

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450030

研究課題名(和文) 水稻の耐冷性QTLの作用機構の解析

研究課題名(英文) Action mechanism of QTLs for cold tolerance in rice

研究代表者

福島 陽 (FUKUSHIMA, akira)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・東北農業研究センター水田作研究領域・上級研究員

研究者番号：00414813

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：東北地域における冷水温条件では、花粉数が多い品種は稔実率が高い傾向が認められた。耐冷性QTLのqCTB8を保有する系統は、花粉数が多く、稔実率が高かったが、耐冷性QTLのCtb1を保有する系統は、稔実率を高める効果が認められなかった。北海道における小孢子初期の低温処理試験では、Ctb1・Ctb2およびqCTB8を保有する系統は、花粉数が多く、稔実率が高い傾向が認められた。以上のように、耐冷性QTLは、花粉数の増加を介して稔実率を高めることが多かったが、個々の耐冷性QTLの効果は小さかった。

研究成果の概要(英文)： In Tohoku region of Japan, as the number of pollen grains per anther decreased, the spikelet fertility decreased in cold water treatments. Lines with QTL for cold tolerance, qCTB8 indicated the larger number of pollen grains and the higher spikelet fertility. However, lines with QTL for cold tolerance, Ctb1 did not. In Hokkaido region, on the other hand, lines with QTL for cold tolerance, Ctb1・Ctb2 and qCTB8 indicated the larger number of pollen grains and the higher spikelet fertility in cold treatment at the young microspore stage. QTLs for cold tolerance increased cold tolerance by increasing the number of pollen grains in many cases, although the effect of individual QTL for cold tolerance was not large.

研究分野：作物学・育種学

キーワード：水稻 耐冷性 花粉数 QTL

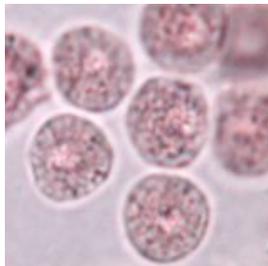
1. 研究開始当初の背景

北海道や東北地域の水稲栽培においては、穂孕み期（出穂前約10日間）の低温によって花粉が障害を受け不稔となる障害型冷害を克服することが大きな課題である。長年の水稲育種により品種の耐冷性は強化されている。しかしながら、1993年に代表される低温年には減収がおこっており、高度耐冷性品種の育成が望まれている。

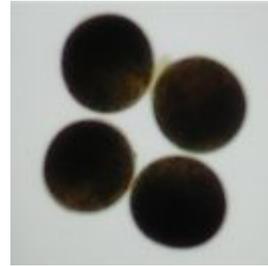
イネの耐冷性は複数の遺伝子が関与している量的形質（Quantitative Trait）であると考えられている。量的形質に寄与する遺伝子座をQTL (quantitative trait locus) と呼ぶ。分子遺伝学の発達により、DNA配列をマーカーとした染色体断片置換系統群が作製され、これらを用いて目的形質の遺伝子座がどの染色体部位にあるかを明らかにするQTL解析が行われるようになり、耐冷性に関するQTLも多数見いだされてきた。耐冷性育種を加速する方法として、耐冷性QTLをDNAマーカー選抜によって東北や北海道の主要品種に効率的に導入することが挙げられる。しかし、現在のところ耐冷性QTLを導入しても大きな効果がみられない事例が多く報告されており、耐冷性QTLがどのような作用機構によって耐冷性を強化しているかを明らかにすることが急務となっている。

2. 研究の目的

Satake and Shibata (1992) は、耐冷性を4つの受精構成要素 [分化小胞子数 (小胞子; 花粉の発育のごく初期の段階)、発育花粉歩合、受粉歩合、柱頭上花粉の受精効率] に分けて評価することを提案し (図1)、分化小胞子数、発育花粉歩合、受粉歩合の3要素によって低温区の稔実歩合の約80%が説明されるとしている。その中でも発育花粉歩合が最も影響力が高いと考察しているため、本研究では、調査が簡便でかつ調査事例も多い花粉数 (=分化小胞子数 × 発育花粉歩合) に着目した。(1) 東北地域においては、耐冷性検定圃場を利用して耐冷性遺伝資源および耐冷性QTL保有系統について花粉数と稔実歩合の関係を明らかにする。(2) 北海道においては、低温も最も弱い小胞子初期に限定した低温処理を行い、耐冷性QTL保有系統について花粉数と稔実歩合の関係を明らかにする。



