

# 福岡県農業総合試験場特別報告

第32号

---

高温条件における水稲の生育予測，生育診断  
および品質向上に関する研究

---

平成23年3月

福岡県農業総合試験場

(福岡県筑紫野市大字吉木)

**SPECIAL BULLETIN**  
**OF**  
**THE FUKUOKA AGRICULTURAL RESEARCH CENTER**  
**NO. 32**

Studies on Growth Prediction, Diagnosis and Quality Improvement in  
Rice Plants under High Temperature Conditions

by  
Kohei Tanaka

**THE FUKUOKA AGRICULTURAL RESEARCH CENTER**

**Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan**

**March 2011**

高温条件における水稻の生育予測，生育診断  
および品質向上に関する研究

田中 浩平

2011

\*九州大学 審査学位論文



## 序

水稲は本県のみならず我が国における基幹的な作物であるが、近年、収量、品質が不安定な状況にある。その要因として、最近の気象変動、特に気温の上昇があげられ、暖地に位置する本県では高温に伴う水稲生育の変化や収量、品質の低下が極めて重要な問題となっている。

本研究は、高温条件における水稲の収量、品質の安定化を目的として、生育予測や生育診断、品質向上技術を検討したものである。気温上昇に伴う生育ステージの変化を解析し、温暖化に対応した生育予測、診断法を明らかにした。さらに、水稲登熟期の高温が米の品質におよぼす影響について、水分生理学や形態学、分子生物学的観点から明らかにした。これらの知見は高温条件下での水稲高品質安定生産や品種育成に有用かつ効果的な成果であることから、ここに特別報告として公表することとした。これらの研究成果は、水稲の収量の安定化や品質向上に貢献するとともに、本県における水田作経営の改善に大きく寄与することが期待される。

なお、本研究は福岡県農業総合試験場において 1988～1996 年に実施した試験成績と、九州大学大学院生物資源環境科学府において 2006～2009 年に実施した試験成績をとりまとめたものである。

本研究の遂行にあたり、御指導、御鞭撻を頂いた九州大学大学院教授井上眞理博士、同教授筑紫二郎博士ならびに同准教授湯淺高志博士に厚くお礼を申し上げます。

平成 23 年 3 月

福岡県農業総合試験場長

松江 勇次

## 目 次

|   |    |
|---|----|
| 緒 言   | 1  |
| 第1章 水稻品種‘コシヒカリ’における生育予測モデルおよび移植, 成熟早限期予測図の作成            | 2  |
| 第2章 水稻湛水直播栽培における品種と播種期の組み合わせによる作期幅拡大                    | 13 |
| 第3章 水稻品種‘ヒノヒカリ’における収量, 食味向上のための窒素栄養診断                   | 20 |
| 第4章 高温耐性水稻品種の <sup>1</sup> H-NMR法による登熟期の籾水分動態解析         | 28 |
| 第5章 登熟期の高温が高温耐性の異なる水稻品種の籾水分動態や内部形態, 玄米外観品質, 理化学特性に及ぼす影響 | 34 |
| 第6章 水稻‘初星’, ‘ふさおとめ’の遺伝子発現における高温ストレスの影響                  | 45 |
| 総合考察  | 54 |
| 摘 要   | 56 |
| 謝 辞   | 58 |
| 引用文献  | 59 |
| Summary   | 66 |

## 緒言

九州は日本の南西部に位置し、九州北部の福岡市における年間平均気温は 16.6℃で温暖な気候である。水稲は熟期の異なる数品種を用いることで 4 月から 6 月に移植し、8 月から 11 月に収穫することが可能である。水稲の生育期間にあたる 7 月から 9 月の日平均気温は 24-28℃であるが、近年は温度が上昇する傾向にある。水稲の生産において、収量と共に品質は重要な項目であるが、最近の福岡県における玄米検査等級は過去に比較して顕著に低下しており、品質向上技術の確立が急務である。一方、水稲の安定生産や労力軽減のため作期幅の拡大が求められており、高温条件下における水稲の生育予測法や省力的な直播栽培技術の確立が求められている。

温度は植物が生長、生殖するために最も重要な要因の一つである。植物の生長には最適温度があり、環境ストレスや適正な温度幅を超えた温度に遭遇すると障害を受けることになる (Dunn ら, 1999)。水稲は高温条件になると生育が早くなり、栽培可能期間が広がる (Katayama, 1995)。水稲の玄米品質は温度の影響を強く受け、特に登熟期間の気温は玄米品質に及ぼす影響が大きい (松江 1995, Chen・Zhong 2001)。福岡県では多数の品種が広い作期で栽培されていることから、本研究前半では、その目的を、1) 水稲品種‘コシヒカリ’の早期栽培における出穂、成熟予測のための生育予測モデルの作成と福岡県全域における移植、成熟早限期予測図の作成、2) 水稲湛水直播栽培において、熟期の異なる品種と播種期の組み合わせによる作期幅拡大、3) 水稲品種‘ヒノヒカリ’における窒素吸収量と玄米窒素含有率、食味向上との関係解明とした。

高温は不稔の発生や収量の減少、背白粒や基白粒の発生を引き起こす (Funaba ら 2006, Tanaka ら 2009)。また、高温は登熟速度を速めるが登熟期間を短縮し、デンプンの充実が不十分になり収量を減少させる。さらに、高温は白濁米の発生を増加させる (Resurreccion ら 1977, Lisle ら 2000)。水稲子実中の水分動態は重要な役割を果たしており (Kamst ら 2002)、子実の胚乳におけるデンプンの物性は、水分の減少や転流した同化産物の蓄積に伴って液状から糊状にゆっくりと変化する (Horigane ら, 2001)。木本植物種子の登熟期間における水分動態は、<sup>1</sup>H-NMR (核磁気共鳴法) を用いて観測されたスピン-格子緩和時間 ( $T_1$ ) とスピン-格子緩和時間 ( $T_2$ ) から示すことができる (Iwaya-Inoue ら, 2001)。生物組織中の水分動態は、生細胞の生理的活性や物質交替活性を反映していると考えられ、熱や冷却ストレスに曝された植物組織における NMR 緩和時間の変化が報告されている (Iwaya-Inoue ら 1993, 2004a, 2004b, Kaku 1993, Maheswari ら 2001)。これらのことから、NMR 法は登熟期間において異なった温度に置かれた子実の水分状態の特性を、感度良く直接的に把握することができると期待される。そこで、本研究後半では、その目的を、1) 登熟期間における玄米品質を <sup>1</sup>H-NMR 緩和時間の観測により早期に診断する可能性 2) 高温耐性の異なる品種における子実の水分状態や内部形態、理化学特性と高温耐性との関係解明とした。

さらに、高温に応答して一連の熱ショックタンパク質の発現レベルが上昇し、植物の生存や各種酵素の活性の安定性の維持に中心的な役割を果たしており、高温耐性が異なる小麦品種において *HSP27* の発現レベルが異なることが報告されている (Joshi ら, 1997)。水稲では全ゲノムが解読されたことで、代表的な熱ショックタンパクが公表された (International Rice Genome Sequencing Project, 2005)。そこで、水稲の高温耐性品種と高温感受性品種間での熱ショックタンパク発現の違いを検討し、半定量 RT-PCR 法で一連の熱ショックタンパク遺伝子の発現レベルを比較した。

# 第1章 水稲品種‘コシヒカリ’における生育予測モデルおよび移植、成熟早限期予測図の作成

## 1.1 緒言

水稲極早生品種‘コシヒカリ’は良食味であるが、九州の普通期栽培(6月移植)では耐倒伏性が劣り収量が不安定である。早期栽培(4月移植)では、耐倒伏性が向上し収量が安定する(尾形ら, 1988)ことから、福岡県では4月中旬から5月上旬移植の早期栽培が増加した。‘コシヒカリ’の生育ステージは中生品種に比較して毎年の変動が大きいいため、生育ステージを正確に予測する必要がある。Horie・Nakagawa (1990) は、発育指数(Developmental Index, DVI)を用いて水稲の生育予測を行う生育モデルを考案した。このモデルを用いた水稲品種‘日本晴’の出穂期予測精度は、従来の方が6.5日であるのに対し3.5日の高い精度が得られた。

一方、1kmメッシュ気候値(岡村, 1987)が整備され、森ら(1987)はこのデータを用いて広島県における水稲の出穂期と成熟期の平年値を算出した。さらに、清野(1993)はGIS(地図情報システム)とAMeDAS(地域気象観測システム)を用いて、1kmメッシュ単位で日本全域における毎日の平均気温を推定するシステムを作成した。

この章では福岡県農業総合試験場で栽培された‘コシヒカリ’のデータから出穂期と成熟期を予測するモデルを作成し、このモデルを用いて福岡県内各地で栽培された‘コシヒカリ’の生育予測を行い予測精度の検証を行った。さらに、このモデルと1kmメッシュ気候値を用いて、福岡県における‘コシヒカリ’の移植および成熟早限期予測図を作成した。

## 1.2 材料および方法

### 1.2.1 供試材料

試験は1988-1992年の5か年、福岡県農業総合試験場(福岡県筑紫野市)の水田で行った。供試品種は極早生の‘コシヒカリ’で、移植期は各年、4月4-25日、5月6-8日、6月8-10日の3水準とした。苗は3.0-3.5葉の稚苗を手植えし、栽植密度は条間30cm、株間15cmとした。水管理と防除は水稲の生育に応じて適宜実施した。肥料は、基肥として10a当たり窒素5kg、追肥として幼穂形成期および穂ばらみ期に各々窒素1.5kgを施用した。

### 1.2.2 解析方法

発育指数(de Witら 1970, Horie・Nakagawa 1990)の概念に基づいて、2次元ノンパラメトリックDVR(Developmental Rate)法(Takezawa・Tamura, 1991)を用いて移植期から出穂期の生育ステージに及ぼす気温や日長の影響を解析し、モデルを作成した(田中・大隈, 1991)。出穂期から成熟期については1次元ノンパラメトリックDVR法を用いて気温の影響を解析し、モデルを作成した。このモデルを用いて1989-1991年に福岡県内各地で栽培された‘コシヒカリ’の出穂、成熟期の予測を行い、予測精度を検証した。さらに、得られたデータを用いて福岡県全域における‘コシヒカリ’の移植および成熟早限期予測図を作成した。

## 1.3 結果

移植期から出穂期までの期間におけるDVRは、気温(DVR-T)と日長(DVR-L)共に直線状のカーブを示した(Fig. 1)。移植期から出穂期までの日数の標準偏差は12.8日であったが、このDVR-T

と DVR-L を用いて予測を行った場合の予測精度 (RMSE: root-mean-square error) は 3.1 日であった (Table 1). 出穂期から成熟期の期間における気温の DVR (DVR-T) も直線状で (Fig. 2), 出穂期から成熟期までの日数の標準偏差は 3.5 日であったが, この DVR-T を用いて予測を行った場合の予測精度は 2.9 日であった (Table 1). 1989 年は平年に比較して移植期から出穂期までの気温が低く推移したため (Fig. 3), 出穂期と成熟期は 5-7 日遅くなった. 一方, 1990 年は移植期から成熟期までの気温が平年よりもかなり高く, 出穂期と成熟期は 7-10 日早くなった. 1991 年は平年並の気温で経過し, 出穂期と成熟期は平年並であった. 現地の 42 圃場において, 移植期から出穂期のノンパラメトリック DVR 法による予測を行った場合の予測誤差は, 1989 年は 2.4 日, 1990 年は 2.5 日, 1991 年は 2.7 日であった. 1990 年の予測日は遅く, 1991 年の予測日は早く見積もられる傾向が認められた. 出穂期から成熟期の期間における予測誤差は, 1989 年は 2.2 日, 1990 年は 2.7 日, 1991 年は 2.6 日であった (Tables 2, 3, 4).

筑紫野市においてこれらの DVR モデルを用いて予測された移植期の日平均気温と成熟期との関係を示した (Fig. 4). 日平均気温が 12°C の時期に移植すると, 成熟期は 8 月 17 日になると予測された. 12°C 以下の時期に移植しても成熟期は早くならなかったことから, 筑紫野市における成熟期の早限は 8 月 17 日と判断された.

#### 1.4 考察

筑紫野市の福岡県農業総合試験場において 3 年間, 様々な時期に移植したデータからノンパラメトリック DVR 法を用いてモデルを作成し, このモデルを用いて福岡県内の 42 圃場において出穂期および成熟期の予測を行ったところ, 予測値と実測値の差はどちらも 2-3 日であった. この結果はこれまでの報告 (川方・岡田 1989, 石橋ら 1990) とほぼ同様の値であった. 異なった地域や移植期, 気温幅の大きい条件下にもかかわらず高い予測精度が得られたが, DVR 法は水稻の生理, 生態特性に基づいて予測を行う手法ではないことから, 外挿の場合は予測精度が低下すると考えられる. 予測誤差には一定の傾向が認められたことから, モデルの改良を行うことで予測精度が向上すると考えられるが, DVR モデルを改良するためには, さらに広い温度範囲や地域において得られたデータを集めて解析する必要がある. 水稻の栽植密度や生育量, 窒素施肥, 倒伏等も生育ステージに影響を及ぼすと考えられる. 予測精度向上のためには, このような要因が予測値に影響する程度を明らかにする必要がある.

葉齢 3.0-3.5 葉の水稻稚苗の活着最低温度 (日平均気温) は 12.0-13.0°C とされている (木根淵, 1969). 九州における水稻の移植最低温度は 12.1°C (梅木ら, 1986), 13.0°C (船場ら, 1989) の報告がある. 移植が早い場合には水稻に障害が発生することがあり, 活着限界における早植え栽培では収量が減少した (梅木ら 1986, 船場ら 1989). 本研究では DVR モデルを用いて平年の気象条件下における生育予測を行った結果, 移植早限期は日平均気温が 12°C を超える日であることが示されたが (Fig. 4), 低温による障害や減収の危険性を考慮すると, 現実的な移植早限期は日平均気温が 13°C を超える頃と考えられる. そこで, 日平均気温が 13°C を超える日を移植早限期として, 作成したノンパラメトリック DVR モデルと 1km メッシュ気候値を組み合わせ, 福岡県全域の移植期および成熟早限期予測図を作成した (Figs. 5, 6). この予測図から, 福岡県における移植早限期は福岡県南部では 4 月 6-10 日, 北部では 4 月 11-15 日で, 成熟早限期は南部では 8 月 8-13 日, 北部では 8 月 13-18 日であった (田中・原田, 1997).

しかし, この図は平年の気象条件における予測図で毎年の実況予測ではない. 毎年の実況値に

基づいた予測を行うためには、DVR モデルに毎日の気温データ(リアルタイム観測値)を組み合わせ  
て解析する必要がある。GIS(地図情報システム)と AMeDAS(地域気象観測システム)観測値から  
1km メッシュ単位で気温を予測すると毎年の予測が可能になる(田中ら 1994b, 1995)。Figures.  
5, 6 に福岡県全域における移植および成熟早限日を示したが、福岡県では多数の品種が多様な  
作期で栽培されている。今後、この解析法を用いて他の品種にも適用できるモデルを作成する必要が  
ある。

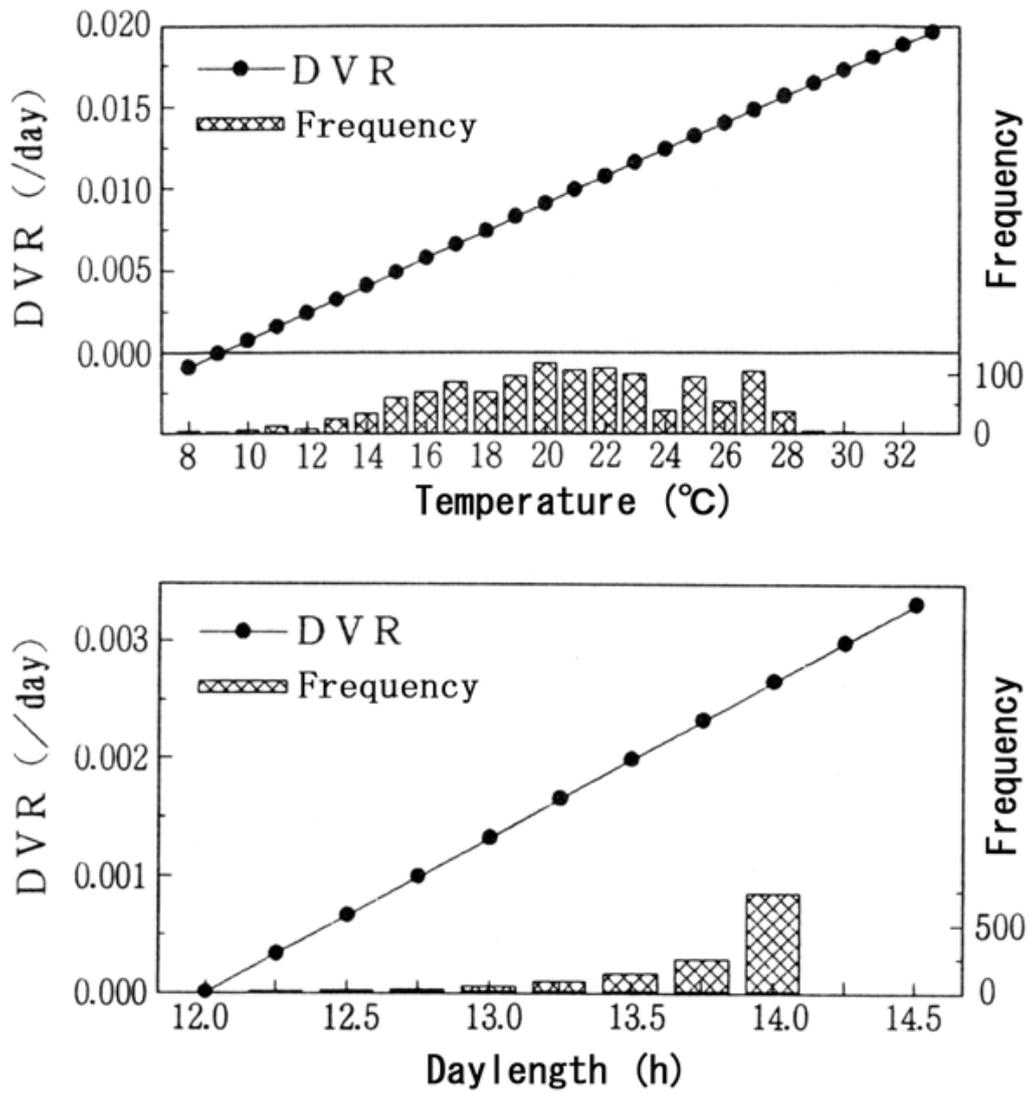


Fig. 1 DVR of heading from transplanting times of 'Koshihikari'.

Table 1 The error of estimate value at Fukuoka Agricultural Research Center Chikushino.

| Transplanting ~ Heading |      | Heading ~ Maturity |      |
|-------------------------|------|--------------------|------|
| Days                    | RMSE | Days               | RMSE |
| 12.8                    | 3.1  | 3.5                | 2.9  |

1) 1988 ~ 1992 year.

2) Days is standard deviation, RMSE is root-mean-square error.

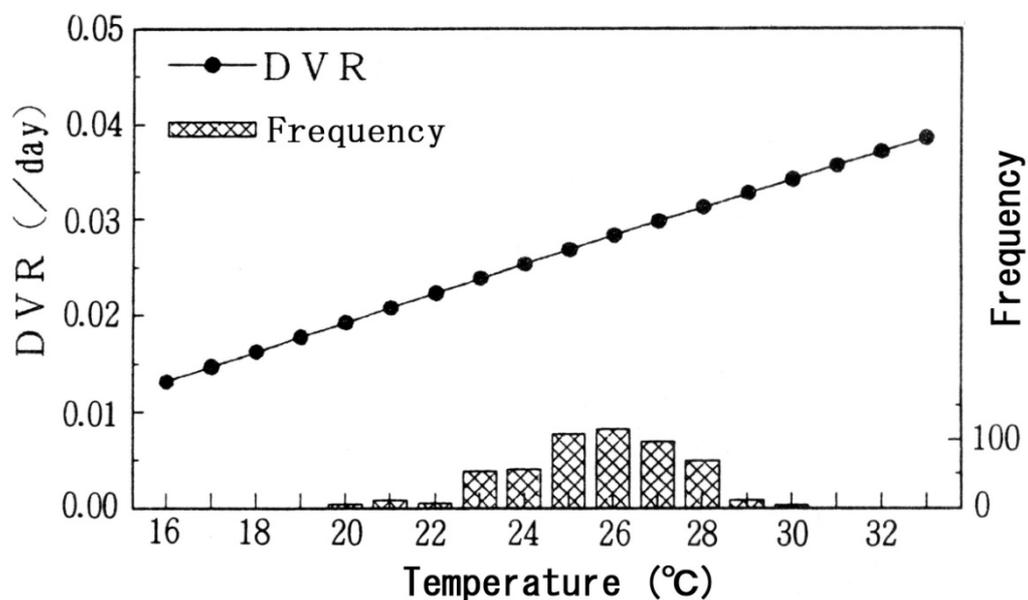


Fig. 2 DVR of maturity from heading times of 'Koshihikari'.

