂後比較的短時間に正常に開裂し、花粉飛散を誘導できる(花粉の量の維持)。

本研究はこれらの仮説を検証することにより、葯気孔の生理的な役割と高温不稔耐性に与える影響を明らかにする。葯の気孔が葯の開裂不良(花粉の量)と花粉の充実不足(花粉の質)の両方の形質を同時に改善できる重要形質である可能性が考えられ、葯の気孔数を増加させる遺伝子の導入や葯の気孔数を指標とする選抜が可能となり、これまでにない高度な高温不稔耐性品種の育成が期待できる。

3. 研究の方法

(1)植物材料

高温耐性品種・葯の気孔数が多い品種: Kaluheenati, Wataribune, N22

高温感受性品種・葯の気孔数が少ない品種: Koshihikari, Shinshuu, Fukoku

人工気象室内で26(昼)/22(夜)条件で栽培した上記の高温耐性・感受性品種を使用し、出穂後35(昼)/29(夜)(対照区26/22)に3日間高温処理を行った。

(2)葯気孔の顕微鏡観察

開花直前の穎花をEAA溶液(エタノール:酢酸, 3:1, v/v)で固定し、50%エタノールから100%エタノールまで溶液を段階的に置換・脱水後、透明化させ、穎花から葯をスライドガラス上に取り出し、顕微鏡(DM2500, Leica)観察した。

(3)葯表面温度測定

葯気孔による葯の冷却効果を調べるため、人工気象室内に作成した水稲高温不稔検定システムの人工水田上において、超近接撮影が可能な赤外線サーモグラフィ(InfRec R500, Nippon Avionics Co., Ltd)を使用して、高温処理中の開花中の葯表面を撮影し、葯温度の品種間差を解析した。人工気象室は日中常に35に制御しており、開花時間の違う品種でも温度の影響を排除できる。

(4)花粉発芽能力検定

気孔からの蒸散による葯の冷却により花粉の温度上昇が抑制され、花粉能力は維持されるのかどうかを明らかにするために、高温耐性および感受性品種の高温処理後の花粉の状態をヨウ素デンブロン反応により解析した。

(5) 葯水分状態計測

高温処理 3 日目の小穂から開花直前・直後の葯を採取し、超マイクロ天秤 (MSU3.6P-000-DM、Sartorius) にて生重量を秤量後、105 °C・5 時間乾燥させ、乾燥重量を秤量し、含水率を求めた。

(6) 葯開裂速度計測

開裂速度は花粉の質と雌しべに落ちる量に影響することが考えられる。気孔数が開裂速度に与える影響を明らかにするために、高温耐性品種、感受性品種を使用し、人工気象室内に作成した水稻高温不稔検定システムの人工水田上において、近接撮影可能なカメラを使用して、高温処理中の開花直後から開裂が終了するまでを連続的に撮影し、開裂速度の品種間差の比較を試みた。

(7) 非構造的炭水化物 (NSC) および一穂初数測定

高温不稔耐性には出穂期の茎 NSC 量と一穂に付く穎花 (初) の数が影響する可能性がある。高温耐性および感受性品種各 3 品種について、人工気象室で生育させ、NSC については出穂期前後のイネから茎を採取し、NSC 濃度を測定した。一穂初数については、出穂後の穂を採取し、穎花数を計測し、耐性の違いと各項目の関係性を評価した。

4 . 研究成果

(1) 葯の気孔数と高温不稔耐性との相関

これまで調査した 19 品種に新たに 5 品種追加し、葯の気孔数の計測を行った。その結果、葯の気孔数と高温不稔耐性との間に明確な相関 ($r=0.557$ 、1%水準で有意差あり) があることを確認出来た (図 1)。

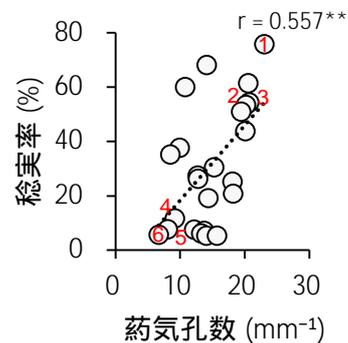


図 1 : 24 品種の葯の気孔数と高温不稔耐性との相関

1 Kaluheenati、2 Wataribune、3 N22、4 Koshihikari、5 Shinshuu、6 Fukoku
**は 1%水準で有意であることを示す。

(2) 葯を冷却する機能の検証

高温耐性・葯の気孔数が多い品種 : Kaluheenati、Wataribune、N22 および高温感受性・葯の気孔数が少ない品種 : Koshihikari、Shinshuu、Fukoku を使用し、高温処理中の開花状態の葯の表面温度測定を試みた。赤外線サーモグラフィーの温度検出範囲には、葯と一緒に穎表面も含むため、葯のみを安定的に撮影することは困難であり、葯を含む初表面の温度を反映した結果となってしまったが、葯の気孔数が多い品種と少ない品種には初表面の明確な温度差が認められた (図 2)。また、葯の気孔数が多い品種と少ない品種の高温処理後の花粉の状態をヨウ素デンブロン反応により解析した結果、葯の気孔数が多い品種は不良花粉の含有率が低い傾向があった (図 3)。したがって、葯の気孔からの蒸散による葯の冷却により、花粉の温度上昇が抑制され花粉能力が維持された可能性が示唆された。