小胞子の形成



充実花粉の形成



花粉の飛散・受粉



花粉の発芽・受精

図1 低温による不稔に関する発育過程

3. 研究の方法

(1) 東北地域の水稲品種・系統における花粉数と稔実率の関係

東北地域の主要品種の「まっしぐら」、「あきたこまち」、「ひとめぼれ」、「ふくひびき」、インド型品種間の交雑から早生で稈が短く耐冷性の優れた系統を選抜した「羽系 898」、「羽系 965」、中国雲南省の耐冷性品種「麗江新団黒谷」、麗江新団黒谷」に由来する耐冷性QTL; qLTB3

(Shirasawa et al., 2012) を3回の戻し交配によって「ひとめぼれ」に導入した耐冷性系統「奥羽 415号」、中国雲南省の耐冷性品種「昆明小白谷」に「ひとめぼれ」を1回戻し交配した耐冷性系統「羽系 855」、耐冷性QTL; qCTB8 (Kuroki et al., 2007) およびCtb1 (Saito et al., 2001) を保有する「北海 IL3号」に「ふくひびき」を2回戻し交配したFK81 (qCTB8有、Ctb1有)、FK80 (qCTB8有、Ctb1無)、FK01 (qCTB8無、Ctb1有)、FK00 (qCTB8無、Ctb1無) を供試した。2013年および2014年に7月1日~8月31日の間、水温19.3 および18.5 に設定した耐冷性検定圃場、および一般圃場において供

試材料を栽培した。出穂期に穎花（イネの花、
 糊の部分）を採取・固定し、ヨウ素ヨウ化カリ
 ウム溶液で染色した後に、葯長、葯当たりの花
 粉数（澱粉粒が発達して濃く染色された花粉）
 を計測した。成熟期以降に稔実率を調査した
 (図2)。図3に「ひとめぼれ」に関して、花粉
 の様相を示した。

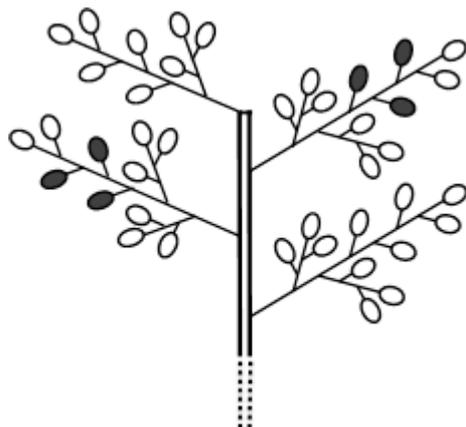


図2 水稻の穂の模式図
 灰色の穎花の花粉数および稔実率を調査

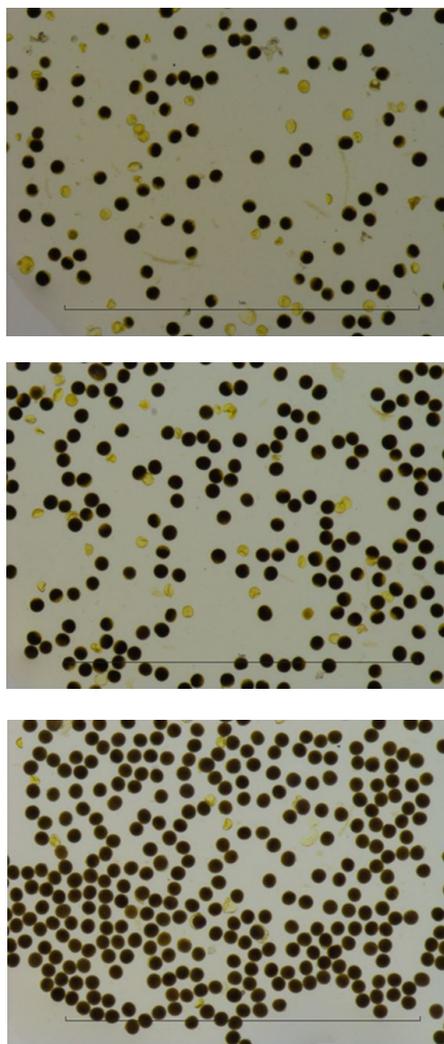


図3 水稻品種「ひとめぼれ」の花粉
 順に、18.5、19.5、一般圃場

(2)北海道における耐冷性 QTL 保有系統の花粉
 数と稔実率の関係

東北地域では耐冷性検定圃場を利用した約 1
 ヶ月間にわたる長期の低温処理によって受精構
 成要素全体を包括する試験を行った。北海道で
 はイネが最も低温に弱い小孢子初期の低温に対
 する耐冷性 QTL の効果を調べた。