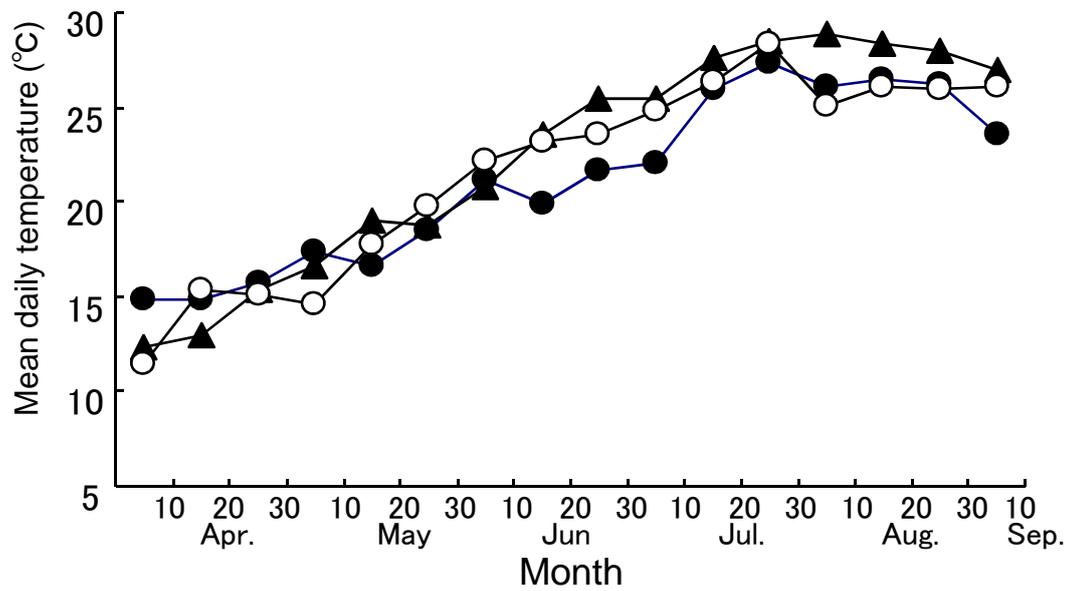


Fig. 3 Transition of mean daily air temperature from April to September in Dazaifu AMeDAS.  
 ● , 1989; ▲ , 1990; ○ , 1991.

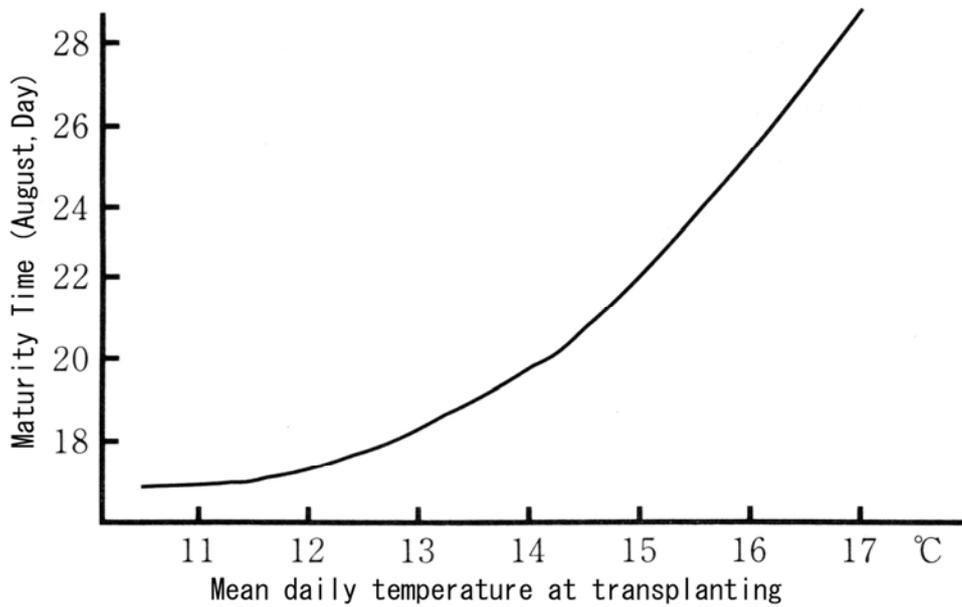


Fig. 4 Relation of mean daily temperature at transplanting and maturity time of 'Koshihikari'.

Table 2 Error of estimated value of heading time and maturity time in 1989 .

| Place          | Transplanting time | Estimated Heading time | Error of Estimated value | Estimated Maturity time | Error of Estimated time |
|----------------|--------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Ooki machi     | 4.25               | 7.19                   | -1                       | 8.22                    | +2                      |
| Mizuma machi   | 4.15               | 7.15                   | 0                        | 8.17                    | -2                      |
| Mizuma machi   | 4.24               | 7.19                   | -1                       | 8.22                    | +1                      |
| Hirokawa machi | 4.21               | 7.19                   | 0                        | 8.22                    | 0                       |
| Kurume city    | 4.25               | 7.21                   | -2                       | 8.26                    | +2                      |
| Kaho machi     | 4.27               | 7.28                   | +1                       | 9.4                     | +2                      |
| Shima machi    | 4.27               | 7.24                   | -3                       | 8.31                    | +3                      |
| Yukuhashi city | 4.25               | 7.24                   | +1                       | 8.27                    | 0                       |
| Munakata city  | 4.25               | 7.25                   | -1                       | 8.31                    | +5                      |
| Nakama city    | 4.15               | 7.18                   | -5                       | 8.26                    | -1                      |
| Nakama city    | 4.22               | 7.22                   | -3                       | 8.28                    | -2                      |
| Okagaki machi  | 4.17               | 7.20                   | -4                       | 8.28                    | 0                       |
| Shiida machi   | 4.25               | 7.24                   | -1                       | 8.29                    | +1                      |
| RMSE           |                    |                        | 2.4                      |                         | 2.2                     |

Investigation was carried out in Fukuoka Prefecture. Rice cultivar is 'Koshihikari'.

Abbreviation:RMSE ; root-mean-square error.

Table 3 Error of estimated value of heading time and maturity time in 1990 .

| Place          | Transplanting time | Estimated Heading time | Error of Estimated value | Estimated Maturity time | Error of Estimated time |
|----------------|--------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Takada machi   | 4.18               | 7.12                   | +1                       | 8.11                    | 0                       |
| Ooki machi     | 4.10               | 7.9                    | +1                       | 8.8                     | +1                      |
| Ooki machi     | 4.25               | 7.13                   | +1                       | 8.12                    | +1                      |
| Mizuma machi   | 4.5                | 7.9                    | 0                        | 8.9                     | +3                      |
| Mizuma machi   | 4.15               | 7.11                   | +1                       | 8.10                    | +1                      |
| Kurume city    | 4.5                | 7.9                    | 0                        | 8.9                     | +5                      |
| Kurume city    | 4.20               | 7.13                   | +2                       | 8.11                    | +2                      |
| Kaho machi     | 4.8                | 7.13                   | +1                       | 8.13                    | -2                      |
| Shima machi    | 4.9                | 7.13                   | +4                       | 8.10                    | -2                      |
| Yukuhashi city | 4.25               | 7.18                   | +5                       | 8.14                    | +1                      |
| Munakata city  | 4.14               | 7.14                   | 0                        | 8.15                    | +2                      |
| Munakata city  | 4.23               | 7.16                   | 0                        | 8.17                    | -1                      |
| Nakama city    | 4.10               | 7.11                   | -3                       | 8.14                    | -5                      |
| Nakama city    | 4.18               | 7.14                   | -2                       | 8.16                    | -5                      |
| Shiida machi   | 4.5                | 7.13                   | +5                       | 8.9                     | +1                      |
| Shiida machi   | 4.10               | 7.14                   | +2                       | 8.13                    | 0                       |
| RMSE           |                    |                        | 2.5                      |                         | 2.7                     |

Investigation was carried out in Fukuoka Prefecture. Rice cultivar is 'Koshihikari'.  
Abbreviation:RMSE ; root-mean-square error.

Table 4 Error of estimated value of heading time and maturity time in 1991 .

| Place          | Transplanting time | Estimated Heading time | Error of Estimated value | Estimated Maturity time | Error of Estimated time |
|----------------|--------------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Takada machi   | 4.20               | 7.15                   | -1                       | 8.19                    | +1                      |
| Ooki machi     | 4.10               | 7.9                    | +2                       | 8.10                    | +3                      |
| Ooki machi     | 4.25               | 7.15                   | -2                       | 8.19                    | +1                      |
| Mizuma machi   | 4.10               | 7.10                   | -3                       | 8.16                    | +1                      |
| Kurume city    | 4.7                | 7.10                   | -1                       | 8.14                    | +3                      |
| Kurume city    | 4.20               | 7.15                   | -1                       | 8.19                    | +1                      |
| Kaho machi     | 4.14               | 7.17                   | -4                       | 8.26                    | +3                      |
| Shima machi    | 5.2                | 7.22                   | -3                       | 8.30                    | +6                      |
| Yukuhashi city | 4.25               | 7.20                   | 0                        | 8.24                    | +1                      |
| Nakama city    | 4.11               | 7.13                   | -4                       | 8.20                    | -1                      |
| Nakama city    | 4.16               | 7.15                   | -6                       | 8.24                    | 0                       |
| Shiida machi   | 4.14               | 7.16                   | 0                        | 8.20                    | +4                      |
| Shiida machi   | 4.22               | 7.19                   | -1                       | 8.24                    | +1                      |
| RMSE           |                    |                        | 2.7                      |                         | 2.6                     |

Investigation was carried out in Fukuoka Prefecture. Rice cultivar is 'Koshihikari'.  
Abbreviation:RMSE ; root-mean-square error.

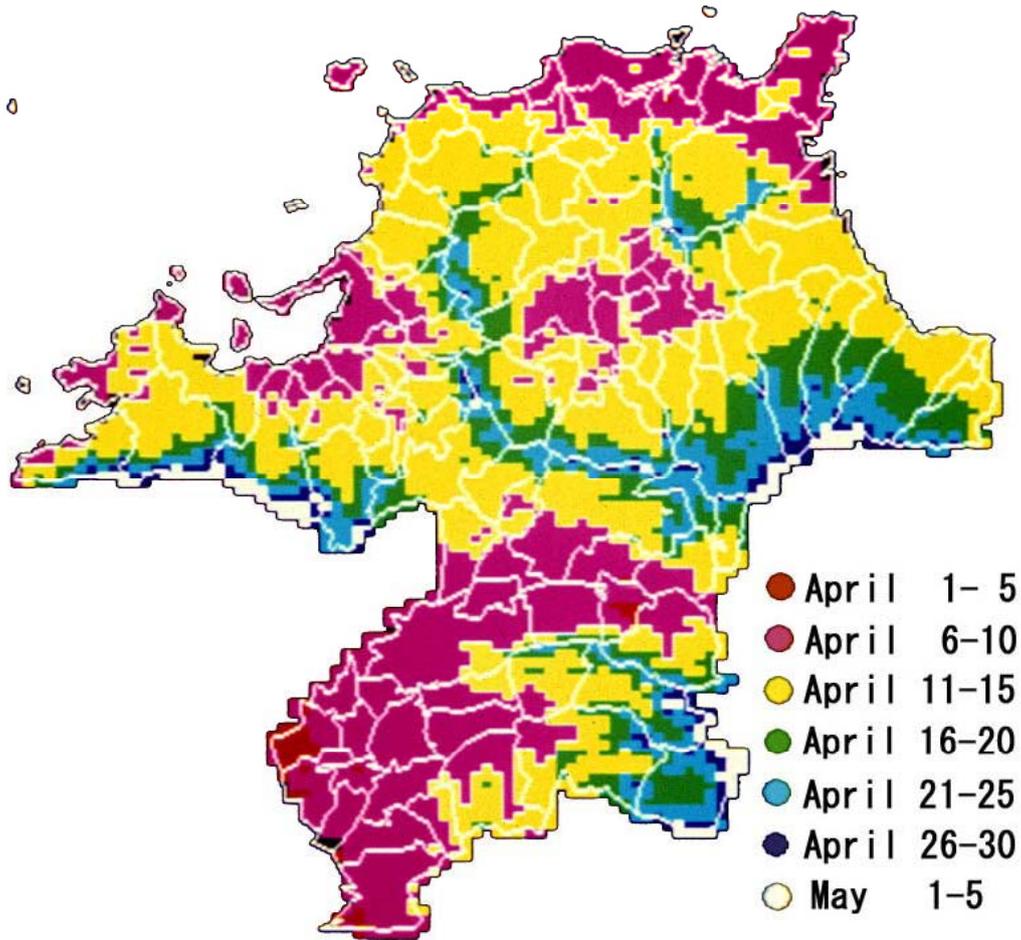


Fig. 5 The early limit map of transplanting time of 'Koshihikari' in Fukuoka Prefecture.

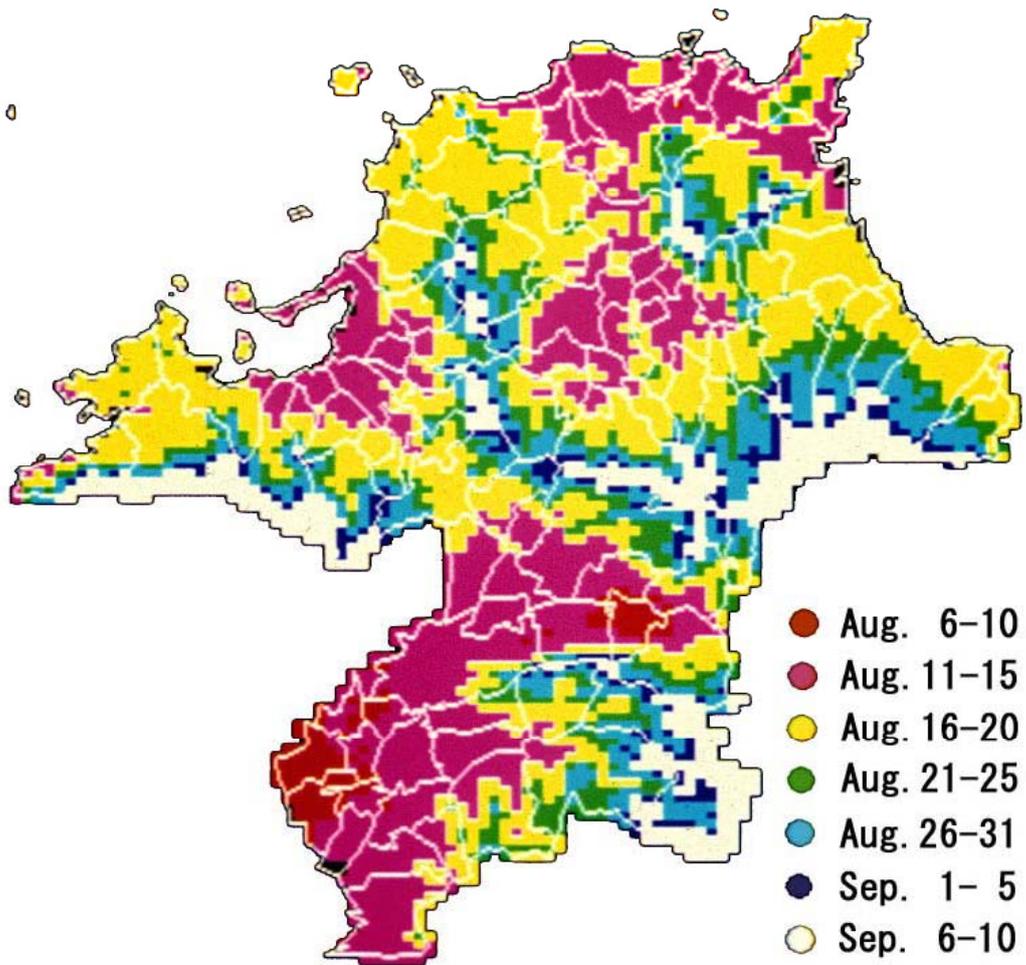


Fig. 6 The early limit map of maturity time of 'Koshihikari' in Fukuoka Prefecture.

## 第2章 水稲湛水直播栽培における品種と播種期の組み合わせによる作期幅拡大

### 2.1 緒言

水稲の湛水直播は育苗や移植作業が不要な省力栽培技術である。直播栽培を普及させるためには、麦類の収穫や耕起、代かきなどの農作業が同じ時期に集中しないよう、水稲の作期を拡大して作業を分散させる必要がある。九州では多数の品種が4月から6月の期間に移植されており、適当な品種を選択し、数回に分けて播種を行うことで作期幅の拡大が可能と考えられる。雪竹ら(1982)と鍛冶原ら(1989)は、小麦後の湛水直播において、6月上旬から7月上旬に早生の数品種を直播した結果、播種期の晩限は6月中旬から下旬と報告している。深田・湯田(1987)は鹿児島県における播種早限は4月上旬から中旬と報告している。しかし、4月から6月の広い播種期において直播栽培の作期を検討した報告はなく、直播と移植栽培における収量と品質の関係も明らかにされていない。

そこで、この章では九州北部における直播栽培の作期を明らかにすることを目的として、水稲3品種を広い播種期で直播し、4月から6月の期間に直播または移植栽培した3品種の収量と品質を調査した。次に、福岡県内2か所の調査地点において直播と移植栽培を行い、得られたデータから成熟期予測のための生育ステージモデルを作成した。さらに、直播栽培における収量や玄米検査等級、炊飯米の食味特性を移植栽培と比較して検討した(田中ら, 1998)。

### 2.2 材料および方法

#### 2.2.1 供試材料

水稲の栽培は1994-1996年の3か年、福岡県農業総合試験場(福岡県筑紫野市)の水田で行った。供試品種は極早生の‘キヌヒカリ’、早生の‘つくし早生’、中生の‘ツクシホマレ’の3品種を用いた。直播栽培は湛水した水田に、移植栽培は3.0-3.5葉の稚苗を、各年、4月24-27日、5月16-19日、6月6-10日、6月20-22日の4回、直播または移植した。‘ツクシホマレ’の移植栽培は1995年と1996年の2か年のみ実施した。さらに、福岡県農業総合試験場筑後分場(福岡県三潴郡大木町)において、1995年と1996年の2か年、同様の試験を実施した。品種は‘キヌヒカリ’、‘つくし早生’、‘ツクシホマレ’の3品種で、各年、5月31日、6月10日、6月20日の3回、直播または移植した。

直播栽培は湛水した水田に、種子を10a当たり3kg播種した。移植栽培は稚苗を条間30cm、株間15cmの密度で手植えた。水管理と防除は水稲の生育に応じて適宜実施した。基肥は代かき、均平の際に施用し、追肥は幼穂形成期および穂ばらみ期に施用した。窒素施用量はTable. 5に示した。

#### 2.2.2 解析方法

2次元ノンパラメトリックDVR(Developmental Rate)法(Takezawa・Tamura, 1991)を用いて、播種や移植期から出穂期の生育ステージに及ぼす気温や日長の影響を解析し、播種や移植期から出穂期を予測するモデルを作成した。出穂期から成熟期については1次元ノンパラメトリックDVR法を用いて気温の影響を解析し、モデルを作成した。これらのモデルを用いて、直播および移植栽培における出穂期と成熟期の予測を試みた。水稲は成熟期に収穫し、乾燥後に脱穀と籾すりを行って玄米を1.8mm目のふるいで選別した。米の理化学性を調査するため精米機(パーレスト, ケット科学

社製)で90%まで精米を行い,オートアナライザーⅡ型(Bran+Luebbe社製)でアミロース含有率とタンパク質含有率を測定した(松江ら,1991).さらに,テクスチヨロメータ GTX-2 型(全研社製)を用いて飯米の硬さ(H)と粘り(-H),付着性(A<sub>3</sub>)を調査した(遠藤ら,1980).