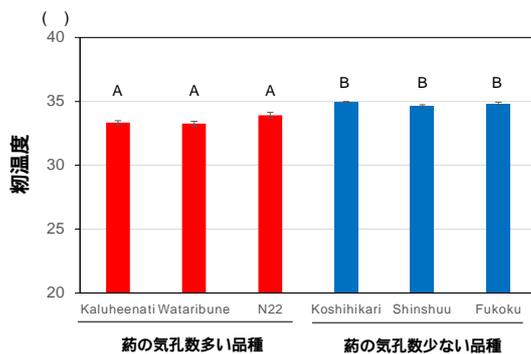


図 2 初表面温度
35 高温処理中の開花状態の葯を含む初表面温度。エラーバーは標準誤差を表す (n=9-19)。異文字間には 5%水準で有意差あり。

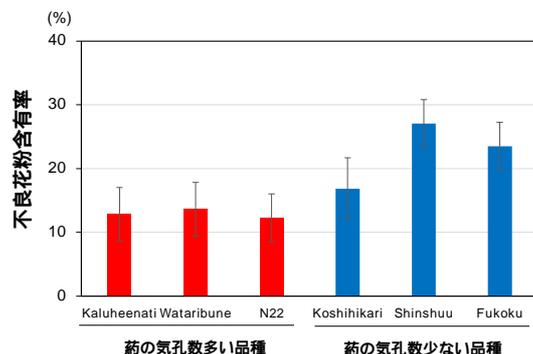


図 3 不良花粉含有率
35 /29 °C・3 日間の高温処理後の花粉エラーバーは標準誤差を表す (n=3-5)。

(3) 薬の開裂を促進する機能の検証

薬の水分状態の検証のために、薬の気孔数が多い品種 (Kaluheenati) と少ない品種 (Koshihikari) を使用し、人工気象室内にて近接撮影可能なカメラで、高温処理中の開花直後から開裂が終了するまでの連続的撮影を試みたが、高温下での連続撮影では機器に異常が生じたため、急遽、目視での開花開始から終了までの時間の計測に変更した。開裂速度の計測はできなかったが、高温時の開花開始から終了までの時間は、気孔数が少ない Koshihikari では、常温時に比べ明らかに長くなっていることが判明した (図 4)。更に、高温時における Koshihikari の開花終了時の薬内には多くの花粉が残っていることが確認できた。また、薬の気孔の薬の水分状態への関与を明らかにするため、薬の含水量の計測を行った。薬の気孔数が多い品種 (Kaluheenati) と少ない品種 (Koshihikari) それぞれ、常温または高温処理した小穂から開花直後の薬を採取し、超マイクロ天秤で秤量後、乾燥させ乾燥重量を秤量し、含水率を求めた。その結果、薬の気孔数が多い品種の含水率は少ない品種に比べ、常温・高温条件とも 4.4~4.9%低いことが判明した (図 5)。これらの結果から、気孔数が多い品種は、薬の気孔を介する蒸散促進に伴い、高温条件でも薬内の脱水が促され、開裂後比較的短時間に正常に開裂し、花粉飛散を誘導していることが考察された。

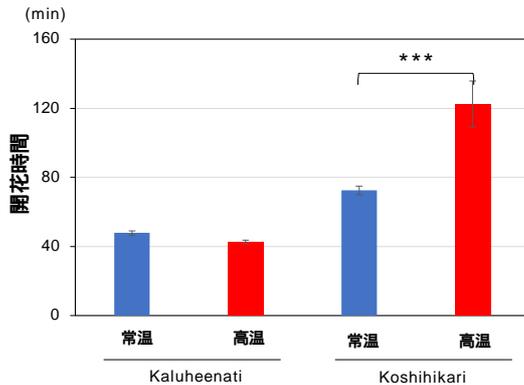


図 4 開花時間
35 /29 ・3 日目の高温処理中の開花開始から終了までの時間。エラーバーは標準誤差を表す (n=12-24)。***は 0.1%水準で有意であることを示す。

