

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2014～2017

課題番号：26257410

研究課題名(和文)世界の高温水田調査に基づいたイネの高温不稔発生に対する耐性形質の効果と限界の提示

研究課題名(英文) Effects of traits relating tolerance against high temperature induced floret sterility in rice and their limits shown by experiments on the extremely hot paddy fields in the world.

研究代表者

松井 勤 (MATSUI, Tsutomu)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：70238939

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,100,000円

研究成果の概要(和文)：中国、インド、フィリピン、ミャンマーにおいて、最も暑い時期に開花するように12以上の現地イネ品種を栽培し、高温不稔発生・高温耐性の仕組みと、高温不稔耐性形質と不稔発生との関係を調べた。受粉の安定性と稔実との関係を調べた結果、受粉不良とそれによる柱頭上の発芽花粉の減少が高温不稔の主な原因のひとつであると考えられた。回帰分析の結果から、葯基部の裂開長を100 $\mu$ m拡大することで、4～9%、穂を10cm浅くすることで10%程度受粉不良の花の割合や不稔の発生を減らせると考えられた。また、稔実に必要な発芽花粉の数は品種により異なると考えられ、必要な花粉数は高温耐性にかかわる形質と考えられた。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of high temperature induced floret sterility, and the relationship between the occurrence of sterility and the traits relating the tolerance against the sterility were studied with field experiments where the more than 12 rice were grown to synchronize the heading and hottest season, in China, India, Philippines and Myanmar. Correlation analysis between the pollination and sterility showed that poor pollination is one of main direct cause of high temperature sterility. Correlation analysis between the high temperature tolerance traits, pollination and sterility showed that increase of anther basal dehiscence length by 100  $\mu$ m improve the sterility by 4 to 9 % at maximum and making floret shallow by 10 cm decrease the poor pollination or sterility by around 10 % at maximum. The number of germinated pollen grains on the stigma necessary for fertilization seemed to depend on the cultivars and to be a trait relating to tolerance against the high temperature induced sterility.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 受粉 不稔 高温耐性 草型 水田 温暖化 薬

## 1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、模擬温暖化条件下でのイネの生育試験と作物モデルによるシミュレーションの結果から、地球の温暖化により日本のような温帯においてもイネの高温不稔の発生が増加することを予測した (Horie et al. 1996, Nakagawa et al. 2004, IPCC 2007)。実際、1990年代より、中華人民共和国長江中下流域では、イネの高温不稔の発生頻度が増してきており、2003年には多くの農家圃場で稔実率が50%以下となる事態に至った (Wang et al. 2004)。中国の人口を支える水田地帯における異常事態と IPCC の4次報告を受け、IRRI (国際イネ研究所) は2007年3月高温対策戦略決定のための緊急ワークショップを開催し、各国の研究者と情報交換を始めるとともに各国の遺伝資源から高温耐性品種の選抜を試みている (IRRI 2007)。また、わが国でも、2007年、2010年の猛暑年には不稔の発生が確認されており (長谷川ら 2011)、高温による不稔が研究者の注目を集めつつある。イネの高温不稔への関心は、欧米の研究者の間でも高まってきており、分子生物学的なアプローチも試みられているが、耐性品種の開発に結びつくような成果には至っていないようである (Jagadish et al. 2010)。研究代表者は、温暖化対策の一環として、発生頻度が高い中国長江流域のイネの高温不稔に着目し、発生・耐性の機構について研究を行ってきた。長江流域の弱風・高湿条件は、穂温を高め、イネの受粉を不安定にすることで高温不稔の発生を助長した (Tian et al. 2010)。弱風高湿条件下では、葯の基部における裂開の長さが高温不稔に対する耐性を決定し (Matsui et al. 2005)、わずか0.1mm 葯の裂開の差異が鋭く不稔耐性に影響することを圃場条件で確認した (Tian et al. 2010, Zhao et al. 2010)。また、群落内の穂の高さも弱風時には受粉に大きく影響を与えることがわかった (未発表)。開花期の高温に対する受精の耐性を決定する形質として低穂温と早朝開花が指摘されているが、長江流域ではこれらの効果は明確ではなかった (Tian et al. 2010)。長江流域における高温不稔は、弱風高湿度条件での不稔発生の典型ではある。しかし、世界の水田の気象的な変異は大きく (Yoshimoto et al 2012)、長江流域の現象を以って高温不稔の発生を理解したとは言えない。研究代表者らは、長江流域以外の高温地域でもイネの受粉や高温不稔の発生を観察してきた。オーストラリアで発生する高温