## 2.3 結果

### 2.3.1 極早生‘キヌヒカリ’

Table 6 に‘キヌヒカリ’の播種期と収量,検査等級,食味特性との関係を示した.どちらの試験地においても,播種および移植期が4月25日から6月21日の範囲では,収量に有意差は認められなかった.同じ日に直播や移植した場合,収量に対する直播と移植の差は3%以内で,栽培方法による差は認められなかった.検査等級は早い時期ほど劣り,4月25日から5月31日では2等になった.また,早い作期ほど精米のアミロース含有率は低下したが,タンパク質含有率に対する影響は認められなかった.飯米のテクスチャー特性値は作期が早いほど劣り,4月25日におけるH/-HとH/A<sub>3</sub>の値は遅い作期に比較して有意に劣った.さらに,2か所の試験地において平年の気象条件下における栽培法別の成熟期予測を行った(Fig. 7A).4月下旬から6月中旬に直播した場合,筑紫野市における成熟期は9月上旬から10月上旬で,筑後分場における成熟期よりも5-10日遅く,移植栽培よりも8日遅かった.

### 2.3.2 早生‘つくし早生’

Table 7 に‘つくし早生’の播種期と収量,検査等級,食味特性との関係を示した.どちらの試験地においても,播種,移植期が4月25日から6月21日の範囲では,収量に有意差は認められなかったが,6月21日播種は他の播種期に比較して約4%減収した.また,6月21日播種は移植栽培に比べて4%減収した.検査等級はどの播種期でも良好で,播種期と検査等級の間に有意な相関は認められなかった.播種期が早い場合,精米のアミロース含有率は低下したがタンパク質含有率は変わらなかった.テクスチャー特性は播種期が早い場合に劣る傾向がみられた.4月下旬から6月中旬に播種した場合の成熟期は,筑紫野市では9月中旬から10月下旬,筑後分場では9月上旬から10月中旬であった(Fig. 7B).筑紫野市における成熟期は筑後分場よりも4-8日遅く,移植栽培よりも7日遅かった.

### 2.3.3 中生‘ツクシホマレ’

Table 8 に‘ツクシホマレ’の播種期と収量,検査等級,食味特性の関係を示した.収量は筑紫野市では播種が遅くなるほど減少し,6月21日播種と5月17日から6月8日播種の間には有意差が認められた.筑後分場では5月17日から6月21日播種の間には有意な収量差は認められなかった.播種期と検査等級の間に明確な傾向は認められなかった.播種期が早い場合,精米のアミロース含有率は低下し,タンパク質含有率は5月17日播種では6月8日および6月21日播種に比較して有意に高くなった.播種期とテクスチャー特性の間には有意な相関は認められなかった.成熟期は筑紫野市において5月中旬から6月上旬に播種した場合,および筑後分場において5月下旬から6月中旬に播種した場合,いずれも10月上旬から10月中旬であった(Fig. 7C).筑紫野市における成熟期は筑後分場よりも7日遅かった.

## 2.4 考察

Table 6 に4月下旬から6月中旬に湛水直播を行った‘キヌヒカリ’の結果を示した。この時期に播種した場合、筑紫野市における成熟期は9月上旬から10月上旬と推定された(Fig. 7A)。しかし、播種期が早い場合、検査等級やテクスチャー特性値が劣ったことから、最適播種期は6月上旬から下旬と判断された。Table 7 に4月下旬から6月中旬に湛水直播を行った‘つくし早生’の結果を示した。その結果、筑紫野市における成熟期は9月中旬から10月下旬と推定された(Fig. 7B)。しかし、6月中旬に播種した場合、他の播種期に比較して4%減収したことから、最適播種期は4月下旬から6月上旬と判断された。‘ツクシホマレ’では、6月中旬に播種すると有意に減収したことから、最適播種期は5月中旬から6月上旬と判断された(Table 8)。この時期に播種した場合、筑紫野市における成熟期は10月上旬から中旬と推定された(Fig. 7C)。同日に播種した場合、筑後分場における成熟期は筑紫野市よりも4-10日早いと推定された(Fig. 7A, 7B)。これは4月から10月の期間における平均気温が、筑後分場では0.6℃高いことによると考えられた(Fig. 8)。

雪竹ら(1982)は、小麦後圃場において極早生、早生、中生品種を6月5日から7月5日の期間に湛水直播し、播種晩限は、極早生品種の‘奥羽 299 号’、早生品種の‘黄金晴’、中生品種の‘太刀風’、‘南海 71 号’、‘碧風’共に6月中旬と報告している。鍛冶原ら(1989)も小麦後に早生品種の‘黄金晴’と晩生品種の‘シンレイ’を6月5日から26日に直播し、播種晩限は早生品種では6月25日、晩生品種では6月中旬と報告している。鹿児島県における播種早限は4月上旬から中旬と報告されている(深田・湯田, 1987)。鹿児島県は九州南部に位置しており、4月の平均気温は九州北部に位置する福岡県よりも2.9℃高いことから、鹿児島県では福岡県よりも播種早限期が早いと考えられた。これらの結果から、九州北部において極早生と早生、中生品種を4月下旬から6月中旬に播種することで、直播栽培の成熟期幅が8月下旬から10月中旬になり、熟期の異なる品種と数播種期を組み合わせることで作期幅を拡大できることが明らかになった(田中ら, 1998)。

一方、米の品質は重要な項目であり、‘キヌヒカリ’と‘つくし早生’の収量と玄米の検査等級、食味について、直播栽培と移植栽培の比較を行った(Table 9)。その結果、収量と検査等級、精米のタンパク質には栽培法の影響は認められなかったが、精米のアミロース含有率は直播栽培で上昇した。登熟期の低温はアミロース含有率を上昇させる(茶村ら 1979, 稲津 1988)が、直播栽培における出穂期は同日に移植した場合に比較して7-8日遅いため(データ省略)、直播の登熟温度は移植よりも低くなり、アミロース含有率が増加したと考えられる。直播栽培における H/-H と H/A<sub>3</sub> の値は移植栽培よりも有意に低かった。H/-H と H/A<sub>3</sub> 値は飯米の食味と相関があることが報告されており、H/-H や H/A<sub>3</sub> の値が低くなると食味が向上する(遠藤ら, 1980)。このことから、直播栽培における米の食味は、移植栽培における食味に比較して劣ることはないと考えられる。玄米の検査等級と H/-H と H/A<sub>3</sub> の値は、栽培法に関わらず遅く播種または移植した場合が優れた。また、アミロース含有率は遅く播種または移植した場合に高くなった。これらの形質は登熟期の温度と相関があることが明らかにされている(長戸ら 1961, 茶村ら 1979, 稲津 1988, 岡本 1994)。米の品質と登熟期の気温の関係については、第4章と第5章で考察する。

Table 5 The amount of nitrogen fertilizer application at Fukuoka Agricultural Research Center Chikushino and Chikugo Experimental Station.

| Experimental Station | Transplanting or Seeding time | The amount of nitrogen fertilizer application (Nkg/10a) |              |                |
|----------------------|-------------------------------|---|--------------|----------------|
|                      |                               | Kinuhikari  | Tsukushiwase | Tsukushihomare |
| Chikushino           | 4.24 ~ 27                     | 6+2+1.5   | 6+2+1.5      | —              |
|                      | 5.16 ~ 19                     | 6+2+1.5   | 6+2+1.5      | 6+3+2          |
|                      | 6.6 ~ 10                      | 5+2+1.5   | 5+2+1.5      | 5+3+2          |
|                      | 6.20 ~ 22                     | 4+2+1.5   | 4+2+1.5      | 4+3+2          |
| Chikugo              | 5.31                          | 4+1.5+1.5   | 4+2+1.5      | 7+3.5+2.5      |
|                      | 6.10                          | 4+1.5+1.5   | 4+2+1.5      | 7+3.5+2.5      |
|                      | 6.20                          | 4+1.5+1.5   | 4+2+1.5      | 7+3.5+2.5      |

The amount of nitrogen fertilizer application : Basal+Panicle formation+Booting stages.

Table 6 The yield, inspection grade and characteristics of palatability in 'Kinuhikari' cultivated direct seeding.

| Seeding time<br>(Month.Day) | Yield (Brown rice)   |       |                   | Inspection grade |         | Milled rice    |                | Textural characteristics |       |
|-----------------------------|----------------------|-------|-------------------|------------------|---------|----------------|----------------|--------------------------|-------|
|                             | Chikushino<br>(kg/a) | Ratio | Chikugo<br>(kg/a) | Chikushino       | Chikugo | Amylose<br>(%) | Protein<br>(%) | H/-H                     | H/A3  |
| 4.25                        | 55.4 a               | 97    | —                 | 4.0 a            | —       | 16.1 a         | 7.7a           | 55 a                     | 198 a |
| 5.17                        | 57.4 a               | 101   | —                 | 4.3 a            | —       | 16.5 a         | 7.7a           | 29 b                     | 64 b  |
| 5.31                        | —                    | —     | 47.4 a            | —                | 4.0 a   | —              | —              | —                        | —     |
| 6.8                         | 57.6 a               | 98    | 52.5 a            | 3.5 b            | 3.3 b   | 17.1 b         | 7.5 a          | 27 b                     | 77 b  |
| 6.21                        | 56.7 a               | 103   | 49.0 a            | 2.3 c            | 2.5 c   | 18.7 c         | 7.3 a          | 24 c                     | 59 b  |

1) Experiment were performed in 1994~1996 (Chikushino), 1995,1996 (Chikugo).

2) Ratio of Yield is the ratio yield of direct seeding / transplanting in the same day (1995, 1996 year).

3) Inspection grade of kernel is evaluated of 9 degrees.; 1st grade (1,2,3), 2nd grade (4,5,6) and 3rd grade (7,8,9).

The less number, the more higher quality.

4) Amylose, Protein and Textural characteristics are Chikushino only (1995, 1996 year).

5) Textural characteristics are the less number, the more higher quality.

6) Values followed by the same letter within a column are not significantly different at 5% level, based on Tukey's multiple range test.

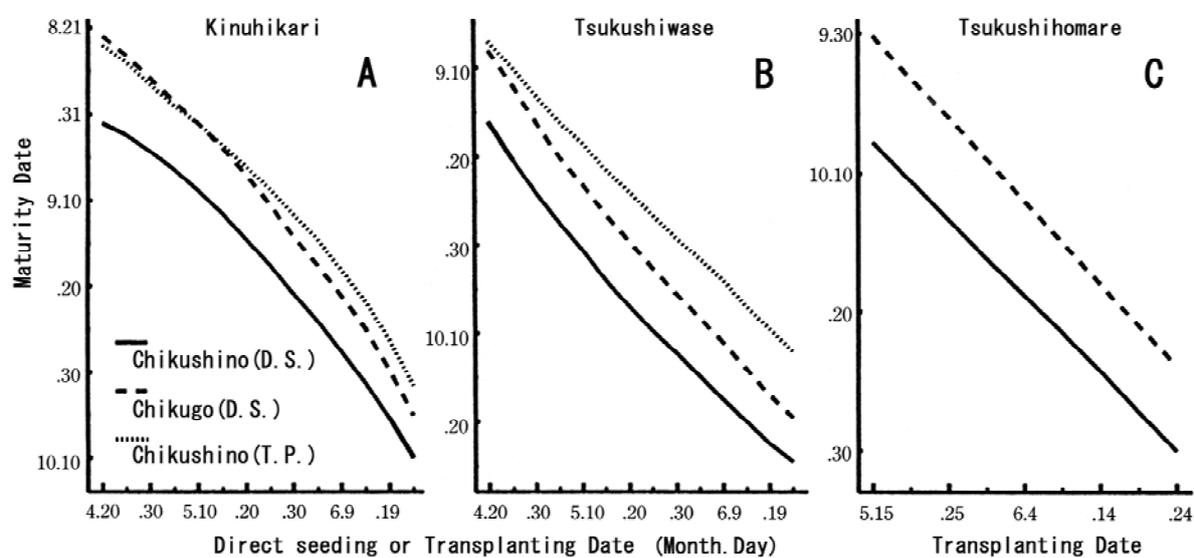


Fig. 7 Estimated maturity date using DVR model.  
Abbreviations: D.S.; direct seeding, T.P.; transplanting

Table 7 The yield, inspection grade and characteristics of palatability in ‘Tsukushiwase’ cultivated direct seeding.

| Seeding time<br>(Month.Day) | Yield (Brown rice)   |                  | Inspection grade     |                   | Milled rice    |                | Textural characteristics |       |
|-----------------------------|----------------------|------------------|----------------------|-------------------|----------------|----------------|--------------------------|-------|
|                             | Chikushino<br>(kg/a) | Chikugo<br>Ratio | Chikushino<br>(kg/a) | Chikugo<br>(kg/a) | Amylose<br>(%) | Protein<br>(%) | H/-H                     | H/A3  |
| 4.25                        | 61.0 a               | 101              | —                    | —                 | 16.9 a         | 7.2a           | 36 a                     | 113 a |
| 5.17                        | 59.7 a               | 97               | —                    | —                 | 18.0 b         | 7.2a           | 30 a                     | 79 a  |
| 5.31                        | —                    | —                | 59.1 a               | —                 | —              | —              | —                        | —     |
| 6. 8                        | 61.1 a               | 99               | 59.7 a               | 3.0 a             | 19.5 c         | 7.0 a          | 25 a                     | 63 a  |
| 6.21                        | 58.0 a               | 96               | 56.8 a               | 3.5 a             | 19.7 c         | 7.5 a          | 26 a                     | 68 a  |

1) Experiment were performed in 1995,1996 year.

2) Ratio of Yield is the ratio yield of direct seeding / transplanting in the same day.

3) Inspection grade of kernel is evaluated of 9 degrees.; 1st grade (1,2,3), 2nd grade (4,5,6) and 3rd grade (7,8,9).

The less number, the more higher quality.

4) Values followed by the same letter within a column are not significantly different at 5% level, based on Tukey's multiple range test.

Table 8 The yield, inspection grade and characteristics of palatability in ‘Tsukushihomare’ cultivated direct seeding.

| Seeding time<br>(Month.Day) | Yield (Brown rice)   |                   | Inspection grade |         | Milled rice    |                | Textural characteristics |       |
|-----------------------------|----------------------|-------------------|------------------|---------|----------------|----------------|--------------------------|-------|
|                             | Chikushino<br>(kg/a) | Chikugo<br>(kg/a) | Chikushino       | Chikugo | Amylose<br>(%) | Protein<br>(%) | H/-H                     | H/A3  |
| 5.17                        | 66.9 a               | —                 | 2.3 a            | —       | 19.7 a         | 7.5 a          | 50 a                     | 160 a |
| 5.31                        | —                    | 57.9 a            | —                | 2.3 a   | —              | —              | —                        | —     |
| 6. 8                        | 64.1 a               | 63.1 a            | 1.7 b            | 3.5 a   | 21.3 b         | 7.2 b          | 59 a                     | 196 a |
| 6.21                        | 60.5 b               | 60.0 a            | 2.0ab            | 3.5 a   | 22.0 c         | 7.2 b          | 49 a                     | 145 a |

1) Experiment were performed in 1994~1996 (Chikushino), 1995,1996 (Chikugo).

2) Inspection grade of kernel is evaluated of 9 degrees.; 1st grade (1,2,3), 2nd grade (4,5,6) and 3rd grade (7,8,9).

The less number, the more higher quality.

3) Values followed by the same letter within a column are not significantly different at 5% level, based on Tukey’s multiple range test.

Table 9 Effects of cultivation and cropping season on the yield, inspection grade and characteristics of palatability.

| factor                        | Yield<br>(Brown rice)<br>(kg/a) | Inspection<br>grade | Milled rice    |                | Textural characteristics |       |
|-------------------------------|---------------------------------|---------------------|----------------|----------------|--------------------------|-------|
|                               |                                 |                     | Amylose<br>(%) | Protein<br>(%) | H/-H                     | H/A3  |
| Cultivation                   |                                 |                     |                |                |                          |       |
| Direct seeding                | 57.9 a                          | 3.1 a               | 17.8 a         | 7.4 a          | 31 a                     | 90 a  |
| Transplanting                 | 58.5 a                          | 3.0 a               | 17.1 b         | 7.4 a          | 37 b                     | 110 b |
| Seeding or Transplanting time |                                 |                     |                |                |                          |       |
| 4.25                          | 59.4 a                          | 3.5 a               | 16.2 a         | 7.5 a          | 48 a                     | 163 a |
| 5.17                          | 58.2 a                          | 3.4 a               | 16.9 b         | 7.6 a          | 38 b                     | 107 b |
| 6. 8                          | 58.5 a                          | 2.9 b               | 18.0 c         | 7.5 a          | 27 c                     | 71 c  |
| 6.21                          | 56.7 b                          | 2.4 c               | 18.8 d         | 7.2 b          | 25 c                     | 59 c  |

1) Cultivar are ‘Kinuhikari’ and ‘Tsukushiwase’.

2) Experiment were performed in 1995,1996 (Chikushino only).

3) Inspection grade of kernel is evaluated of 9 degrees.; 1st grade (1,2,3), 2nd grade (4,5,6) and 3rd grade (7,8,9).

The less number, the more higher quality.

4) Values followed by the same letter within a column are not significantly different at 5% level, based on Tukey’s multiple range test.

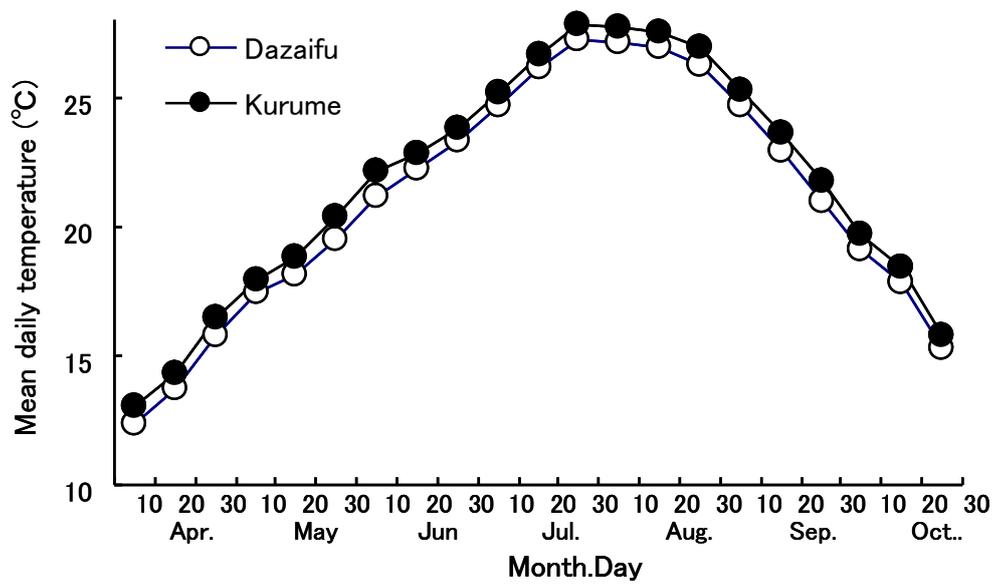


Fig. 8 Transition of mean daily air temperature from April to October in Dazaifu and Kurume AMeDAS.  
 Dazaifu is near Chikushino station, Kurume is near Chikugo station.