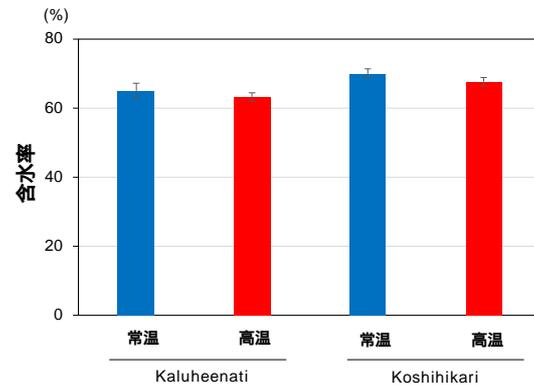


図 5 薬の含水率
35 /29 ・3 日目の開花直後の薬。エラーバーは標準誤差を表す (n=5-22)。

(4) NSC 含有量、穎花数の高温不稔耐性への影響

高温不稔耐性には出穂期の茎 NSC 量と一穂に付く穎花 (稃) の数が影響する可能性がある。高温耐性・薬の気孔数が多い品種 : Kaluheenati、Wataribune、N22 および高温感受性・薬の気孔数が少ない品種 : Koshihikari、Shinshuu、Fukoku を人工気象室で生育させ、NSC については出穂時および高温処理後のイネから茎を採取し、NSC 量を測定した。一穂稃数については、出穂後の穂を採取し、穎花数を計測した。その結果、NSC 量は一部の高温耐性品種で高かったが、耐性との相関は弱かった (図 6)。一穂稃数も高温耐性品種で多い傾向にあったが、相関は確認できなかった (図 7)。

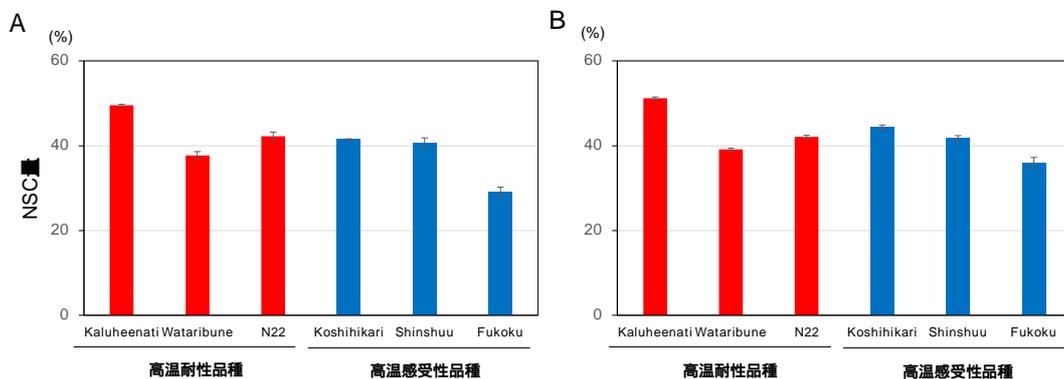


図 6 茎 NSC 量
A: 出穂前、B: 35 /29 ・3 日間高温処理後の茎の NSC 量。
エラーバーは標準誤差を表す (n=4)。

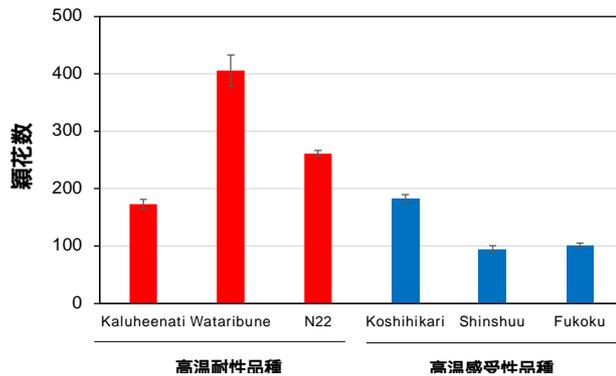


図7 一穂粒数
出穂後の穂から穎花数を計測。エラーバーは標準誤差を表す(n=4)。

以上、一連の解析結果から、薬に存在する気孔の生理的な役割として、蒸散により薬の温度上昇を抑制させることで、薬壁内の花粉が感知する高温ストレス程度を軽減し、花粉の質を維持する。薬の気孔を介する蒸散促進に伴い、薬内の脱水により開裂が促され、花粉飛散を誘導することが示唆された。薬の気孔数が多いと、蒸散により高温時の薬の冷却と開裂の維持により、花粉の質と量を確保し、高温不稔性をもたらすと結論する。今後、これらの知見は耐性強化、品種開発につながることを期待出来る。

<引用文献>

松井 勤(2009) 開花期の高温によるイネ(*Oryza sativa* L.)の不稔. 日作記 78:303-311.

Hasegawa T, Ishimaru T, Kondo M, Kuwagata T, Yoshimoto M, Fukuoka M (2011) Spikelet sterility of rice observed in the record hot summer of 2007 and the factors associated with its variation. *J. Agric. Meteorol.* 67:227-232

Satake T and Yoshida S (1978) High temperature-induced sterility in indica rices at flowering. *Jpn J Crop Sci.* 47:6-17.

Matsui T, Omasa K, Horie T (2000) High temperature at flowering inhibits swelling of pollen grains, a driving force for thecae dehiscence in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod Sci.* 3:430-434.

Weerakoon WMW, Maruyama A and Ohba K (2008) Impact of humidity on temperature-induced grain sterility in rice (*Oryza sativa* L.). *J Agron Crop Sci.* 194:135-140.

武岡 洋治 (2000) 環境ストレスと生殖戦略-イネ科小穂の形態変化-. 農文協

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中野 洋 (Nakano Hiroshi) (10414814)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中日本農業研究センター・主席研究員 (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関