不稔の直接の原因は、長江で観察された不稔の場合とは全く異なり、花粉の発芽不良であった (Matsui et al. 2014)。これらの結果は、イネの高温不稔の発生メカニズムは一つではなく、地域に依存する様々な要因 (気象・遺伝資源) により異なり、このため、高温耐性に貢献する形質も地域によって異なることを示している。たとえば、穂からの蒸散の冷却効果が湿度や風速の影響を強く受けることや、早朝開花の効果が気温の日変化に左右されることは想像に難くない。また、穂を覆う葉は、直射日光による穂温の上昇を緩和する働きがあると考えられているが、代表者らの観察では弱風条件において受粉を妨げることが分かっている。

## 2. 研究の目的

耐性品種の育成を含む温暖化対策として、まず、どのような環境でどのような形質が求められているかを明確にする必要がある。研究代表者は、これまでの研究成果を踏まえ、さまざまな高温地域や高温環境で求められる耐性形質とその効果を実証的に示し、その知見を育種や生理学研究を含むさまざまな高温不稔対策の出発点とするべきであると考えに至った。

本研究では、インド、ミャンマー、フィリピン、中国における4年間の圃場実験を通じて、以下の点を明らかにしようとした。

1. イネの高温不稔頻発地域における発生の原因とメカニズムの地域による差異。
2. イネの高温不稔の発生に関与すると考えられている4つの形質、1) 開花時における葯の裂開の大きさ、2) 開花時刻、3) 群落構造、の交互作用と効果の地域による差異。そして形質改良の効果の限界。

## 3. 研究の方法

中国、インド、ミャンマー、フィリピンの乾期高温水田に現地品種を作付け、実験に供試した。品種の配置は乱塊法に従い2ないし3ブロックを設けた。すべての品種の出穂期をそろえるために、品種によって播種時期をずらし、さらに3ないし4作期を設けた。開花期に受粉の安定性、穂の高さ、開花中の花の高さ、葉の高さを調査した。開花期に花をサンプリングし、乾燥後、日本に輸入し、デジタルマイクロスコープにより、葯の長さ、葯の基部及び頂部に生じた裂開のサイズを調査した。また、稔実率を調査するために、開花期に開花日を示すタグを穂につけ、成熟期に穂ごとに稔実を調査した。

## 4. 研究成果

## 中国における試験 (2016~2017年)

### 気象条件

2016年は7月30日に最高気温が36度に達したもののその後は雨天に伴って、気温が低下し、全体としてはやや冷夏となった。これに対し、2017年には、8月3日から7日まで5日間連続して最高気温が36を超える高温条件に遭遇することができた。風速は兩年ともこの地域に特有の弱風条件であった。

### 受粉の安定性

気温が高かった2016年7月下旬および2017年の8月上旬に一部の品種に受粉の不安定化が認められ、開花後、柱頭に付着した花粉の数が10粒未満の花の割合の品種間差異が大きかった。

### 稔実率

気温が高かった2016年7月下旬および2017年8月上旬に出た穂で、一部の品種に低下が認められ、この期間の稔実の品種間差異が大きかった。

### 受粉の安定性にかかわる要因

開花後中頭上の花粉が10粒未満の穎花の割合は、

$$Y = -0.000911X_1 + 0.000258X_2 + 0.00796X_3 - 0.104X_4 + 0.0134X_5 + 0.3590$$

でよくあらわされた ( $R^2 = 0.536^{***}$ , Y: アークサイン変換された柱頭上花粉数が10粒未満の花の割合,  $X_1$ : 葯基部の裂開長 ( $\mu\text{m}$ ),  $X_2$ : 花の高さ (cm),  $X_3$ : 穂の角度 ( $^\circ$ ),  $X_4$ : 午前10時から12時の風速,  $X_5$ : 日最高気温 ( $^\circ\text{C}$ )).

予測から体系的に外れる品種や日があり、この5つの要因以外に受粉にかかわる遺伝的および環境的要因があると考えられた。

### 稔実にかかわる要因

稔実率は、

$$Y = -0.00108X_1 + 0.115X_2 + 4.12X_3 + 0.104X_4 + 0.0134X_5 + 0.0104X_6 - 7.09$$

でよくあらわされた ( $R^2 = 0.554$ ,  $X_1$ : 葯基部の裂開長 ( $\mu\text{m}$ ),  $X_2$ : 10から12時までの気温 ( $^\circ\text{C}$ ),  $X_3$ : 開花時刻 (時),  $X_4$ : 葯長 ( $\mu\text{m}$ ),  $X_5$ : 穂の傾き,  $X_6$ : 花の高さ (cm))