## 第3章 水稻品種‘ヒノヒカリ’における収量、食味向上のための窒素栄養診断

### 3.1 緒言

‘ヒノヒカリ’は、‘コシヒカリ’と同様の良食味で、小麦後でも安定栽培が可能な中生であることから、九州地域で最も普及している品種である。‘ヒノヒカリ’の生育特性や栽培法については既に報告されている(原田ら 1989, 真鍋ら 1990)。水稻の窒素吸収量は生育診断や収量、品質の向上を図る際の重要な指標であり、角重ら(1993)は、‘ヒノヒカリ’の穂揃期と成熟期における最適窒素吸収量を明らかにしたが、品質と窒素吸収量の関係については検討していない。一方、水稻子実中の窒素やタンパク質含有率は炊飯米の食味と有意な相関があるが、水稻の窒素吸収量と玄米の窒素含有率および食味との関係については報告されていない(Juliano ら 1965, 石間ら 1974, 山下・藤本 1974, 稲津 1988)。そこで、この章では‘ヒノヒカリ’の窒素吸収量と玄米の窒素含有率および炊飯米の食味との関係を検討し、収量と品質向上のための窒素吸収量の指標値を明らかにすることを目的とした。さらに、‘ヒノヒカリ’の食味の安定性を他の品種と比較して明らかにした。

### 3.2 材料および方法

#### 3.2.1 供試材料と分析方法

試験は福岡県農業総合試験場(福岡県筑紫野市)の砂壤土水田において、1988, 1989, 1990年の3か年実施した。水稻品種‘ヒノヒカリ’を、各年、6月14日および6月20日に移植した。苗は3.0-3.5葉の稚苗で、栽植密度は $\text{m}^2$ 当たり19-22株とした。基肥は10a当たり窒素3.0, 4.5, 6.0kgの3水準を代かき、均平の際に施用し、加えて追肥を出穂前20日前後に窒素2.0kg, 出穂前13日前後に1.5kg施用した。比較のためリン酸とカリウムのみ施用した無窒素区を設けた。さらに、食味の品種間差を明らかにするため、‘ヒノヒカリ’と‘ツクシホマレ’を1991年6月21日に移植した。基肥は10a当たり窒素4.0, 7.0kgの2水準として、追肥は窒素4.0kgを出穂前22日または出穂後10日に施用した。水管理と防除は水稻の生育に応じて適宜実施した。

移植後35日と幼穂形成期(出穂前18-20日頃)、穂揃期、成熟期の計4回、各10株をサンプリングし、地上部乾物重を測定した。乾物を粉碎後、ケルダール法で窒素含有率を測定し、窒素吸収量(乾物重 $\times$ 窒素含有率)を算出した。成熟期に収穫し、天日乾燥後に脱穀、籾すりを行い、玄米を1.8mmのふるいで選別した。玄米は乾物と同様に粉碎してケルダール法で窒素含有率を測定した。炊飯米の食味は食糧庁の手引きに基づき、‘日本晴’を基準米として1回に7-10点を12-18名のパネル員で評価した。

### 3.3 結果

#### 3.3.1 窒素吸収量と籾数、収量および玄米窒素含有率との関係

Figure 9に単位面積当たり籾数と収量の関係を示した。 $\text{m}^2$ 当たり籾数が32,000粒以下の範囲では、籾数と収量に明らかな相関が認められたが、32,000粒以上になると倒伏のため相関は認められなかった。a当たり収量57-60kgに対応する $\text{m}^2$ 当たり籾数は30,000-32,000粒であった。穂揃期における窒素吸収量は $\text{m}^2$ 当たり籾数と相関が認められた(Fig. 10)。 $\text{m}^2$ 当たり籾数31,000粒に対応する窒素吸収量は10a当たり10.5kgであった。成熟期の窒素吸収量は10a当たり11kg以下の範囲では、収量との間に相関が認められたが、12kg以上では認められなかった(Fig. 11)。a当たり収量57kgに対応する成熟期の窒素吸収量は10a当たり11.5kgであった。

Figure 12 に穂揃期における窒素吸収量と玄米窒素含有率との関係を示した。窒素吸収量が 4.2kg から 11.8kg の範囲では、窒素吸収量が増加するほど玄米窒素含有率が増加し、1%水準で有意な相関が認められた。Figure 13 に成熟期における窒素吸収量と玄米窒素含有率との関係を示した。窒素吸収量が 4.5kg から 12.6kg の範囲では、窒素吸収量が増加するほど玄米窒素含有率も増加し、1%水準で有意な相関が認められた。さらに、幼穂形成期から穂揃期の期間における窒素吸収量と玄米窒素含有率との間にも有意な相関が認められた (Table 10)。その他の期間における窒素吸収量と玄米窒素含有率の間には有意な相関は認められなかった。

### 3.3.2 玄米窒素含有率と炊飯米の食味との関係

Figures 14, 15 に玄米窒素含有率と炊飯米の食味との関係を示した。1989 年は玄米窒素含有率が乾物当たり 1.17-1.25% の狭い範囲で、有意な相関は認められなかった。一方、1990 年の玄米窒素含有率は 1.19-1.36% の範囲で、玄米窒素含有率が増加するほど食味が低下した (Fig. 14)。2 か年を総合すると、玄米窒素含有率と炊飯米の食味には 1%水準で有意な相関が認められた。しかし、‘ヒノヒカリ’の玄米窒素含有率が 1.36% を超えると、基準米の‘日本晴’との間に有意差が認められなくなった。さらに、1991 年に‘ヒノヒカリ’と‘ツクシホマレ’を比較した。‘ヒノヒカリ’の玄米の窒素含有率は 1.18-1.58%、‘ツクシホマレ’は 1.20-1.47% の範囲であったが、どちらの品種も玄米窒素含有率が高いほど食味が低下した (Fig. 15) 。‘ヒノヒカリ’と基準米の‘日本晴’との間に全ての試験区で有意差が認められた。また、‘ヒノヒカリ’の食味は‘ツクシホマレ’に比べて安定して高く、玄米窒素含有率の変化に伴う食味の変動も小さかった。

## 3.4 考察

水稻の窒素吸収量は、収量や品質向上を図る際の生育診断指標として重要な項目である。穂揃期における窒素吸収量と単位面積当たり籾数、および成熟期における窒素吸収量と収量の間には相関があることが報告されている (深山ら, 1984)。角重ら (1993) は‘ヒノヒカリ’における安定生産のための最適窒素吸収量は、穂揃期で 10.5kg/10a、成熟期で 12.0kg/10a と報告している。本研究においてもこれらの報告を支持する結果が得られた (Figs. 9, 10, 11)。しかし、米の品質に関して検討されていないことから、窒素吸収量と玄米窒素含有率や炊飯米の食味との関係について検討した。

水稻子実のアミロース含有率やタンパク質含有率、窒素含有率と炊飯米の食味には有意な相関があり、これらの値が増加すると食味が低下する (Julianoら 1965, 石間ら 1974, 山下・藤本 1974, 稲津 1988)。子実のタンパク質含有率や窒素含有率は施肥法と関連があり (石間ら 1974, 山下・藤本 1974)、玄米の窒素含有率は食味向上を図る際の重要な指標となる。玄米窒素含有率が 1.3% の場合、‘ヒノヒカリ’の食味は基準米の‘日本晴’および‘ツクシホマレ’に比較して有意に優れたが、高い食味を維持するためには 1.3% 以下に保つ必要性が認められた (Figs. 14, 15)。さらに、玄米窒素含有率と穂揃期および成熟期の窒素吸収量との間に有意な相関が認められ、玄米窒素含有率 1.3% に対応する窒素吸収量は、穂揃期で 11.0kg/10a、成熟期で 12.0kg/10a であった (Figs. 12, 13)。この結果は、収量面から検討した値と一致する。これらのことから、‘ヒノヒカリ’の高品質安定生産のための生育診断指標は、a 当たり収量 57-60kg を目標とした場合、m<sup>2</sup>当たり籾数 30,000-32,000 粒、穂揃期の窒素吸収量 10.5-11.0kg/10a、成熟期の窒素吸収量 12.0kg/10a と判断される。‘ヒノヒカリ’の施肥法は既に報告されている (真鍋ら, 1990)。しかし、幼穂形成期から穂揃期の期間に吸収される窒素は玄米窒素含有率を増加させる可能性が高く (Table 10)、過剰な追肥

は食味を低下させる(田中ら, 2000). 本研究では, 収量と品質向上の両面からみた‘ヒノヒカリ’の窒素吸収量の指標値を明らかにした(田中ら 1992, 1994a). 今後, これらの指標値に対応した窒素施肥法の確立が必要である.

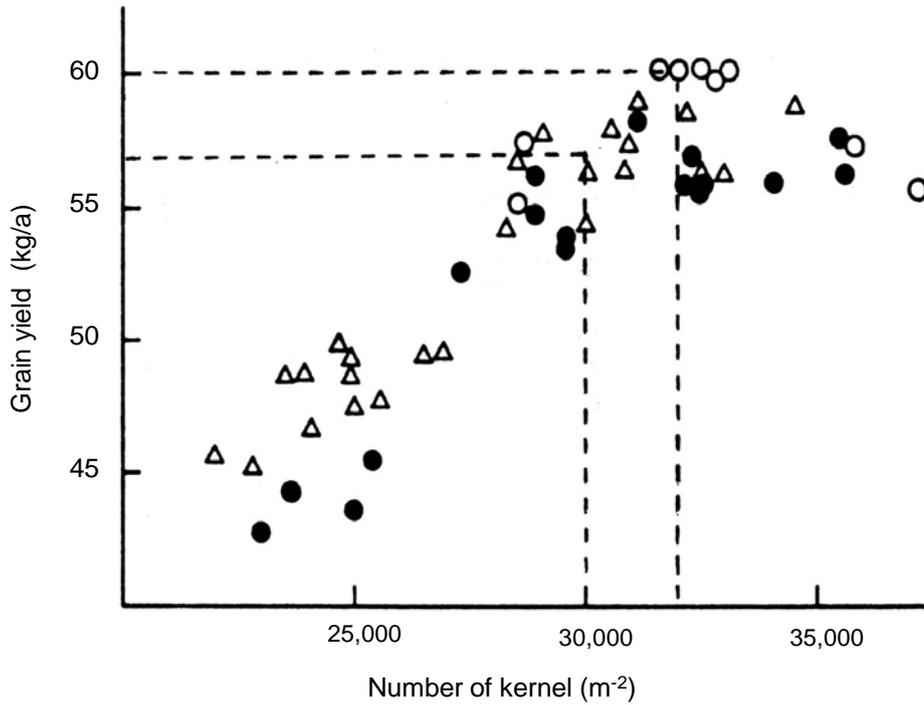


Fig. 9 Relation between number of kernel and grain yield in 'Hinohikari'. O, 1988; Δ, 1989; ●, 1990.

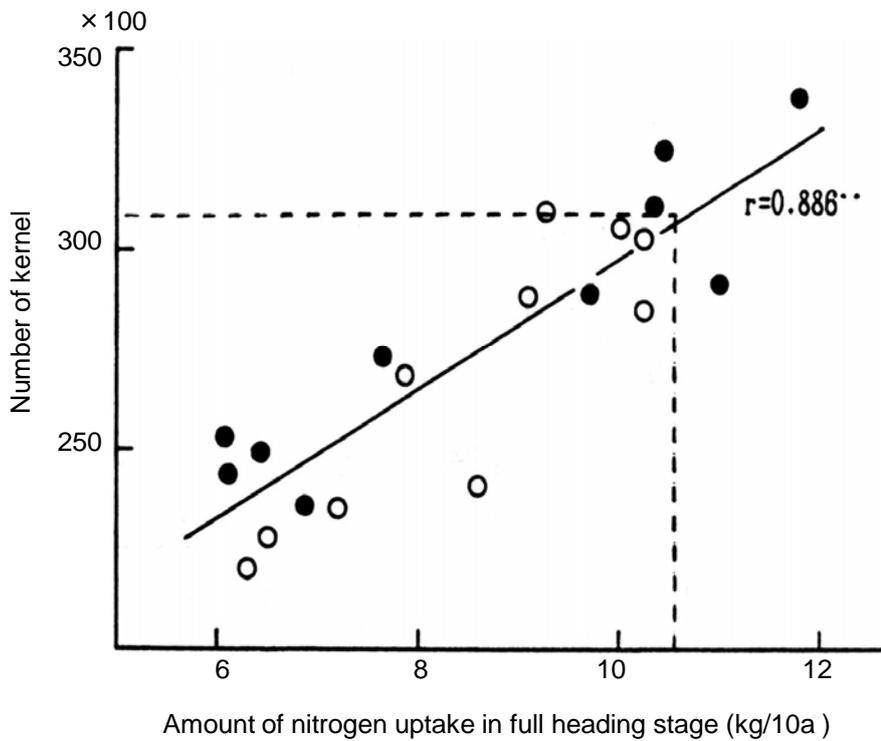


Fig. 10 Relation between amount of nitrogen uptake in full heading stage and number of kernel. O, 1989; ●, 1990.

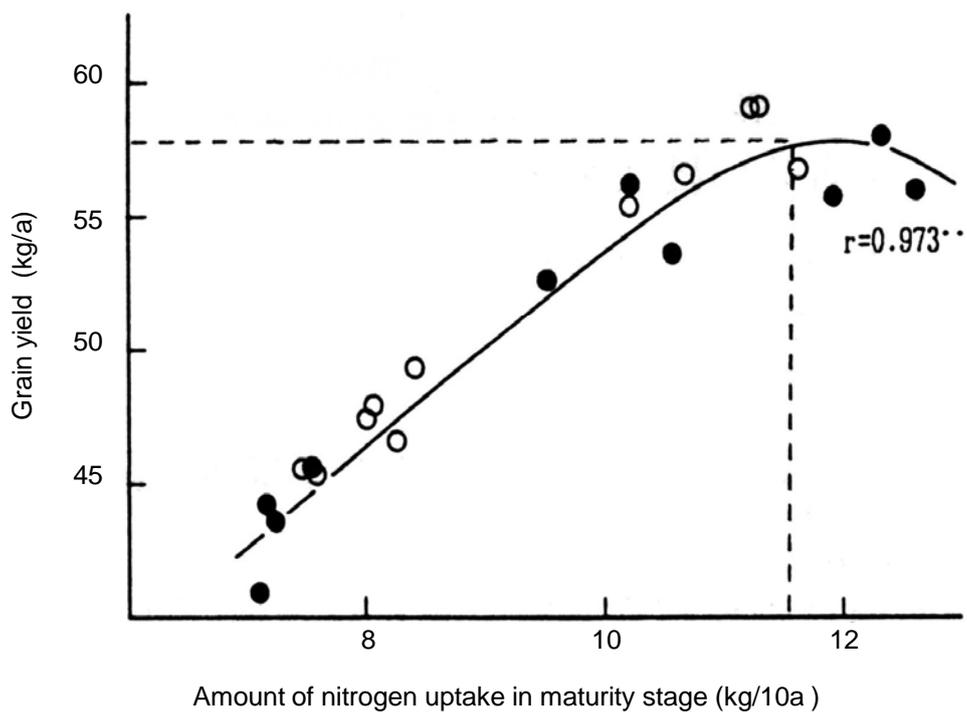


Fig. 11 Relation between amount of nitrogen uptake in maturity stage and grain yield. ○, 1989; ●, 1990.

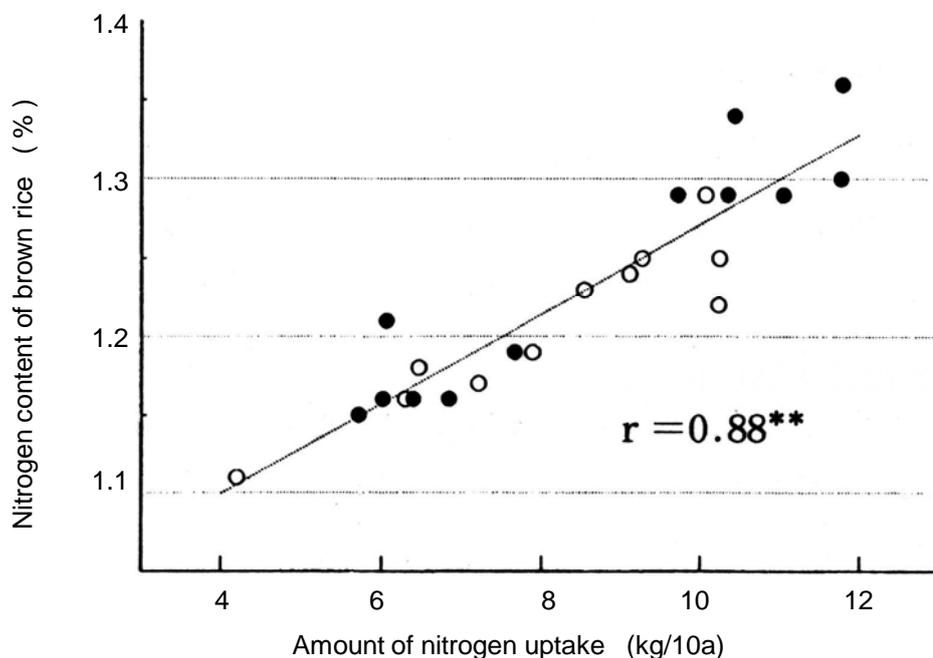


Fig. 12 Relation between amount of nitrogen uptake in full heading stage and nitrogen content of brown rice in 'Hinohikari'. ○, 1989; ●, 1990.

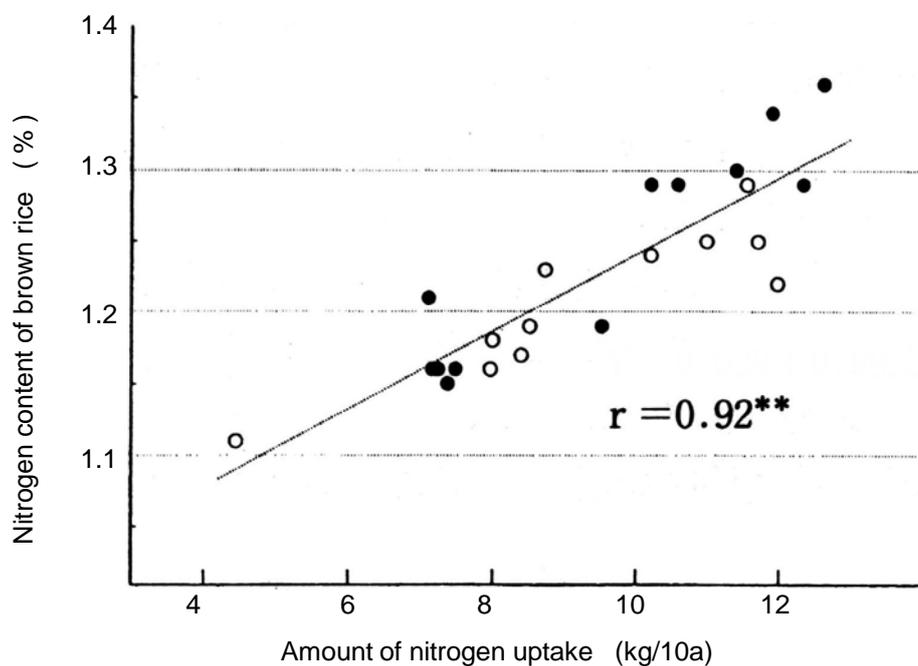


Fig. 13 Relation between amount of nitrogen uptake in maturity stage and nitrogen content of brown rice in 'Hinohikari'.  
 ○, 1989; ●, 1990.

Table 10 Correlation with the amount of nitrogen uptake and the nitrogen content of brown rice in 'Hinohikari'.

| Growth stage  | Correlation coefficient |
|---|-------------------------|
| Transplanting ~ 35 days after transplanting           | +0.32                   |
| 35 days after transplanting ~ Panicle formation stage | +0.34                   |
| Panicle formation stage ~ Full heading stage          | +0.60**                 |
| Full heading stage ~ Maturity stage                   | +0.06                   |

\*\* is correlated at 1% level.

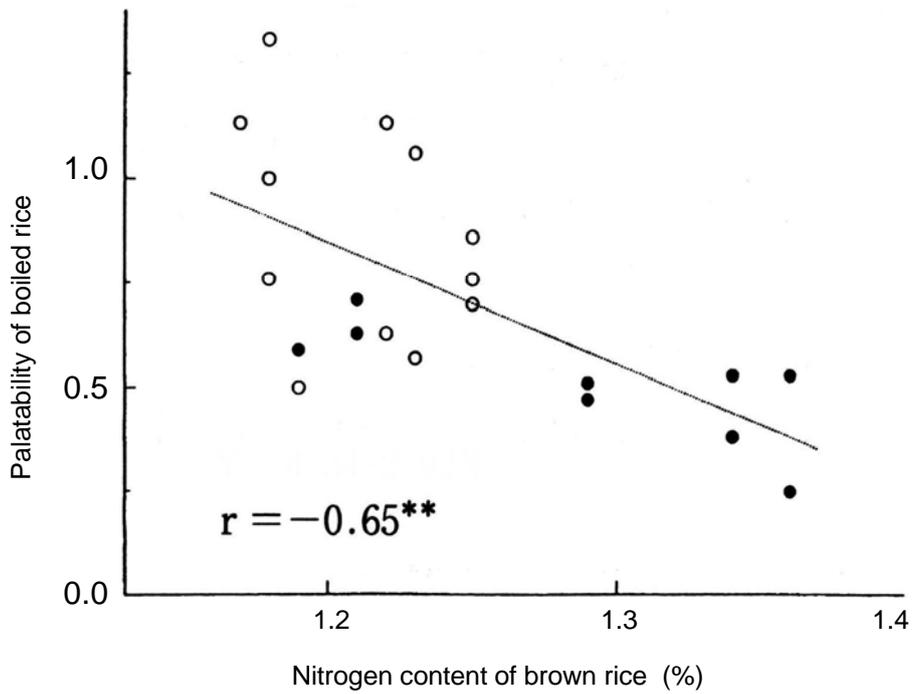


Fig. 14 Relation between nitrogen content of brown rice and palatability of boiled rice in 'Hinohikari'. Palatability of boiled rice is synthetic estimation as compared standard cultivar 'Nipponbare'. O, 1989; ●, 1990.