材料として、「北海 287 号」、「ほしのゆめ」お
 よびこれらに耐冷性 QTL を導入した NIL (Near
 isogenic line ; 準同質遺伝子系統) を用いた。
 NIL は、「北海 287 号」に Ctb1・Ctb2 (Saito et
 al., 2001) を導入した「北海 IL1 号」、qCTB8 を
 導入した「北海 IL2 号」、そして「ほしのゆめ」
 に Ctb1 と qCTB8 を導入した「北海 IL3 号」、
 Ctb1・Ctb2、qCTB8、qFLT6 (須藤ら 2000) の
 4 つを導入した「北海 IL4 号」の 4 系統を供試
 した。Ctb1 と Ctb2 は密接にリンクしているた
 め、同時に導入された場合は Ctb1・Ctb2 と記載
 されている (Saito et al., 2001)。

ステージの揃った材料を得るため主茎のみを
 残してポット栽培し、特定穎花（上位 3 枝梗の
 3、4、5 番目の穎花）が小孢子初期である時期
 に 12、3 日間の低温処理を行い、葯長、稔実率
 および葯当たりの花粉数を計測した。

4. 研究成果

(1) 東北地域の水稲品種・系統における花粉
 数と稔実率の関係

東北地域における主要品種および耐冷性系統
 について調査したところ、葯長が長いほど花粉
 数が多いという関係が品種や栽培条件を通じて
 認められた(図4)。また、水温 18.5、水温
 19.3 のいずれにおいても、花粉数が少ないと
 稔実率が低下した(図5、表1)。このように、
 花粉数と稔実率との間に有意な正の相関関係が
 認められたことは東北地域の品種を用いた従来
 の報告 (Nakamura et al., 2000) とほぼ一致す
 るものであった。耐冷性 QTL : qLTB3 を保有する
 「奥羽 415 号」は「ひとめぼれ」と比較して、
 18.5 の極低水温条件における花粉数がやや多
 く、稔実率がやや高かったが、これが qLTB3 の
 効果によるものであるかを判断することは難し
 かった。水温 18.5 の条件において、「麗江新
 団黒谷」が最も花粉数が多く、「羽系 855」が最
 も稔実率が高かった。「羽系 855」は、花粉数当
 たりの稔実率が高いことから新たな遺伝資源と
 して注目される。19.3 の低水温条件で花粉数
 が多い品種系統は、大まかには、一般圃場にお
 いても花粉数が多かった(図6)。したがって、
 一般圃場において葯長あるいは花粉数を測定す
 れば、耐冷性を評価できる可能性がある。

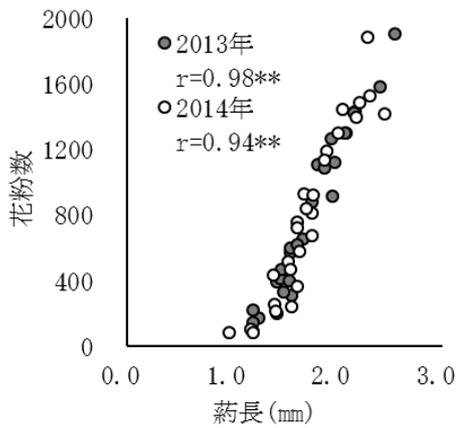


図4 葯長と花粉数の関係

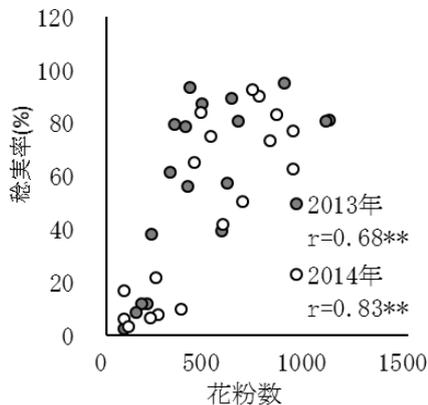


図5 花粉数と稔実率の関係

表1 冷水温が水稲品種・系統の花粉数および稔実率に及ぼす影響。

	一般圃場		水温19.5		水温18.5	
	花粉数	花粉数	稔実率 (%)	花粉数	稔実率 (%)	
まっしぐら	1156	323	38.9	228	9.8	
あきたこまち	1281	154	27.4	128	9.0	
羽系898	1458	589	49.6	470	24.7	
羽系965	1498	733	77.1	495	56.0	
麗江新団黒谷	1893	1006	79.1	1016	72.1	
奥羽415号	1348	656	85.4	455	76.9	
ひとめぼれ	1373	544	86.7	385	72.3	
羽系855	1473	803	94.0	587	91.7	
ふくひびき	1025	181	7.6	98	2.8	