体系的に予測から外れる品種が2品種あり、さらに受粉にかかわる遺伝的な要因があると考えられた。

### 受粉不良と不稔との関係

受粉には5~10粒の発芽花粉数が必要であると考えられている。そこで、すべての品種、調査日込みで、柱頭上での発芽花粉数5粒未満の花の割合と付着花粉数10粒未満の花の割合との関係を調べたところ、両者の間には強い相関関係が認められた。しかしながら、発芽花粉数5粒未満の穎花の割合と稔実率との

間には有意な相関は認められなかった。そこで、品種ごとに発芽花粉5粒未満の穎花の割合と稔実との関係を調べたところ、両者の間に調査日間で相関が認められた品種と認められない品種があることがわかった。相関が認められない品種では両者の関係は、

$$Y = 1.24X_1 + 0.00566X_2 - 1.75$$

でよく表された ( $R^2 = 0.761^{***}$ ,  $X_1$ : 発芽花粉数5粒未満の穎花の割合 (Asin変換値),  $X_2$ : 葉の高さ (cm)) が、相関が認められない品種では、

$$Y = 0.553X_1 + 0.00638X_2 + 0.134X_3 - 5.389$$

出でよく表された ( $R^2 = 0.587$ ,  $X_1$ : 発芽花粉数5粒未満の穎花の割合 (Asin変換値),  $X_2$ : 葉の高さ (cm),  $X_3$ : 開花時の気温 ( $^\circ\text{C}$ )).

### 中国での実験のまとめ

中国での実験の結果から以下のことが示された、

1. 圃場条件でも圃場がおかれている環境とイネの形によって受粉の安定性と稔実が、かなり説明できることがわかった。
2. 受粉の安定性には葯基部の裂開、花の高さ、穂の角度といったイネの形がかかわっている。
3. 環境条件としては開花時の風速と気温がかかわっている。
4. 受粉への開花時刻の影響ははっきりしない。
5. 花粉発芽後に高温に敏感な品揃はある。
6. 稔実には、基部裂開長、開花時気温、開花時刻、葯長、穂の傾き、花の高さがかかわっている。
7. 葯長は短いほうがよい。

## インドにおける試験 (2017年)

### 気象条件

日平均気温は、5月5日から5月18日の期間中に29.02から35.16の間で変化した。日最高気温は34.10から42.90の間で変化した。5月5日、6日、7日、8日、9日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日の12日間は30を越えた。特に5月14日、15日、16日、17日、18日の5日間は40を越えた。日平均風速は1.64m/sから2.44m/sの間で変化した。

### 受粉の安定性とそれにかかわる要因

付着花粉数が10粒未満の穎花の割合は、気温が高かった5月14日、15日、16日でほかの日よりも有意に高かった。また安定性にも品種間差異が認められた。

受粉数が10粒未満の穎花の割合は、

$$Y = 0.0411X_1 - 0.000384X_2 + 0.356X_3 - 0.00988X_4 - 0.0199X_5 - 0.425$$

でよく表された ( $R^2 = 0.766$ ,  $X_1$ : 日最高気温 ( $^\circ\text{C}$ ),  $X_2$ : 基部裂開長 ( $\mu\text{m}$ ),  $X_3$ : 基部不裂開率 (Asin),  $X_4$ : 花の高さ (cm),  $X_5$ : 花の深さ (cm)) .

## 受粉不良の穎花の割合と発芽不十分の穎花の割合

開花後の柱頭上の受粉花粉数が 10 粒未満の穎花の割合と柱頭上での発芽花粉数が 5 粒未満の穎花の割合は、よく一致し ( $Y = 1.028X + 0.1687$ ,  $Y$ : 柱頭上での発芽花粉数が 5 粒未満の穎花の割合の  $Asin$  変換値,  $X$ : 柱頭に付着した花粉の数が 10 粒未満の穎花の割合の  $Asin$  の変換値,  $R^2 = 0.8202$ ). このことから、インドのような極高温環境下でも、花粉の発芽不良が主に受粉の不良によっていることがわかった。

## 稔実と稔実にかかわる要因

気温が高かった 5 月 14 日, 15 日の不稔率は 5 月 7 日 9 日より有意に高かった。また有意な品種間差異が認められた。

インドにおける試験では、発芽花粉数と稔実との間には相関関係が認められたが、その関係は品種によって異なった。すなわち、柱頭上での発芽花粉数 10 粒未満の穎花の割合が不稔率とよく一致する品種 (3 品種以上), 柱頭上での発芽花粉数が 2~5 粒未満の穎花の割合が不稔率とよく一致した品種 (3 品種以上), 不稔率が高いが、柱頭上の花粉の発芽と関係が認められない品種 (3 品種以上) が存在した。