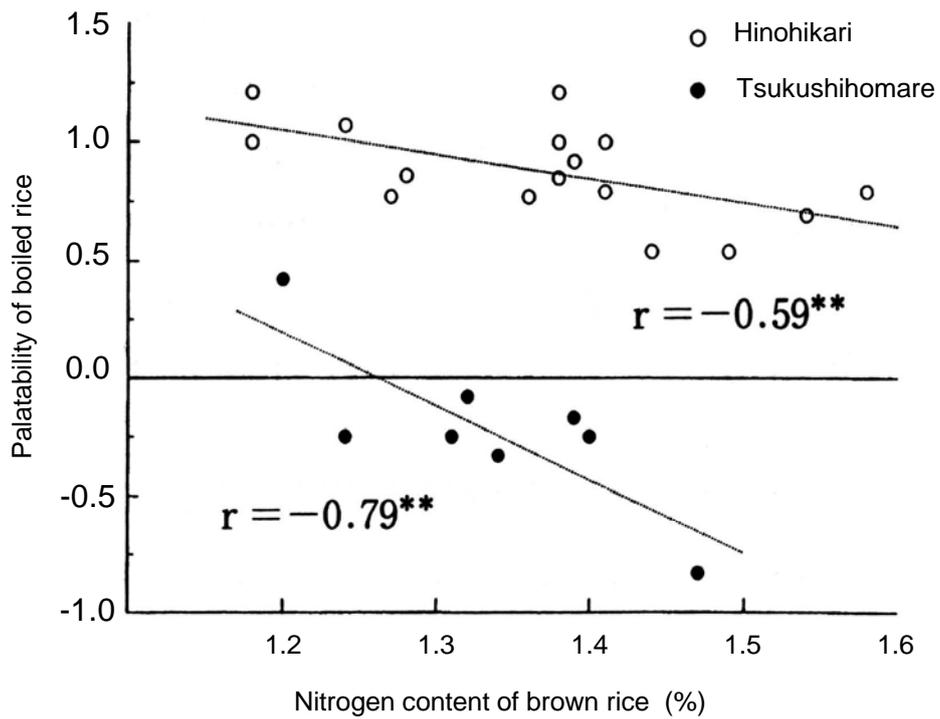


Fig. 15 Relation between nitrogen content of brown rice and palatability of boiled rice in ‘Hinohikari’ and ‘Tsukushihomare’.

Experiment was performed in 1991.

Palatability of boiled rice was evaluated by comparing the standard cultivar ‘Nipponbare’(0.0).

## 第4章 高温耐性水稻品種の<sup>1</sup>H-NMR法による登熟期の籾水分動態解析

### 4.1 緒言

登熟過程における温度ストレスは、作物の収量や品質の低下を招く(Chowdhunry・Wardlaw, 1978). 低温は子実の生長速度を低下させ、子実の登熟期間の延長や成熟の遅延を招くが、緩やかな低温は子実の収量を向上させる場合もある(Shimono ら, 2002). 一方、高温は水稻(Inaba・Sato, 1976)や小麦(Hawker・Jenner, 1993), 大麦(Wallwork ら, 1998)の子実の生長を阻害することが知られている. これは、デンプン合成酵素など酵素活性の低下によることが報告されている. さらに、水稻子実の登熟期間における温度ストレスは、脱水過程だけでなく光合成速度の変化に影響を与える(Hirotsu ら, 2005).

子実の発達や成長は、生化学的や生理学的変化を伴う. 子実の水分画分の動態は、細胞内のオルガネラや生体高分子と相互作用し、発達過程と関連していることが報告されている(Iwaya-Inoue ら 2001, Funaba ら 2006). 最近、登熟過程において温度ストレスに曝されたヒノヒカリの子実を対象にNMR緩和時間の変化が調査された. 彼らは、子実の発達初期において、20°Cで登熟した子実の $T_1$ 値はやや高く、30°Cでは逆に著しく低くなることを明らかにした(Funaba ら, 2006). これらのことから、水稻子実の $T_1$ の変化は、登熟中期までの水の物性と密接に関わり、低温や高温ストレスの影響を受けていることが明らかになった.

以上のことから、本章では水稻の温度耐性品種と非耐性品種を対象に、登熟過程における子実の $T_1$ の変化について調べることを目的とした. また、子実の発達過程における籾のNMR緩和時間と玄米品質についても併せて考察した(Tanaka ら, 2008b).

### 4.2 材料および方法

#### 4.2.1 供試材料

水稻品種‘ヒノヒカリ’と‘にこまる’を2006年5月25日に播種し、6月19日に2.5kgの土を詰めた1/5000ワグネルポットに移植した. どちらの品種も出穂するまで九州大学農学部(福岡市東区)の圃場で栽培し、水管理と防除は水稻の生育に応じて適宜実施した. 施肥は高度化成肥料(N-P<sub>2</sub>O-K<sub>2</sub>O:16-16-16%)と硫酸(N:21%)を、基肥としてポット当たり各々0.6gと0.5g施用した. さらに、硫酸を幼穂形成期および穂ばらみ期に各々0.3g施用した. ‘ヒノヒカリ’は8月21日、‘にこまる’は8月24日に出穂した. 出穂後は成熟期までファイトロンに入れて、20, 25, 30°Cの3水準の温度処理を行った. 開花後、7日毎に無作為に各処理4ポットを分析に供試した. 測定には一次枝梗に着生した籾を用い、4反復で測定を行った. 全ての測定は7日毎に行い、開花後(DAF, Days After Flowering)49日まで測定を繰り返した.

#### 4.2.2 <sup>1</sup>H-NMR スピン-格子緩和時間( $T_1$ )と水分、玄米品質の分析

本研究で使用したNMR装置は、磁場強度0.59テスラ(1テスラ=10<sup>4</sup>ガウス)の永久磁石を内蔵した25MHz-NMR(Mμ25A, JEOL社製)で、<sup>1</sup>Hの共鳴周波数は25MHzである. ‘ヒノヒカリ’と‘にこまる’の2品種を対象に、各温度処理区において開花7~49日まで、7日毎に $T_1$ を測定した. 籾20~24粒を直径10mmのNMR管にゆるく詰め、NMRプローブにセットした. プローブ内の温度はいずれの処理区も30°Cに設定して測定した.

$T_1$ は原子核の核スピンエネルギーがまわりの格子(分子を構成している他の原子核)に熱的に逃げる過程を示しており、Saturation recovery法により、パルス系列(90°-τ-90°)で求めた. この方法で

は、90°パルスを繰り返して磁化を飽和させ、一定の時間( $\tau$ )待機した後、回復した磁化の大きさを次の90°パルスで検出する。 $T_1$ は、 $M\tau = M_0[1 - \exp(-\tau/T_1)]$ の式から求められ、各条件での $M\tau$ の値を計測してプロットする。 $M\tau$ は $\tau$ 時間後の巨視的磁化、 $M_0$ は平衡磁化を示す。観測された籾の水分子中の水素原子核のシグナル強度をプロットし、最小二乗法によりその傾きを求めたものが $T_1$ 値である。純水のように均一の分子動態をもつものは一つの成分で表されるが、生体では通常2種類以上の水の画分をもつため、緩和時間は複数の成分に分割される(Iwaya-Inoueら, 2004a)。

各処理区で4回の反復測定を行い、測定後、90°C、20hの乾燥処理を行い、含水率と乾物重を求めた。水稻は開花後各温度区で栽培し、開花49日後に収穫して風乾した、脱穀、籾すり後、各処理区の玄米100粒について品質調査を行った(Funabaら, 2006)。

### 4.3 結果

#### 4.3.1 登熟過程における温度ストレスを受けた水稻子実の乾物の蓄積と含水率

3水準の温度で処理を行った‘にこまる’の籾乾物重と含水率を‘ヒノヒカリ’と比較して調査した(Fig. 16)。**‘ヒノヒカリ’の乾物重と含水率の変化は(Fig. 16A,C), 既に明らかにされている(Funabaら, 2006)。**低温に曝された‘にこまる’の籾乾物重は開花21日目には完全に回復していた。20°Cで栽培した2品種の籾の含水率は、登熟初期にはやや低い値を示したが、25°Cと30°C処理区では急激に低下していた(Fig. 16C, D)。14-21日では、20°C区の‘にこまる’の籾含水率はヒノヒカリの含水率に比べて低かった。さらに、‘にこまる’の乾物重と含水率の変化は、登熟過程を通して30°C区と25°C区でほとんど差がみられなかった(Fig. 16B, D)。

#### 4.3.2 登熟過程における温度ストレスを受けた水稻子実の水分動態

水稻子実のNMR緩和時間( $T_1$ )は、登熟中期までの水の動態と密接に関連していることが知られている(Funabaら, 2006)ことから、登熟過程の両品種子実中の $T_1$ の変化を調査した。測定期間を通して‘にこまる’の $T_1$ (長い成分と短い成分)は、いずれの温度処理区においても同様の変化を示した(Fig. 17B, D)。しかし、‘ヒノヒカリ’では、対照区の25°C区に比較して20°C区のそれらの値は長い値を示し、30°C区は短い値を示した(Fig. 17A, C)。 $T_1$ 値が100~3秒の間を示す場合は、主に液胞に由来する自由水が存在することを意味している(Iwaya-Inoueら 2004a, 2004b, Funabaら 2006)。これらの結果は、20°C区の‘ヒノヒカリ’の子実、25°C区や30°C区の子実よりも7日間の間、長期にわたり自由水を保持していることを示している。

#### 4.3.3 温度ストレス下の2品種における水分動態と登熟歩合および玄米品質との関係

‘にこまる’の完全粒の割合は、20, 25, 30°C処理区において、各々、64, 84, 70%を示したが、‘ヒノヒカリ’では、各々、13, 61, 4%であった(Fig. 18)。また、30°Cで処理した‘ヒノヒカリ’の背白粒は83%以上で、‘にこまる’は13%であった。玄米胚乳の中央部が白い未熟粒は乳白粒と呼ばれ、細胞内の構造に異常があることが知られている(松田ら, 1989)。さらに、‘にこまる’の登熟歩合は、20, 25, 30°Cの各処理区において、各々、41, 75, 87%を示したが、‘ヒノヒカリ’では、34, 78, 76%であった(データ省略)。これらの結果は‘にこまる’は‘ヒノヒカリ’とは異なり、登熟過程の高温は玄米品質に影響を与えないことを示している。

#### 4.4 考察

低温は水稻子実の生長速度を低下させ、子実の登熟期間の延長や成熟の遅延を招く(Shimonoら, 2002)ことが知られており、本研究でも 20℃で処理した‘にこまる’や‘ヒノヒカリ’の子実の発達が遅延することが確認できた。低温は水稻子実の脱水過程を遅延させることにより成熟を遅延させることが知られている(Hirotsuら, 2005)。開花後の 20℃処理により‘ヒノヒカリ’子実貯蔵物質の蓄積の遅延が起こり、それによって水の運動性がより長い期間にわたり維持されていたと考えられる(Fig. 16A, 17A)。即ち、20℃で処理した開花後 14 日における籾の  $T_1$  値の著しい延長は、胚乳の未発達と高い含水率に起因すると考えられる。籾の  $T_1$  と含水率の密接な関係は、特に登熟の初期において観察された。貯蔵物質の変化に伴う子実の水分動態は、子実の発達や登熟過程を良く反映していることが知られている(Kanoら 1990, Iwaya-Inoueら 2001)。Kanoら(1990)は、NMR 緩和時間は、生体中の低分子の物質が低濃度の場合にはそれほど大きな影響を受けないが、高濃度の場合は著しく低下することを示した。本研究では、20℃で処理した‘ヒノヒカリ’の子実は、25℃や 30℃区に比較して登熟後期まで長い  $T_1$  値を維持していることを示した。これに対し、‘にこまる’の  $T_1$  値は、開花後 14 日から 21 日の間に 200ms から 100ms に低下した。 $T_1$  値が 100ms 以上の場合は、自由水の存在を示しており(Iwaya-Inoueら 2004a, 2004b, Funabaら 2006)、本実験の結果から、‘にこまる’の子実は 20℃処理により、‘ヒノヒカリ’に比べて登熟初期に自由水を失ったことを示している。

発達過程における水稻子実胚乳の NMR シグナル強度の低下は、外観が乳白色から半透明となる乳熟期から糊熟期へかけて、デンプン蓄積の生理的特性と対応していると考えられる。Horiganeら(2001)は、NMR 顕微鏡を使い、子実中の水が開花 15 日前までに主に子実周辺層と玄米果皮の維管束に広く分布していることを示した。水稻胚乳のデンプンは、子実の発達過程において含水率の減少や乾物重の増加とともに、ゆっくりと液状から糊状へと変化する。この変化により、子実の胚乳の固化および透明化の形成へと導かれる。即ち、本研究による NMR 緩和時間  $T_1$  値の変化から、30℃、25℃で処理した籾の自由水が登熟の後半で消失し、20℃処理区では自由水が長く保持されていたと考えられる(Fig. 17)。このことから、水稻の登熟過程において籾の  $T_1$  値は登熟初期から中期までの変化の追跡に有効であり、対照区と比較することにより容易に温度に対する診断指標となることが明らかとなった。

以上のことから、高温区における‘ヒノヒカリ’子実の自由水が早い時期から消失することは背白粒や乳白粒の発生と関連していることを示唆している(Fig. 17A, 18A)。高温ストレスは、子実のデンプン蓄積が活発になる時期に入ると、胚乳細胞の発達を促進することが知られ(Hoshikawa 1989, Tashiro・Wardlaw 1991)、白未熟粒の発生を促進していると考えられる(Fig. 18)。温度ストレス耐性の‘にこまる’では、低温および高温で栽培された子実におけるデンプン蓄積は、対照区と同様に含水率の減少とともに、乳熟期から糊熟期への転換が正常に起こっていると考えられる。特に、開花後 30℃で処理した‘にこまる’子実の発達過程では、対照区(25℃)と同時期に自由水が消失した。このことから、NMR 緩和時間  $T_1$  値は高温ストレス下においても高い玄米品質を維持している過程をリアルタイムで反映していると考えられる。

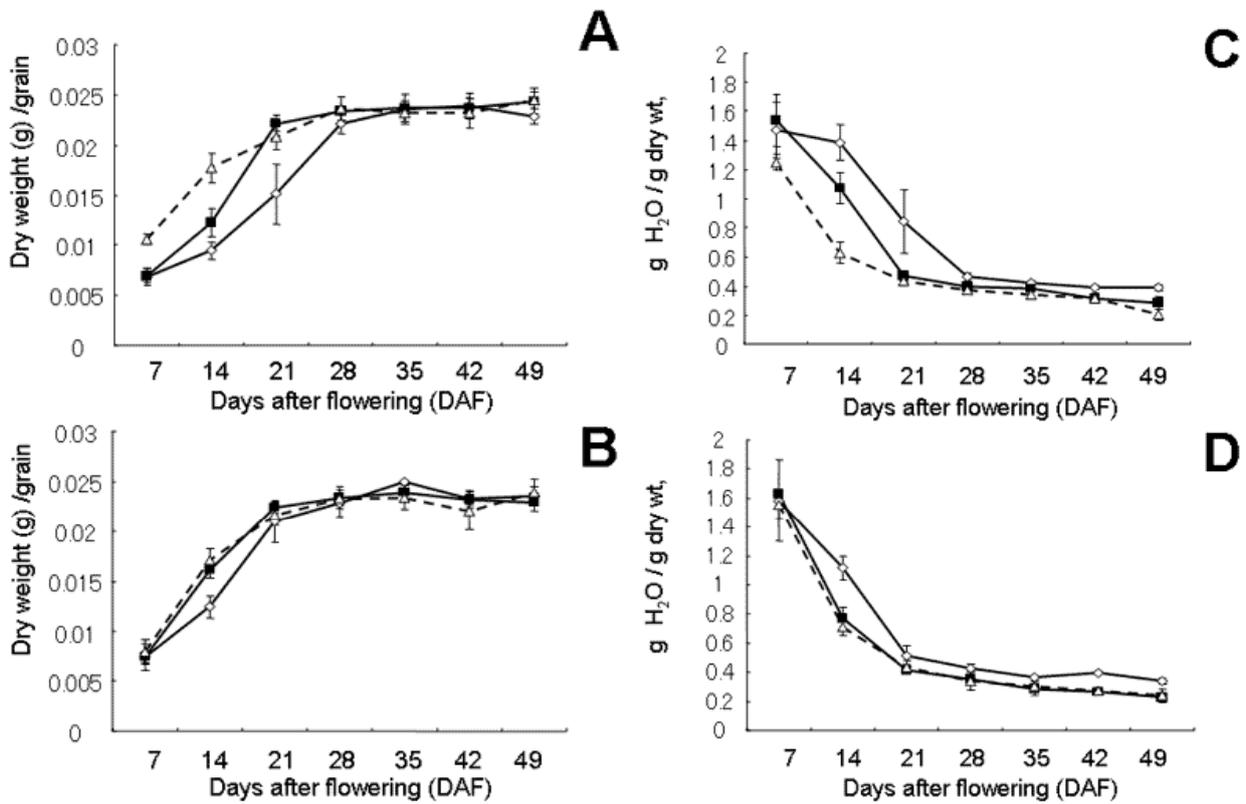


Fig.16 Dry weight (A, B) and water content per dry weight (C, D) in ripening seeds of two rice cultivars exposed to thermal stresses. A and C, ‘Hinohikari’; B and D, ‘Nikomaru’. Open rhombuses, closed squares and open triangles, indicate 20, 25, and 30°C treatment, respectively.

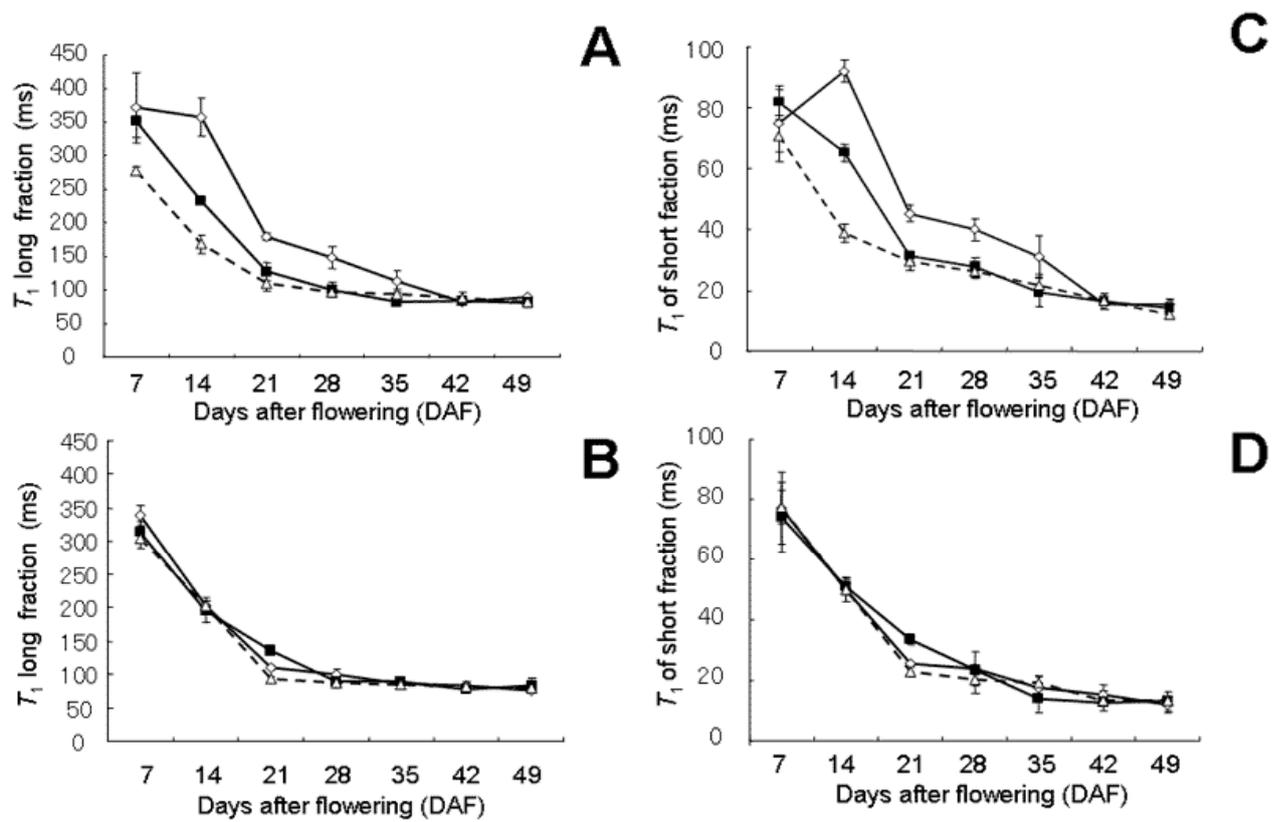


Fig.17  $T_1$  values of long fraction (A, B) and short fraction (C, D) in ripening seeds of two rice cultivars exposed to thermal stresses. A and C, 'Hinohikari'; B and D, 'Nikomaru'. Open rhombuses, 20°C; closed squares, 25°C; open triangles, 30°C treatment, respectively.