耐冷性 QTL ; qCTB8 および Ctb1 の有無が花粉数および稔実率に及ぼす影響を調査したところ、qCTB8 を保有する系統は水温 19.3 度の条件において葯長、花粉数が多く、稔実率が高かった (表 2)。また、qCTB8 を保有する系統は出穂期が遅く、稈長が長かった。Ctb1 の有無は葯長、花粉数および稔実率に影響を及ぼさなかった。Saito ら (2004) は、耐冷性 QTL ; Ctb1 を保有する系

統は葯長が長く、耐冷性に優れることを報告している。結果の相違の原因としては、栽培環境の違い、あるいは遺伝的背景の違いが挙げられる。

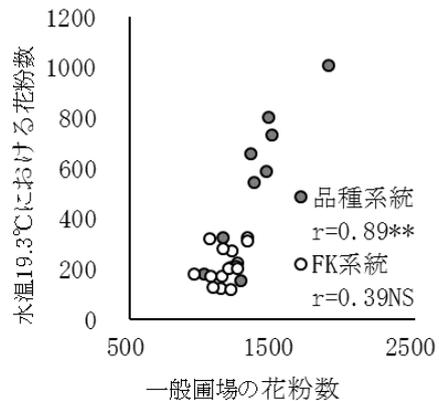


図6 一般圃場の花粉数と水温 19.3 における花粉数の関係

表2 耐冷性 QTL : qCTB8 および Ctb1 の有無が花粉数および稔実率に及ぼす影響

	qCTB8	Ctb1	葯長 (mm)	花粉数	稔実率 (%)
ふくひびき	無	無	1.41	218	6.7
FK81	有	有	1.44	266	19.3
FK80	有	無	1.42	225	25.6
FK01	無	有	1.28	161	4.3
FK00	無	無	1.23	132	4.2
qCTB8			**	*	**
ctb1			NS	NS	NS
交互作用			NS	NS	NS

** , * , NS : 分散分析において、5%水準で有意、1%水準で有意、有意差なしをそれぞれ示す。

(2) 北海道における耐冷性 QTL 保有系統の花粉数と稔実率の関係

「北海 287 号」の NIL である「北海 IL1 号」、「北海 IL2 号」、および、「ほしのゆめ」の NIL である「北海 IL3 号」は、常温において親品種に対して葯長が増加する傾向が見られた。しかし、「ほしのゆめ」のもうひとつの NIL である「北海 IL4 号」ではほとんど変化が見られなかった。導入した QTL との関係を整理すると、「北海 IL4 号」を除いて、Ctb1 または qCTB8 を保有する系統では葯長が増加したと考えられた。qCTB8 を保有する系統は葯長が長いという結果は「ふくひびき」に導入した試験と一致した。しかし、Ctb1 については東北と北海道とは異なる結果となった。

次に、小孢子初期の低温が花粉数および稔実率に及ぼす影響を「ほしのゆめ」、「北海 IL3 号」、「北海 IL4 号」を用いて調査した。

低温区の稔実率は「北海 IL3 号」、「北海 IL4 号」とともに「ほしのゆめ」より高かった。「北海 IL4 号」の稔実率は「北海 IL3 号」よりも高く、育成地の耐冷性検定圃場において「北海 IL4 号」は「北海 IL3 号」よりも耐冷性が高いという試

験結果と一致した。

常温においては、「北海 1L3 号」と「北海 1L4 号」はともに「ほしのゆめ」に比べて花粉数が多い傾向がみられた。一方、低温区ではこの 2 つの NIL は異なる傾向を示し、「北海 1L3 号」は低温による花粉数の減少程度が小さかったのに対して「北海 1L4 号」は「ほしのゆめ」並みに減少した。

小孢子初期はもっとも低温に感受性が高く (Hayase et al., 1969)、このステージの低温によって花粉数が激減する (Satake 1990)、花粉数の減少は稔実歩合の低下をよく説明する (Satake and Shibata 1992) ことから、「北海 1L3 号」では、Ctb1 と qCTB8 によって小孢子初期の耐冷性が高まり、受精構成要素については発育花粉歩合が向上したため、小孢子初期に行った低温処理による花粉数の減少程度が小さくなったと考えられた。「北海 1L4 号」は Ctb1 と qCtb8 を保有するにも関わらず低温によって花粉数は減少したものの「北海 1L3 号」よりも低温区の稔実率が高かった。このことは発育花粉歩合とは別に稔実率を高める要因があることを示唆している。