## インドでの実験のまとめ

インドでの実験の結果から以下のことが明らかにされた。

1. 最高気温が連日 40 を超えるような超高温水田でも受粉の安定性は最高気温とイネの形、すなわち、葯基部の裂開、花の高さ、花の深さによりよく説明できた。
2. 超高温条件下での稔実に必要な発芽花粉数には品種間差異が認められ、高温条件下での稔実に必要な発芽花粉の数は高温耐性にかかわる形質のひとつと考えられた。

## まとめ

湿潤高温の中国、乾燥超高温のインドでの実験の結果から、以下の結論を得た。

1. 高温と弱風に関連した受粉不良が高温不稔の直接の原因のひとつであることがわかった。
2. 両国でのデータについての回帰分析の結果から、葯基部の裂開長については、100  $\mu m$  拡大することで、最大 4~9% 程度、受粉不良穎花の割合を減らすことができるかと推察された。
3. 穂の高さについては、10 cm 低くすることで最大 10% 程度受粉不良穎花の割合ないしは不稔の発生を減らすことができる

と考えられた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

Qilin Mu, Wenying Zhang, Yunbo Zhang, Haoliang Yan, Ke Liu, Tsutomu Matsui, Xiaohai Tian and Pingfang Yang. 2017 iTRAQ-Based Quantitative Proteomics Analysis on Rice Anther Responding to High Temperature. International Journal of Molecular Sciences 18: 1811-. doi:10.3390/ijms18091811.

Haoliang Yan, Binglin Zhang, Yunbo Zhang, Xinlan Chen<sup>1</sup>, Hui Xiong, Tsutomu Matsui and Xiaohai Tian 2017. High Temperature Induced Glume Closure Resulted in Lower Fertility in Hybrid Rice Seed Production. Frontiers in Plant Sciences doi: 10.3389/fpls.2016.01960

Ling Zhao, Zhen Zhu, Xiaohai Tian, Kazuhiro Kobayashi, Toshihiro Hasegawa, Yadong Zhang, Zhide Chen, Cailin Wang, Tsutomu Matsui. 2016. Inheritance analysis of anther dehiscence as a trait for the heat tolerance at flowering in japonica hybrid rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica (6月) 211(3); 311-320

Ling Zhao, Chun-Fang Zhao, Li-Hui Zhou, Jing Lin, Qing-Yong Zhao, Zhen Zhu, Tao Chen, Toshihiro Hasegawa, Tsutomu Matsui, Cai-Lin Wang. 2016. QTL mapping of dehiscence length at the basal part of thecae related to heat tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) Euphytica 209, 715-723

Tazib, T., Kobayashi, Y., Koyama, H., Matsui, T. 2015. QTL analyses for anther length and dehiscence at flowering as traits for the tolerance of extreme temperatures in rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica 203:629-642. DOI 10.1007/s10681-014-1291-1

Matsui, T., Kobayashi, K., Nakagawa, H., Yoshimoto, M., Hasegawa, T., Reinke, R., Angus, J. 2014.

Lower-Than-Expected Floret Sterility of Rice under Extremely Hot Conditions in a Flood-Irrigated Field in New South Wales, Australia. Plant Prod. Sci. 17: 245-252.

〔学会発表〕(計 2 件)

Aung Win, Takashi Tanaka, Tsutomu Matsui The Difference in Stability of Rice Pollination due to Canopy Microclimate and Panicle Angle. 日本作物学会 245 回講演会 2018 年

小林和広, 藤原宏行, 石丸努, 吉本真由美, 長谷川利拡, 松井勤. フィリピンでの雨季と乾季における水稲 IR64 の開花時刻に及ぼす気象の影響 日本作物学会第 243 回講演会 2017 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松井 勤 (MATSUI, Tsutomu)  
岐阜大学・応用生物科学部・教授  
研究者番号：70238939

### (2) 研究分担者

長谷川 利拡 (HASEGAWA, Toshihiro)  
国立研究開発法人農業食品産業研究機構・東北農業研究センター室長・調整監・センター長等  
研究者番号：10228455

吉本 真由美 (YOSHIMOTO, Mayumi)  
国立研究開発法人農業食品産業研究機構・農業環境変動研究センター・主席研究員  
研究者番号：40343826

小林 和広 (KOBAYASHI, Kazuhiro)  
島根大学・生物資源科学部・准教授  
研究者番号：90234814

石丸 努 (ISHIMARU, Tsutomu)  
国立研究開発法人農業食品産業研究機構・北陸農業研究センター・主任研究員  
研究者番号：40414635

### (3) 研究協力者

田小海 (TIAN, Xiaohai)

Norvie L. Manigbas