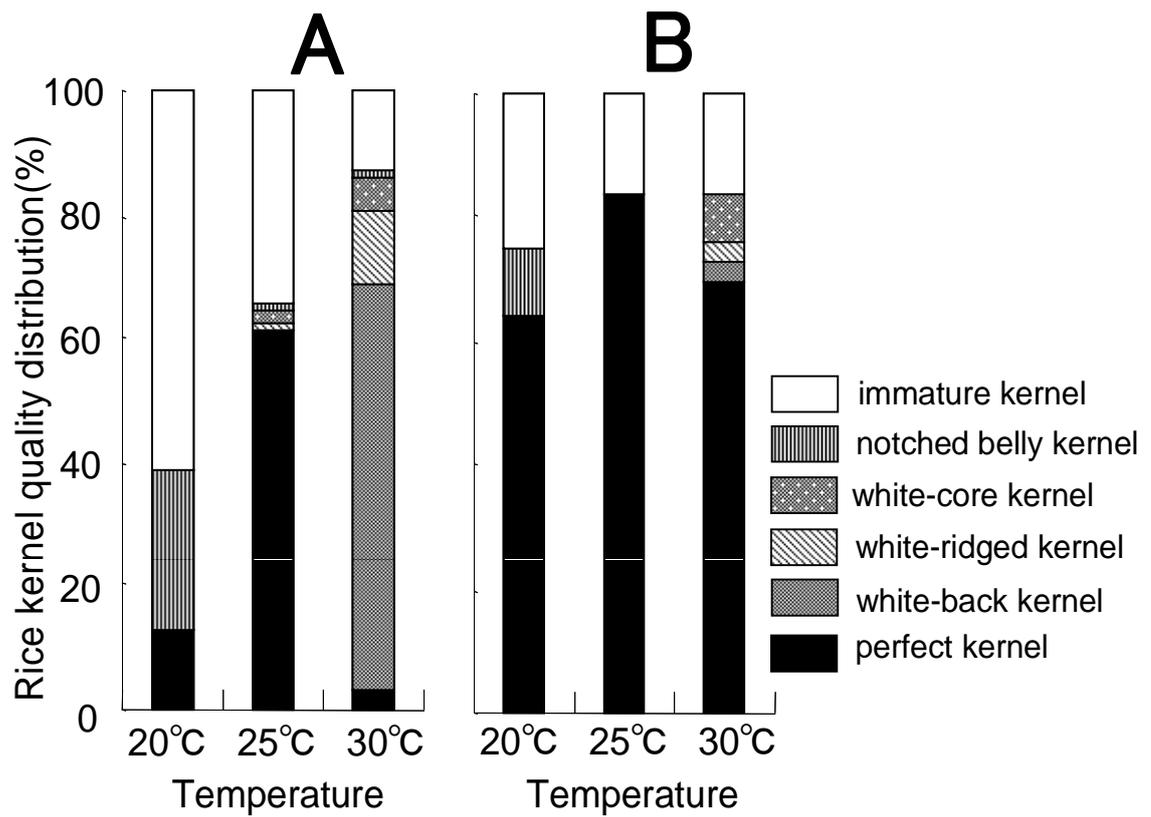


Fig. 18 Influence of thermal stresses on distribution of rice kernel quality. A, 'Hinohikari'; B, 'Nikomaru'.

## 第5章 登熟期の高温が高温耐性の異なる水稻品種の籾水分動態や内部形態，玄米外観品質，理化学特性に及ぼす影響

### 5.1 緒言

地球温暖化による作物の収量や品質の変化は，特に北アジアにおいて重大な問題となると考えられる．生育適温を超えた高温は，水稻の収量や玄米品質を低下させる(Pengら，2004)．玄米品質に対する高温の影響は，高温ストレスに対する品種固有の抵抗性に起因する(長戸ら 1961，長戸・江幡 1965)．水稻登熟初期の乳熟期は高温の影響が大きく，玄米の白濁化を招き(Tashiro・Wardlaw，1991)，穂は最も高温に敏感な部位である(佐藤・稲葉 1973，森田ら 2004)．Tashiro・Wardlaw (1991)は，背白粒と乳白粒は登熟温度が 27℃を超えると発生し，その発生は背白粒では 30℃，乳白粒では 33℃を超えると著しく増加したと述べ，Lisleら(2000)は，水稻を昼 38℃，夜 21℃条件で生育させた場合，白濁粒比率が増加したと報告した．玄米の白濁化は，子実におけるアミロプラストの形や大きさ，密度によって影響され，これらの特性は半透明の部分により異なる．高温で登熟した子実の白濁部分を顕微鏡で観察すると，デンプン粒の密度が低く，空隙があるために光が乱反射して白濁して見える(Tashiro・Wardlaw 1991，Zakariaら 2002)．高温で登熟した米の白濁程度は品種により異なる．例えば，高温に敏感な‘初星’や‘ヒノヒカリ’では 27℃を超えると白濁粒が発生し(若松ら，2007)，30℃処理を行った‘ヒノヒカリ’の玄米は，85%が背白粒となり，完全粒は認められなかった(Funaba ら，2006)．近年，高温耐性に優れる‘にこまる’(坂井ら，2007)や‘元気つくし’(和田ら，2010)が育成された．

Funabaら(2006)は，‘ヒノヒカリ’の子実における NMR 緩和時間は，温度ストレスに曝された水稻子実の物理的変化の観察に適した非破壊調査法であることを報告した．水稻子実における NMR スピン-格子緩和時間( $T_1$ )は登熟中期までの水分含量と密接な関係があり，スピン-スピン緩和時間( $T_2$ )は乾物生産量や米品質の良い診断指標となり，両者とも温度ストレスに良く応答した．しかし，高温耐性と子実の水分動態や形態学，物理化学的特性との関係などについて未解明の部分を残している．そこで，高温耐性品種‘にこまる’と‘元気つくし’および高温感受性品種‘ヒノヒカリ’の登熟期間における高温と子実の水分動態や籾の内部形態の関係について検討を行った．特に開花後の気温が高かった 2007 年では，30℃処理に対する順化が観察されたことから，2007 年の高温条件下におけるこれら品種の反応について論議した．

### 5.2 材料および方法

#### 5.2.1 供試材料

2007 年 5 月 25 日に，‘ヒノヒカリ’と‘にこまる’，‘元気つくし’の種子を播種し，6 月 21 日に 3.0kg の土壌を詰めた 5000 分の 1 ワグネルポットに移植した．どの品種も出穂するまで九州大学農学部(福岡市東区)の圃場で栽培した．水管理と防除は水稻の生育に応じて適宜実施した．施肥は基肥として高度化成肥料(N-P<sub>2</sub>O-K<sub>2</sub>O:4-4-4%)をポット当たり窒素 0.2g 施用した．さらに，追肥として硫安(N:21%)を，幼穂形成期および穂ばらみ期に各々窒素 0.1g 施用した．‘元気つくし’は 8 月 19 日，‘ヒノヒカリ’は 8 月 29 日，‘にこまる’は 9 月 1 日に出穂した．移植後の平均気温は 27.4℃から 27.6℃の間であった．開花期に自然光型ファイトロンに入れ，成熟期まで 25℃(±1℃)と 30℃(±1℃)の 2 水準の温度処理を行った．開花後，7 日毎に無作為に各処理 3 ポットを分析に供試した．測定には一次枝梗の最上位およびその次の枝梗に着生した籾を用い，5 反復で測定を行った．全ての測定は 7 日毎に行い，開花後(DAF)7，14，21，28，35，42，49 日に調査した．

### 5.2.2 <sup>1</sup>H-NMR 緩和時間と水分の測定

NMR の測定には毎回 20 粒の籾を供試した。スピン-格子緩和時間 ( $T_1$ ) は, Funabaら(2006)の方法で測定した。NMR 装置は永久磁石を内蔵した 25MHz-NMR ( $M\mu 25A$ , JEOL 社製)を用いた。籾 20粒を直径 10mm の NMR 管にゆるく詰め, NMR プローブにセットした。プローブ内の温度は 30°C に設定して測定した。

$T_1$  値は Saturation recovery 法を用いて, パルス系列 ( $90^\circ-\tau-90^\circ$ ) で測定した。この方法では,  $T_1$  値は,  $M\tau = M_0[1 - \exp(-\tau/T_1)]$  の式から求められ,  $M\tau$  は  $\tau$  時間後の巨視的磁化,  $M_0$  は平衡磁化を示す。 $\tau$  時間毎の FID (free induction decay) シグナルは 4 回の反復測定で累積され, 45 回の  $\tau$  回復時間は 3-300ms の値を示した。一連の反復時間は,  $T_1$  の長い成分の 5 倍以上に維持した。エコーのシグナル強度をプロットし, 非線形の最小二乗法で解析して  $T_1$  値を算出した。2 成分の分割は既報 (Iwaya-Inoue ら, 2004 a) に基づいて行った。 $T_2$  値は C P M G (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) または Solid Echo 法で測定した。 $T_2$  値は,  $M_{2n\tau} = M_0 \exp(-2n\tau/T_2)$  の式から求められ,  $n$  は  $180^\circ$  パルスの反復回数,  $M_{2n\tau}$  は CPMG ( $90^\circ x - \tau - 180^\circ y - 2\tau - 180^\circ y - 2\tau \dots$ ) 過程における最初の  $90^\circ$  パルス後  $2n\tau$  時間のプロトン信号の励磁振幅を示す。 $T_2$  値は 16 反復の累積から得られた 500 エコーの  $n$  値から計算され,  $\tau$  は 0.7ms から 1.6ms の範囲であった。Solid Echo 法 ( $90^\circ-\tau-90^\circ$ ) の場合は,  $T_2$  値が 1ms 以下の場合に用い,  $\tau$  は  $8\mu s$  であった。子実の Solid Echo シグナルは, 128 反復の累積から得られた。 $T_2$  値は,  $M(t) = \sum ai \times \exp[-(t/T_2i)^{mi}]$  の式から得られ,  $mi$  は Weibull の係数,  $ai$  は各成分の信号強度である。成分割合の相対値の  $fi$  は,  $fi = ai / \sum ai$  の式から算出した。エコーのシグナル強度をプロットし, 非線形の最小二乗法で解析して  $T_2$  値を算出した。各処理とも 4 回測定を行い, NMR 測定終了後の籾は, 90°C で 20 時間乾燥し水分と乾物重を測定した。

### 5.2.3 子実内部の形態観察

一次枝梗に着生した‘ヒノヒカリ’と‘にこまる’, ‘元気つくし’の開花 14 日後の籾を FAA (Formalin acetic alcohol: 80% ethanol: 100% acetic acid: formalin = 90:5:5) で固定し, クリオスタット (HM-505E, MICROM 社製) で 20-50  $\mu m$  の厚さの切片を作成して, 0.1% のトルイジンブルーで染色した。各品種の子実は各処理, 約 10 粒ずつ供試して, 顕微鏡 (ECLISE 80i, ニコン社製) を用いて内部形態を観察した。

### 5.2.4 米の品質と理化学特性の調査

全ての処理区の登熟歩合を調査し, 玄米 100 粒を供試して外観品質の調査を行った。調査は 4 反復で行った。登熟歩合と千粒重は 1.8mm のふるいで選別した玄米を用いて調査し, 玄米の外観品質は Hoshikawa (1993) の分類に基づいて目視で調査した。米の理化学特性は, パーレスト (ケツト科学社製) を用いて 90% 搗精した精米を用いて調査した。タンパク質含有率とアミロース含有率は, 松江ら (1991) の方法に基づき, オートアナライザー II 型 (Bran+Luebbe 社製) を用いて測定した。デンプンの糊化特性は, 豊島ら (1997) の方法に基づいてラピッド・ビスコ・アナライザー (R.V.A.: Rapid Visco Analyzer, Newport Scientific 社製) を用いて測定した。炊飯米の硬さ (H, Hardness) と付着性 (-H) は, 遠藤ら (1980) の方法に基づいて, テクスチロメーター (GTX-2, 全研社製) を用いて測定した。

### 5.3 結果

#### 5.3.1 登熟過程における‘元気つくし’の乾物蓄積と水分, NMR 緩和時間におよぼす高温の影響

25°Cおよび 30°Cで登熟した‘ヒノヒカリ’と‘にこまる’, ‘元気つくし’の, 籾乾物重と水分含有率, NMR 緩和時間を調査した. ‘にこまる’と‘元気つくし’におけるこれらの値は同様の変化を示したが, ‘ヒノヒカリ’ (Funabaら, 2006)とは異なる変化を示した. そこで, 代表例として‘元気つくし’の変化を Fig.19 に示した. 25°Cおよび 30°Cで登熟した‘元気つくし’の籾乾物重は, 開花後 21 日 (DAF21)までは直線的に増加し, それ以降の特徴的な変化はみられなかった (Fig. 19A). 籾水分は 25°Cおよび 30°C処理とも, 開花後 14 日までは急激に減少し, その後は緩慢に減少した (Fig. 19B). 登熟初期における籾乾物重と水分の変化は 30°C処理の方が大きかった.

水分動態の指標となる MNR 緩和時間 ( $T_1$ ,  $T_2$ ) は, 登熟期間を通して測定を行った. どの処理区においても, 開花後 7 日の  $T_1$  値は 250ms 前後で, 開花後 21 日には 50ms 前後まで低下した (Fig. 19C). 一方, 開花後 7 日の  $T_2$  値は 100ms 前後で, 黄熟期の開花後 28 日にかけて急激に 1ms 以下まで減少した (Fig. 19D). 全体的にみて, 登熟初期における籾の  $T_1$  および  $T_2$  値は, 30°C処理区が 25°C処理区よりも低く推移し,  $T_2$  値よりも  $T_1$  値の方が温度に敏感に反応した.

#### 5.3.2 登熟初期の子実におよぼす高温の影響

高温に対する反応の品種間差異を明らかにするため, 登熟初期の開花後 7 日および開花後 14 日の子実におよぼす高温の影響を調査した (Fig. 20). ‘ヒノヒカリ’では, 高温により籾乾物重が増加し, 水分が減少し,  $T_1$  値の長い成分と短い成分は 100ms と 3s の間であった. これは, 主として液胞に存在する自由水が保持されていることを示している (Hills・Remigereau 1997, Iwaya-Inoue・Nonami 2003, Iwaya-Inoueら 2004a, 2004b, Funabaら 2006). ‘ヒノヒカリ’の子実における  $T_1$  値は, 登熟中期までの水分含有率と密接な関係が認められた. 対照的に, ‘にこまる’の籾乾物重や水分に関する調査項目には高温の影響は認められなかった. ‘元気つくし’の温度反応は, ‘ヒノヒカリ’と‘にこまる’の間であった. 開花後 14 日の‘ヒノヒカリ’および‘にこまる’, ‘元気つくし’の子実における珠心表皮の状態を, 25°Cおよび 30°C処理で比較した (Fig. 21). 30°C処理では, ‘にこまる’と‘元気つくし’の珠心表皮における高温の影響は軽微であったが, ‘ヒノヒカリ’では珠心表皮は明らかに消失していた. それに対して, ‘にこまる’と‘元気つくし’の珠心表皮は開花後 21 日に消失した (データ省略).

#### 5.3.3 玄米品質や米の理化学特性におよぼす高温の影響

収量や千粒重に対する高温の影響は, 3 品種とも認められなかった. 30°C処理区における‘にこまる’と‘元気つくし’の登熟歩合は 85%と 89%, 白未熟粒の割合は 4.4%と 3.9%であった (Table 11). 対照的に, ‘ヒノヒカリ’では 92%と 22%で, 高温により白未熟粒が増加した. ‘ヒノヒカリ’の白未熟粒は, 基白粒や背白粒, 乳白粒, 心白粒であり, 30°C処理ではこの全てが増加した.

Table 12 に精米の理化学特性を示した. 登熟期の高温は, アミロース含有率や炊飯米の硬さ (H), 付着性 (-H, ‘ヒノヒカリ’を除く) を減少させ, 米が軟らかく, 粘りが少なくなった. さらに, 30°C処理では, 最高粘度とブレイクダウンは高く, 最終粘度は低くなった. 高温は米のタンパク質含有率を増加 (本庄, 1971), アミロース含有率を減少させ (茶村ら 1979, Yamakawaら 2007), 最高粘度やブレイクダウンを増加させる (前重, 1984). 今回もこれらの報告と同様の結果が得られたが, 精米の

タンパク質含有率は、2つの温度処理区で5.3%と5.6%と差が小さく、明らかな差は認められなかった。

## 5.4 考察

### 5.4.1 各品種の籾乾物重や水分含有率、水分動態におよぼす登熟初期の高温の影響

‘にこまる’と‘元気つくし’の子実は高温耐性を示したのに対し、‘ヒノヒカリ’は高温感受性を示した (Table 11)。高温は登熟初期における子実の生長を加速させるが、登熟後期の生長を抑制し、最終的には粒重を減少させる(松島・真中 1957, 長戸・江幡 1965)。高温条件下における‘元気つくし’の籾乾物重は、これらの報告と同様の推移を示した (Fig. 19A)。

NMRによる2次元画像は、開花後10日および15日の胚乳表面における強い信号強度の部分を明確に示している (Horigane ら, 2001)。本研究において、‘ヒノヒカリ’と‘にこまる’、‘元気つくし’の開花後14日の籾水分含有率と乾物重には、Funabaら(2006)と同様に密接な関係が認められた (Fig. 20)。水稻子実における同化産物の蓄積は水の移動と関連している。例えば、水稻の登熟期の胚乳におけるNMR信号強度の減少は、デンプン蓄積組織における乳熟期から糊熟期への変化や、乳白から半透明への変化と関連している (Horigane ら, 2001)。開花後15日以前の子実の水分は、表面層や果皮維管束を通じて分配される。乳熟期は温度に敏感で、胚乳のサイズを決定する重要な時期である (Hong ら, 1995)。これらのことから、 $T_1$ 値は登熟初期において温度ストレスに曝された水稻子実の、水分動態に関する定量的指標であることを示している。興味深いことに、‘にこまる’の登熟初期において、籾乾物重や水分含有率、NMR( $T_1$ )値は、25°C処理と30°C処理区間に有意な差はみられず、‘元気つくし’も同様な傾向で、高温耐性品種の特性と思われる。

### 5.4.2 高温耐性品種の登熟初期における子実の組織学的特性

長戸ら(1961)は、背白粒の発生程度は、水稻品種の高温適応性に密接に関連していると報告した。本研究では、開花期から成熟期まで30°C処理を行った場合、‘にこまる’と‘元気つくし’における白未熟粒の発生はわずかであったが、高温感受性の‘ヒノヒカリ’では白未熟粒が22%発生した (Table 11)。高温登熟の場合、水稻子実におけるデンプン粒の密度が低く、粒重が軽くなり、異常な白濁粒が増加する (Resurreccionら 1977, Lisleら 2000)。胚乳の中心部や腹側に不透明な白濁がある米(心白粒と腹白粒)は、胚乳細胞の配列が不規則であることが報告されている (松田ら, 1989)。