Satake and Shibata (1992) は 3 番目の要素である受粉歩合は分化小孢子数や発育花粉歩合とは独立して稔実率に関与すると報告している。さらに、4 番目の要素である柱頭上花粉の受精効率に関連して、Hayashi ら (2006) は、小孢子初期の低温処理によって、正常に発育したように見える花粉の発芽率が低下することを報告している。今後「北海 1L4 号」の耐冷性について、花粉数に加えて受粉歩合や花粉の発芽能力などについても詳細に調査する必要があると考えられた。

以上のように、「北海 287 号」と「ほしのゆめ」の NIL では Ctb1 と qCTB8 を保有することによって、葯長と花粉数および花粉発育歩合が向上して耐冷性が高まったと考えられた。一方、qFLT6 は花粉発育歩合とは別の要因に作用する可能性が示唆された。これらの結果をまとめて論文として発表する予定である。

(3) まとめ

東北地域および北海道の研究結果を通じてみると、耐冷性 QTL には、花粉数の増加を介して稔実率は向上する作用が認められた。しかし、個々の耐冷性 QTL の効果は大きくなく、耐冷性 QTL を導入あるいは集積しても、花粉数が増加しない場合、あるいは稔実率が増加しない場合も認められた。今後は、より効果の高い耐冷性 QTL、および花粉の発芽力などの花粉数以外の要因に関与する耐冷性 QTL を検索することが重要であろう。

<引用文献>

Hayase, H., Satake, T., Nishiyama, I., and Ito, N. 1969. Male sterility caused by cooling treatment at the meiotic stage in rice plants: II. The most sensitive stage to cooling and the fertilizing ability of

pistils. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 38: 706-711.

Hayashi, T., Yamaguchi, T., Nakayama, K., Komatsu, S. and Koike, S. 2006. Susceptibility to coolness at the young microspore stage under high nitrogen supply in rice (*Oryza Sativa* L.). Proteome analysis of mature anthers. Plant Prod. Sci. 9:212-218.

Kuroki, M., Saito, K., Matsuba, S., Yokogami, N., Shimizu, H., Ando, I. and Sato, Y. 2007. A quantitative trait locus for cold tolerance at the booting stage on rice chromosome 8. Theor. Appl. Genet. 115:593-600.

Nakamura, T., Chiba, M., Koike, S. and Nishiyama, I. 2000. Number of pollen grains in rice cultivars with different cool-weather resistance at the young microspore stage. Plant Prod. Sci. 3:299-305.

Saito, K., Hayano-Saito, Y., Maruyama-Funatsuki, W., Sato, Y., and Kato, A. 2004. Physical mapping and putative candidate gene identification of a quantitative trait locus Ctb1 for cold tolerance at the booting stage of rice. Theor. Appl. Genet. 109:515-22.

Saito, K., Miura, K., Nagano, K., Hayano-Saito, Y., Araki, H. and Kato, A. 2001. Identification of two closely linked quantitative trait loci for cold tolerance on chromosome 4 of rice and their association with anther length. Theor. Appl. Genet. 103:862-868.

Satake, T. 1991. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants: XXX. Relation between fertilization and the number of engorged pollen grains among spikelets cooled at different pollen developmental stages. Jpn. J. Crop Sci. 60: 523-528.

Satake, T. and Shibata, M. 1992. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXXI. Four components participating in fertilization. Jpn. J. Crop Sci. 61: 454-462.

Shirasawa, S., Endo, T., Nakagomi, N., Yamaguchi, M. and Nishio, T. 2012. Delimitation of a QTL region controlling cold tolerance at booting stage of a

cultivar, 'Lijiangxintuanheigu', in rice, *Oryza sativa* L. *Theor Appl Genet.* 124:937-946.

須藤充、川村陽一、春原嘉弘、矢野昌裕 2000
イネの第6染色体上に検出された耐冷性に関するQTL. *育種学研究 2 (別2)* :45

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

福島陽, 林高見, 太田久稔, 梶亮太, 津田直人 2015. 東北地域の水稲品種・系統における花粉数と耐冷性の関係. *日本作物学会東北支部会報* 58:19-20. 査読無.
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110010022768>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福島 陽 (FUKUSHIMA, Akira)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・東北農業研究センター水田作研究領域・上級研究員
研究者番号: 00414813

(2) 研究分担者

林 高見 (HAYASHI, Takami)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・北海道農業研究センター作物開発研究領域・上級研究員
研究者番号: 00355281