高温で登熟した‘にこまる’と‘元気つくし’の珠心表皮には高温の影響は認められなかった (Fig. 21)。しかし‘ヒノヒカリ’では、30°C処理の開花後14日に珠心表皮の消失が認められた。登熟過程における胚乳の発達には、穎果内部への同化産物や水分の輸送に伴って進行する (星川 1967, Hoshikawa 1972)。Heら(1990)は、登熟初期に32/27°C(昼/夜)処理を行った‘コシヒカリ’子実内部のデンプンは温度の影響を受けたと述べている。さらに、mRNAの局在をみると、水稻の細胞壁におけるインベルターゼ1(*OsCINI*)は維管束柔組織の背側や外皮、周辺細胞で特異的に発現しており、珠心突起や珠心表皮における発現は弱い (Hiroseら, 2002)。本研究における結果は、これらの報告を裏付けている。

### 5.4.3 高温で経過した2007年における‘ヒノヒカリ’の玄米品質

登熟期の高温は‘ヒノヒカリ’子実の生長速度や重さ、水分動態、形態学的特性、玄米品質に影響

響をおよぼした (Figs. 19-21). これらの現象は他の品種や穀物でも観察されている (Hong ら 1995, Lisle ら 2000, Morita ら 2005, Tahir ら 2005). 一方, 本研究では, ‘ヒノヒカリ’ や ‘にこまる’, ‘元気つくし’ の登熟歩合や千粒重 (Table 11), 精米のタンパク質含有率 (Table 12) には, 高温の影響が認められなかった. Funaba ら (2006) の 2004 年における研究では, 30°C 処理区の ‘ヒノヒカリ’ には完全粒がなく 85% が背白粒であったが, 2007 年における本研究では, 同じ ‘ヒノヒカリ’ であるにもかかわらず, 背白粒を含む白未熟粒の割合は 22% であった. 松島・真中 (1957) は, 日照は高温ストレスを受けた子実の障害回復を促進すると報告した. 2004 年における開花前 14 日間と開花後 14 日間の日照時間は, 各々 69, 47 時間であったのに対し, 2007 年は各々 123, 64 時間と多かった (Table 13). 2007 年の多照が高温障害からの回復を促し, 白未熟粒が減少したと考えられる. さらに, ‘ヒノヒカリ’ の開花期は両年ともに 8 月 29 日であったが, 開花前 14 日間の平均気温は, 2004 年が 28.0°C, 2007 年が 29.6°C であった. 高温感受性の ‘ヒノヒカリ’ における両年の玄米品質の差からみて, 2007 年は開花前の高温が開花後の 30°C 処理に対する順化作用をもたらしたと推察される. HSP (Heat Shock Protein, 熱ショックタンパク質) 関連遺伝子である *HSP82* と *HSP22* は, 登熟期の 33/28°C 処理で発現が増加した (Yamakawa ら, 2007). さらに, *rHSP90* は水稻の熱ストレス反応や小胞体や葉緑体膜を経てタンパク質を輸送する際に, 様々な応答信号を発することで多くの役割を果たしている (Liu ら, 2006). 最近, ‘ヒノヒカリ’ の子実に 37°C, 2 時間の熱ストレス処理を行ったところ, 小胞体型 *ER-PDI* と *HSP90ER* が顕著に増加したことを報告した (Tanaka ら, 2008a). これらの結果は, 小胞体由来の熱ショックタンパク質における発現調節の信号応答は, 細胞質由来の熱ショックタンパク質よりも高温に敏感であることを示している.

高温感受性品種, 例えば ‘ヒノヒカリ’ では, 高温条件における乳熟期から糊熟期への変化が急激で, 子実中の水分含有率や同化産物蓄積の減少を招いている. 米の品質向上のためには, 今後, 高温ストレスに対する熱ショックタンパク質の機能を解明する必要がある.

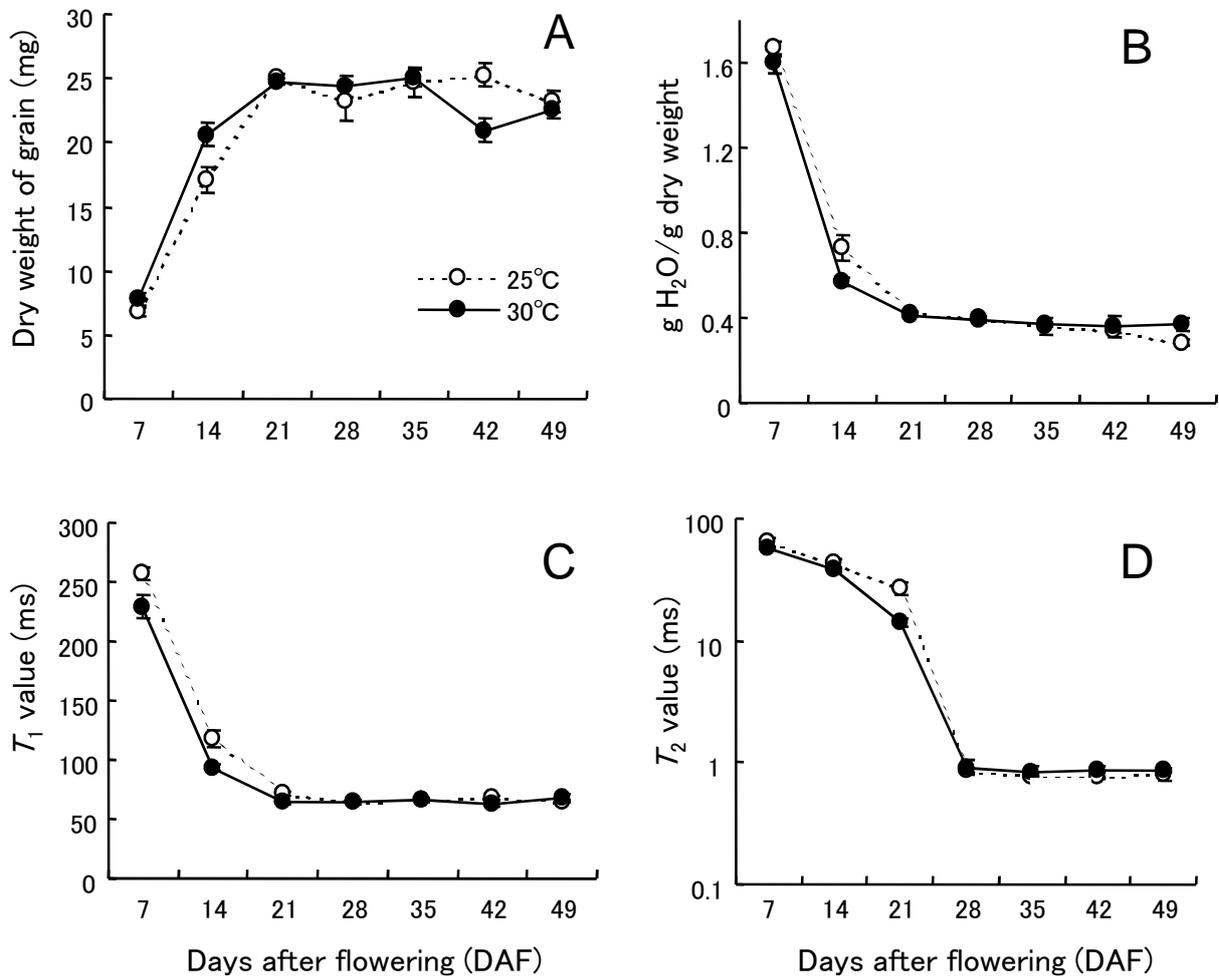


Fig. 19 Influence of heat stress on physiological characteristics of ‘Genkitsukushi’ rice grains during development and maturation. (A) dry weight, (B) water content, and NMR (C)  $T_1$  and (D)  $T_2$  relaxation time.

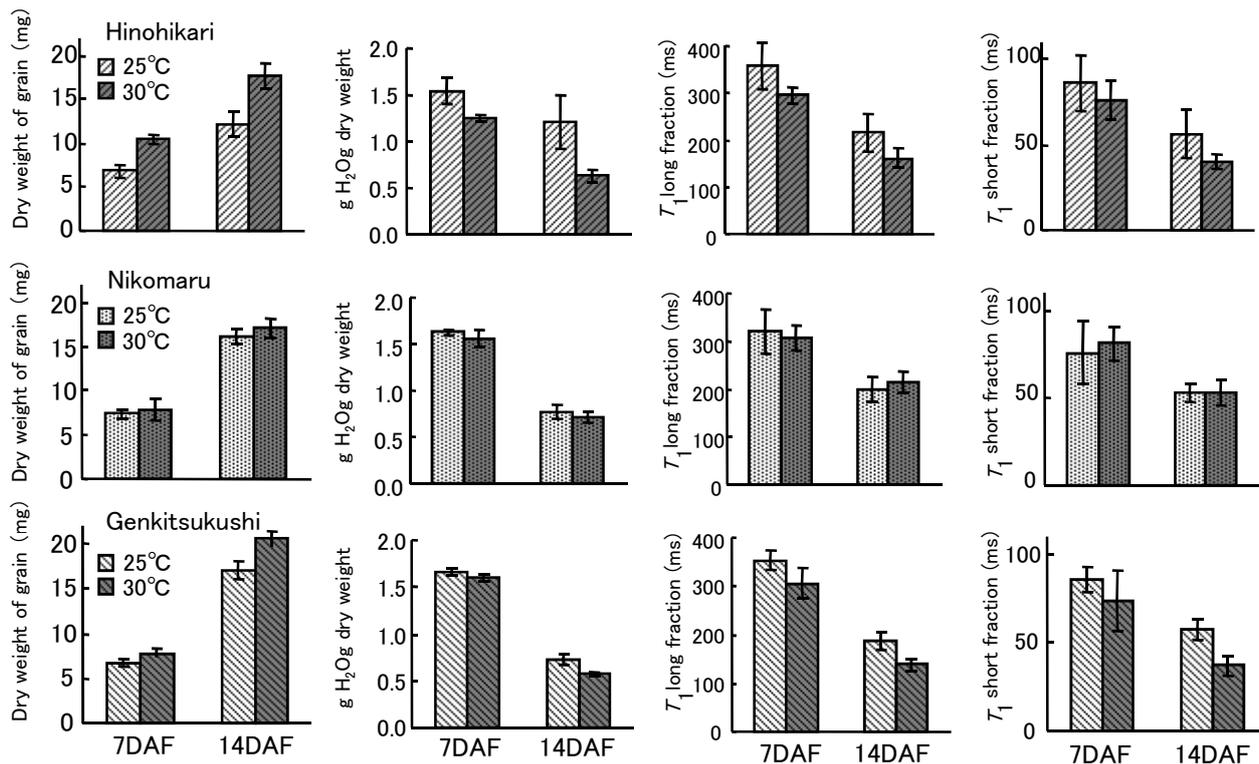


Fig. 20 Influence of heat stress on physiological characteristics (grain dry weight, water content, and  $T_1$  relaxation time) of ‘Hinohikari’, ‘Nikomaru’, and ‘Genkitsukushi’ grains at 7 and 14 days after flowering.

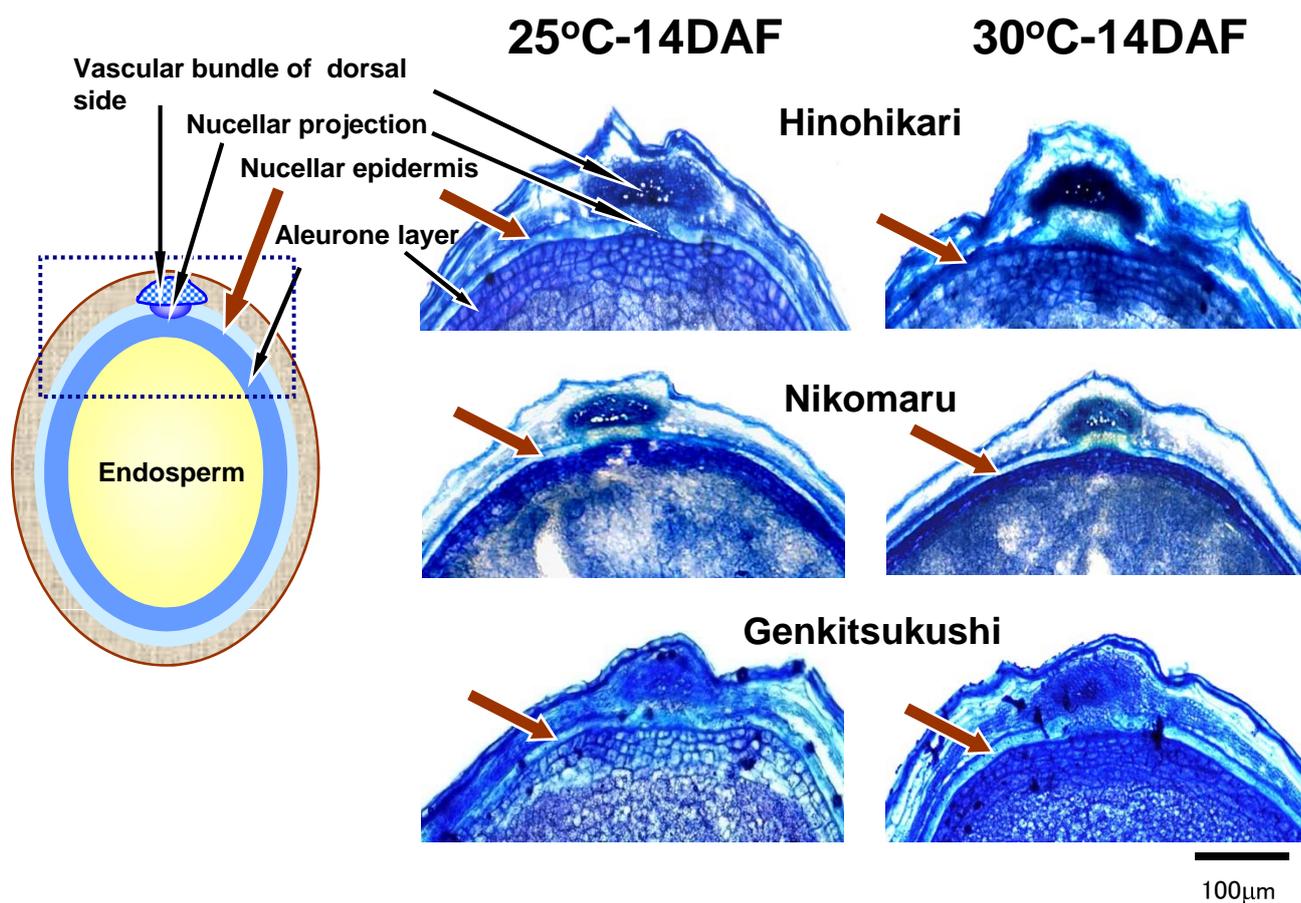


Fig. 21 Influence of high temperature on the morphological features of the rice grains at 14 days after flowering.

Left, Illustration of central cross section of a rice grain; Right, Samples were stained with 0.1% Toluidine Blue.

Table 11 Effects of high temperature on the proportion of ripened rice grains, the 1000-grain weight, and the proportions of various types of white immature kernel.

| Cultivar        | Temp. (°C) | Grains per pot | Ripened grain (%) | 1000-grain weight (g) | Milky white kernel (%) | White core kernel (%) | White backed kernel (%) | White based kernel (%) | White immature kernel (%) |
|-----------------|------------|----------------|-------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|
| Hinohikari      | 25         | 1244           | 88.8              | 21.8 ab               | 0.6 a                  | 2.4 a                 | 0.2 a                   | 1.4 ab                 | 5.3 a                     |
|                 | 30         | 1337           | 91.5              | 21.6 ab               | 4.6 b                  | 5.6 b                 | 8.6 b                   | 3.1 b                  | 22.1 b                    |
| Nikomaru        | 25         | 1513           | 84.1              | 22.2 b                | 0.6 a                  | 1.5 a                 | 0.0 a                   | 0.6 ab                 | 2.8 a                     |
|                 | 30         | 1389           | 84.8              | 21.7 ab               | 1.1 a                  | 1.6 a                 | 1.3 a                   | 0.4 ab                 | 4.4 a                     |
| Genkitsukushi   | 25         | 1473           | 82.7              | 21.4 ab               | 0.4 a                  | 0.0 a                 | 0.0 a                   | 0.0 a                  | 0.4 a                     |
|                 | 30         | 1494           | 88.6              | 20.9 a                | 1.1 a                  | 0.8 a                 | 1.2 a                   | 0.6 ab                 | 3.9 a                     |
| Cultivar (A)    |            | ns             | ns                | *                     | *                      | **                    | **                      | *                      | **                        |
| Temperature (B) |            | ns             | ns                | ns                    | **                     | *                     | **                      | ns                     | **                        |
| A×B             |            | ns             | ns                | ns                    | **                     | ns                    | *                       | ns                     | **                        |

White immature kernel includes Milky white, White core, White backed, and White based kernels. \*\* and \* are significant at 1% and 5% levels, respectively. ns: not significant at 5% level. Values followed by the same letter within a column are not significantly different at 5% level, based on Tukey's multiple range test.

Table 12 Effects of high temperature on protein and amylose contents, viscosity of milled rice, and on the texture of boiled rice.

| Cultivar        | Temp. (°C) | Protein (%) | Amylose (%) | Amylographic characteristics (R.V.U.) |            |            |              | Textural characteristics |         |       |
|-----------------|------------|-------------|-------------|---------------------------------------|------------|------------|--------------|--------------------------|---------|-------|
|                 |            |             |             | Max.visco.                            | Min.visco. | Break down | Final visco. | H                        | -H      | H/H   |
| Hinohikari      | 25         | 5.6         | 17.3 d      | 344 a                                 | 171 ab     | 173 a      | 288 bc       | 7.4                      | 0.18 bc | 43 ab |
|                 | 30         | 5.6         | 14.8 ab     | 407 bc                                | 174 ab     | 233 bc     | 280 ab       | 7.3                      | 0.18 bc | 42 ab |
| Nikomaru        | 25         | 5.4         | 17.5 d      | 343 a                                 | 175 ab     | 168 a      | 301 d        | 7.4                      | 0.19 c  | 38 a  |
|                 | 30         | 5.4         | 15.2 b      | 391 bc                                | 179 b      | 212 b      | 293 cd       | 7.2                      | 0.13 ab | 55 ab |
| Genkitsukushi   | 25         | 5.3         | 16.2 c      | 379 b                                 | 170 ab     | 208 b      | 286 bc       | 7.7                      | 0.13 ab | 59 bc |
|                 | 30         | 5.4         | 14.1 a      | 419 c                                 | 165 a      | 254 c      | 269 a        | 7.4                      | 0.10 a  | 75 c  |
| Cultivar (A)    |            | ns          | **          | **                                    | *          | **         | **           | ns                       | **      | **    |
| Temperature (B) |            | ns          | **          | **                                    | ns         | **         | **           | *                        | *       | *     |
| A×B             |            | ns          | ns          | ns                                    | ns         | ns         | ns           | ns                       | ns      | ns    |

Abbreviations: R.V.U; rapid visco units, H; hardness, -H; adhesion, H/-H; hardness/adhesion. \*\* and \* are significant at 1% and 5% levels, respectively. ns: not significant at 5% level. Values followed by the same letter within a column are not significantly different at 5% level, based on Tukey's multiple range test.

Table 13 Air temperature and duration of sunshine during the 14 days before and after flowering in 2004 and 2007.

| Year             | Cultivar      | Flowering Stage | 14 days before flowering |                   |                   |                    | 14 days after flowering |
|------------------|---------------|-----------------|--------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------------|
|                  |               |                 | Max.temp.<br>(°C)        | Min.temp.<br>(°C) | Ave.temp.<br>(°C) | Sunshine<br>(hour) | Sunshine<br>(hour)      |
| 2004             | Hinohikari    | 29.Aug.         | 31.9                     | 25.3              | 28.0              | 68.9               | 46.5                    |
| 2007             | Hinohikari    | 29.Aug.         | 33.8                     | 26.6              | 29.6              | 122.5              | 63.8                    |
|                  | Nikomaru      | 1.Sep.          | 33.7                     | 26.1              | 29.0              | 86.6               | 80.8                    |
|                  | Genkitsukushi | 19.Aug.         | 34.5                     | 26.7              | 30.1              | 128.7              | 78.4                    |
| 30 years average | —             | 29.Aug.         | 31.4                     | 24.3              | 27.4              | 85.0               | 80.9                    |

Fukuoka District meteorological Observatory.

## 第6章 水稻‘初星’，‘ふさおとめ’の遺伝子発現における高温ストレスの影響

### 6.1 緒言

厳しい環境下にあっても動くことができない植物は、その様々な生長段階において変動する環境要因、特に温度変化に対処する必要がある。生育適温から外れた温度条件は光合成や代謝、発生過程など、種々の生命活動を阻害し、その結果として生長速度の低下や不可逆的な傷害を生じる。高温ストレスの下では、細胞活動の保護に働く一連のタンパク質のファミリーや代謝経路が顕著に誘導され、それらを熱ショック応答と呼ぶ。熱ショック応答に関するこれまでの多くの研究により、進化的に高度に保存されたタンパク質が高温ストレスや他の環境ストレスに応答して速やかに誘導されることが示されており、そのようなタンパク質を熱ショックタンパク質 (HSP, Heat Shock Protein) と呼ぶ。

高温ストレスに加えて、塩や乾燥、強光、紫外線、酸化的ストレス、病虫害や薬剤処理などはそれぞれ個別のプロファイルで植物 HSP を誘導する。HSP はストレス環境下における植物の生存に必須であるだけでなく、細胞内におけるタンパク質の「品質」管理、折りたたみ、細胞内局在、分解、細胞内小器官の維持など、通常の生育条件でも重要な働きをしている。HSP は *HSP100*, *HSP90*, *HSP70*, *HSP60* や低分子量 HSP のようにそれらの分子量や共通した構造により分類されている。一般的に HSP は ATP を加水分解しながら標的タンパク質の折り畳みを調節する分子シャペロンとして機能しており、変成タンパク質の疎水的な表面領域や巻き戻されたポリペプチドに結合して、高温ストレス下で変成したタンパク質の凝集を抑制している。

HSP 遺伝子の発現は主に熱ショック応答エレメント結合因子 (HSF) により調節されており、HSF は HSP 遺伝子の上流プロモーターにある熱ショック応答エレメント (HSE) と呼ばれる cis エレメントに結合することで調節を行う。近年の研究では高温、乾燥ストレスが乾燥応答性転写因子 (DREB) を活性化することで一連の HSP 遺伝子を誘導することが報告されている (Sakuma ら, 2006)。

イネは全ゲノム塩基配列と遺伝子の解読されたモデル実験植物の代表である。全長 cDNA が収集されており、さまざまな遺伝的背景と表現型を示す多様な品種コレクションが大規模に利用可能であり、応用的な研究に適している。地球温暖化問題は温帯地域においても農作物の収量や品質をもたらさだろうと予想されている (Horie ら 2005)。イネ HSP 遺伝子を形質導入した研究から、*HSP101* (Katiya-Agrwal, 2003), *HSP90* (Liu ら, 2009) や *HSP17* (Sato・Yokoya, 2008) 遺伝子の過剰発現は出芽酵母や水稻幼植物の高温、塩や乾燥ストレスへの耐性を改善することが示されているもののその詳細なメカニズムは明確にされていない。コムギ品種、‘Mustang’では葉緑体型低分子量 HSP, *HSP27* が高レベルで発現し、それが高温耐性に関与していることが報告されている (Joshi ら, 1997)。高温ストレスに対するイネ胚乳の登熟歩合や品質の変動と HSP との関連性を調べるため、高温感受性の異なる水稻品種、‘ふさおとめ’と‘初星’を用いて HSP 遺伝子の発現プロファイルを解析した。

### 6.2 材料および方法

#### 6.2.1 供試材料

2008年5月8日に水稻品種‘ふさおとめ’と‘初星’を播種し、5月31日に1/5000ワグネルポットに移植した。両品種とも出穂するまで九州大学農学部(福岡市東区)の圃場で栽培した。出穂後、各時期に25℃および30℃処理区に移動させて温度処理を行った。処理後、植物組織(約0.5g,

生重量) を採取して液体窒素中で凍結後,  $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した.

### 6.2.2 全 RNA 抽出と cDNA 合成

水稻組織から全 RNA を SDS/フェノール/塩化リチウム法により調製した. 約 0.5g のイネ組織を液体窒素と共に乳鉢内で破碎し, 1,LRNA 抽出緩衝液 (100mM Tris-HCl, pH8.0, 10mM EDTA-NaOH, 100mM LiCl), 1ml TE 飽和フェノール, 1ml クロロフォルムを順次加えて混合した. その破碎液をプラスチックチューブに移して 10,000xg, 10 分間の遠心分離操作を行い, 上層の水溶性画分を新しいプラスチックチューブに移し 0.4ml TE 飽和フェノールと 0.4ml クロロフォルムを加えて混和して, 再度 10,000xg, 10 分間の遠心分離操作を行った. 上層の水溶性画分を新しいプラスチックチューブに移して 1/3 容量の 10M LiCl を加えて混和し,  $-30^{\circ}\text{C}$  において 1 時間静置して RNA を沈殿させた. その混合液を 10,000xg, 20 分間の遠心分離操作を行い粗 RNA 画分を沈殿させた. 上清みを棄てて沈殿に 1ml の 2M LiCl, 50mM EDTA-NaOH を加え, 良く攪拌して沈殿に混入している多糖と DNA を溶解させた. 再度, その混合液を 10,000xg, 20 分間の遠心分離操作を行い粗 RNA を含む沈殿を回収した. 粗 RNA の沈殿を 0.5ml の 1xTE 溶液に溶解した後, 0.3ml TE 飽和フェノールと 0.3ml クロロフォルムを加えて良く混和してから 10,000xg, 10 分間の遠心分離操作を行った. 上層の水溶性画分を新しいプラスチックチューブに移して 0.5ml クロロフォルムを加えて混和して, 再度 10,000xg, 10 分間の遠心分離操作を行った. RNA を含む上層の水溶性画分を新しいプラスチックチューブに移して 50ml の 3M 酢酸-Na, pH5.2 と 1ml の 99%エタノールを加えて混和して再度 10,000xg, 10 分間の遠心分離操作により RNA を沈殿させた. 上清を棄てて 1ml の 70%エタノールを加えて沈殿を洗浄して 10,000xg, 5 分間の遠心操作を行った後, 上清を棄ててペーパータオルの上に逆さまに伏せて RNA 沈殿物を乾燥させた. 100ml 滅菌水に RNA 沈殿物を溶解し, RNA 濃度は日立 U-1800 分光光度計と石英セル(光路長, 1cm)を用いて波長 260nm 紫外線の吸光度により測定した.

1本鎖相補 DNA(cDNA)はイネ全 RNA, オリゴ dT17 および Rver Tra Ace 逆転写酵素を用いて合成した. 1mg 全 RNA と 2.5pmol オリゴ dT を混和して  $65^{\circ}\text{C}$ , 5 分の熱変成処理後, 氷上に 2 分間静置してアニーリング操作を行った. その後, RNA-オリゴ dT 混合物, 最終濃度 500mM dNTPs, 5unit Rver Tra Ace 逆転写酵素を含む容量 20ml の反応液において  $42^{\circ}\text{C}$ , 60 分間の保温の後,  $95^{\circ}\text{C}$ , 5 分間酵素の失活処理を行い cDNA を合成した.

### 6.2.3 半定量的 RT-PCR 解析

RT-PCR は水稻組織から調製した RNA より合成した cDNA と GoTaqDNA ポリメラーゼおよび遺伝子特異的オリゴ DNA プライマーを用いて常法に従って行った. 各チューブに 10ml, 2xGoTaqDNA ポリメラーゼ混合液, 1ml cDNA, 最終濃度 400nM オリゴ DNA プライマーと滅菌水を加えて最終容量 20ml にて反応溶液を調製した. PC-812 プログラム恒温器を用いて, 次に示す温度サイクル反応を行った.  $94^{\circ}\text{C}$ , 2 分 > ( $94^{\circ}\text{C}$ , 10 秒 >  $58^{\circ}\text{C}$ , 10 秒 >  $72^{\circ}\text{C}$ , 30 秒) x 27-30 サイクル, >  $72^{\circ}\text{C}$  5 分 >  $4^{\circ}\text{C}$ , 99 分. 水稻 actin 転写物由来の RT-PCR 産物をスタンダード遺伝子として用いた. PCR 増幅産物のうち 6ml を電気泳動槽 Mupid-EX に設置した 1.5%アガロースゲルにアプライして, 100V, 15 分間の電気泳動した. ゲルをヨウ化エチディウム溶液にて DNA 染色した後, DNA 撮影装置 FluorChem を用いて波長 302nm 紫外線照射下でアガロースゲル内の PCR 産物を撮影記録した.

## 6.3 結果

### 6.3.1 子実生長期における高温ストレスの影響

25°Cと30°C処理区における登熟中の水稻子実(籾)の生重量の推移を解析した。出穂0日から14日(DAF)にかけて‘初星’の籾生重量は25°C処理区に比べて30°C処理区でより急速に上昇した。続いて30°C区において‘初星’の籾生重量は14DAFに最大値に達し、その後14-21DAFの間に一定値を保った(Fig. 22A)。それに対して、25°C区では0-21DAFの間に連続して籾生重量が増加した。一方、‘ふさおとめ’の籾生重量は、25°C区および30°C区においても同様に0-14DAFで一様に速やかな増加を示し、その後14-21DAFの間に緩やかに増加した。‘初星’の籾の最大生重量は25°C区で35mg/grain、30°C区で40mg/grainに達しており、‘初星’の胚乳肥大過程は25°C区より30°C区で短時間に終了していることが示唆された。‘ふさおとめ’の場合、25°C区と30°C区の間で籾の最大生重量(38mg/grain)や胚乳肥大の速度に差は見られなかった(Fig. 22B)。高温ストレス下での植物体当たりの収量低下は‘ふさおとめ’より‘初星’でより顕著であった(データ省略)。登熟歩合は‘初星’の場合、30°C区で5.1%、25°C区で76.9%であり、‘ふさおとめ’の場合、30°C区で22.8%、25°C区で76.0%であった。登熟期における胚乳肥大過程と品質調査の結果から‘初星’と‘ふさおとめ’の高温感受性の違いの原因は、光合成生産物の転流と胚乳のデンプン/タンパク質蓄積の過程にあることが示唆された。

### 6.3.2 胚乳生長期における *HSFA2* の発現プロファイル

水稻品種間の高温ストレスへの感受性の違いにHSP遺伝子の発現調節システムが関与しているかどうか判別する目的で、‘初星’と‘ふさおとめ’の間での籾における*HSFA2*の発現レベルを比較した。胚乳肥大初期の水稻を25°C区から30°C区に移したときに、*HSFA2*の発現レベルは‘初星’より‘ふさおとめ’で高いレベルを示した。興味深い事に、7-14DAFの期間に‘ふさおとめ’では*HSFA2*は30°C区において顕著に高いレベルで発現していたのに対して、‘初星’では30°C区で同じ時期にはほとんど検出されないか低い発現レベルを示していた(Fig. 23)。

### 6.3.3 細胞質型 *HSP90* および小胞体型 *HSP90* の発現プロファイル

‘初星’と‘ふさおとめ’の籾において*HSP90*関連遺伝子の発現レベルに相違があるかを明らかにするために、籾の細胞質型*HSP90*の発現を調査した。7-14DAFの期間、25°C区での30°C区においても細胞質型*HSP90*の発現レベルは‘初星’より‘ふさおとめ’がより高いことが示された。

細胞質型*HSP90*は様々な細胞内情報伝達や代謝系において多面的な機能に関与することが知られており、高温ストレスの下で*HSP90*遺伝子の発現レベルが上昇する他に、非ストレス条件においても細胞生存に必須の機能を持つ。Liuらの報告(2006)によれば、細胞質型*HSP90*は高温、塩、ポリエチレングリコールや高pH処理に応答して、葉、茎や根での発現が顕著に上昇することや、イネ細胞質型*HSP90*遺伝子を過剰発現することで出芽酵母やタバコにおいて様々な環境ストレスへの耐性が向上することが示された。また細胞質型*HSP90*遺伝子は非ストレス条件下でも比較的高い発現レベルを示して、様々なタンパク質と複合体を構成していることが知られている。

水稻品種間および高温ストレスの有無による小胞体型*HSP90*遺伝子の発現の違いについて調べるため、‘初星’と‘ふさおとめ’の間で小胞体型*HSP90*遺伝子の発現プロファイルを解析した。‘ふさおとめ’では14DAFにおいて25°C区と30°C区で小胞体型*HSP90*の発現は低いレベルではあるが発現が認められた。一方、‘初星’では同じ時期に二つの温度処理区でいずれも小胞体型*HSP90*

遺伝子の発現は非常に低いかほとんど検出されなかった(Fig.23).

#### 6.3.4 HSP101 の発現プロファイル

半定量的 RT-PCR の結果より, ‘ふさおとめ’の 7-14DAF の時期における HSP101 の発現は 25°C 区より, 30°C 区でより高い発現が観察された. 一方, ‘初星’では 7-14DAF の時期に 25°C 区と 30°C で HSP101 の発現レベルに顕著な差は認められなかった (Fig. 23).

イネ HSP101 を過剰発現することで出芽酵母の高温耐性が強化されることや, イネ HSP101 は高温ストレスで顕著に誘導されるのに対し, 塩ストレス, 低温やアブシジン酸処理では変化しないことが報告されている(Katiya-Agrawalら, 2003). 一方, Singla・Grover(1993)はイネ HSP101 が高温ストレスと同様に低温, 塩ストレスやアブシジン酸でも誘導されると報告している. これは, イネ HSP101 は様々な環境ストレスに応答して, 生育段階および器官の違いにより異なるパターンで発現誘導されることが推測される. 一般に HSP101 は高温の下で変成したタンパク質が凝集するのを防ぎ, 細胞質内でタンパク質を可溶性に保つ働きをしていると考えられる.

#### 6.3.4 葉緑体低分子量熱ショックタンパク質 HSP26 と小胞体型シャペロン CaPDI の発現プロファイル

‘ふさおとめ’の葉緑体型低分子量熱ショックタンパク質 HSP26 は 7DAF の時期に 30°C 区で比較的高い発現レベルを示し, それ以外の時期や温度条件では検出されたものの顕著な違いは示されなかった. 一方, ‘初星’において 14DAF の時点では 30°C 区で HSP26 は低いレベルで発現が見られたものの, それ以外の時期や温度条件ではほとんど検出されなかった (Fig. 23).

‘ふさおとめ’において小胞体型シャペロン CaPDI は 7DAF の時点で 25°C 区より 30°C 区で高い発現レベルが観察されたが, 14DAF の時点ではその発現レベルは 25°C 区, 30°C 区でそれぞれ低い発現レベルしか観察されなかった. 一方, ‘初星’において HSP26 の発現は 25°C 区, 30°C 区および 7DAF, 14DAF のいずれの条件でも低レベルかほとんど検出されなかった (Fig. 23).

### 6.4 考察

#### 6.4.1 ‘初星’と‘ふさおとめ’の HSFA2 発現プロファイルの違い

高温感受性品種の‘初星’, 高温耐性品種の‘ふさおとめ’の2品種を用いて, 登熟の生理過程と熱ショックタンパク質遺伝子の発現における高温の影響を検討した. 登熟の生理過程と胚乳品質の解析結果から, ‘初星’と‘ふさおとめ’の高温耐性の違いは, 登熟期における光合成生産物の転流と胚乳デンプンおよびタンパク質の貯蔵メカニズムにより説明できる. イネ籾を材料に用いた半定量的 RT-PCR の結果より, 小胞体型 HSP90, 小胞体シャペロン CaPDI と葉緑体型低分子量 HSP, HSP26 の発現は全般的に, ‘初星’より‘ふさおとめ’が高いレベルを示した. また高温処理により, これらの熱ショックタンパク質遺伝子は‘ふさおとめ’では顕著な発現増加を示したのに対し, ‘初星’ではその増加は認められなかった. 25°C 区, 30°C 区の両者の 7DAF の時点では HSFA2 の発現は初星と比較して‘ふさおとめ’でより高いレベルを示した. 熱ショック応答因子 HSF は高温ストレスに応答した熱ショックタンパク質遺伝子の発現誘導で中心的な役割を持つことが知られており, HSF による HSP 遺伝子誘導メカニズムが植物, 動物, 菌類などでも進化的に高度に保存されている. 従って, ‘ふさおとめ’において HSFA2 が高い発現レベルを示したことは, HSFA2 の下流で調節される一連の HSP 遺伝子発現の促進をもたらし, その結果, 本品種が高温耐性を獲得することにつながったと

推定される。14DAF の時点で‘初星’より‘ふさおとめ’の *HSP26* の発現レベルが高いという結果は、*HSFA2* により調節を受ける HSP 遺伝子の発現が‘ふさおとめ’では、登熟初期だけでなく登熟中期においても高いレベルに保たれていることを示している。

#### 6.4.2 細胞質型 *HSP90* の役割

*HSFA2* の発現と同様に、細胞質型 *HSP90* は‘初星’と比較して‘ふさおとめ’で全般的により高く発現していることが示された。細胞質型 *HSP90* は以下の過程を経て HSF を活性化している:1)非ストレス条件の下では HSF は細胞質型 *HSP90* と複合体を形成して転写活性を持たない状態となっている, 2)高温ストレスにより細胞質タンパク質が変成状態に移行する, 3)HSF/*HSP90* 複合体から離れた *HSP90* が変成タンパク質に結合する, 4)複合体による活性抑制が解除された HSF は三量体形成して核内に移行する, 5) 転写活性化能を有する三量体 HSF は HSP 遺伝子の上流プロモーター領域の熱ショック応答エレメント(HSE)に結合して転写活性化を引き起こす。細胞質型 *HSP90* 遺伝子も同じように HSF により発現を増加する。このようにして, ‘ふさおとめ’において登熟初期の *HSFA2* の発現レベルが高いことが細胞質型 *HSP90* の発現レベルを高く維持することに働き, その結果, 本品種の高温耐性が獲得されている可能性がある。

#### 6.4.3 小胞体型 HSP の役割

半定量的 RT-PCR により, 小胞体内で分泌タンパク質輸送に関わりのある HSP, 小胞体型 *HSP90* と小胞体型 Ca 結合性プロテインジスルフィドイソメラーゼ (*CaPDI*) の遺伝子が 7DAF の時点で‘初星’より‘ふさおとめ’の方が比較的発現レベルが高いことが示された。また‘ふさおとめ’において 25°C 区より, 30°C 区の方がそれらの小胞体型 HSP の発現レベルが高いことが示された。小胞体型 *HSP90* は N 末端側にシグナルペプチドと C 末端側に小胞体局在シグナルを持ち, 小胞体内を經由する分泌タンパク質の折り畳みに働いている。水稻品種‘ヒノヒカリ’では高温ストレスにตอบสนองして小胞体型 *HSP90* が誘導されるのに対して, 細胞質型 *HSP90* は顕著な変動を示さない(データ省略)。イネの高温耐性獲得において, 細胞質型 *HSP90* に加えて小胞体型 *HSP90* も重要な役割をしていることを示唆している。Ishiguro ら(2002)は, シロイヌナズナの花形成において小胞体型 *HSP90* の変異が生殖器官に異常形態を引き起こすこと, および小胞体型 *HSP90* 変異株は高温条件の下で野生型と比較して著しい生育抑制が起きることを示した。このようにして, 小胞体型 *HSP90* の発現レベルや機能は植物の生殖器官の形態形成の温度感受性に大きな影響をもたらす可能性がある。*CaPDI* は  $Ca^{2+}$  イオン結合モチーフとプロテインジスルフィドイソメラーゼ活性を持ち, 小胞体内のタンパク質のシステイン側鎖間の S-S 結合の維持形成に関与しており, 分泌タンパク質や小胞体-ゴルジ間経路を介した貯蔵タンパク質の蓄積に働いている。登熟期のコムギ胚乳において PDI の発現レベルが減少していくことが報告されている。さらに PDI タンパク質は登熟期の胚乳で非ストレス条件, 高温ストレス条件のいずれにおいても顕著に蓄積するにも関わらず, PDI 発現レベルは非ストレス条件下より高温条件で低下している(Hurkman ら, 1998)。このようにして, 胚乳の貯蔵物の状態に関連する胚乳品質に対する PDI 発現の効果は, mRNA とタンパク質の両方のデータを用いて評価することで可能になる。

#### 6.4.4 葉緑体 *HSP26* の役割

これまでのデータからタンパク質分泌や色素体に関連した HSP 遺伝子が高温ストレスに対応した

胚乳品質と登熟過程に関与していることが示された。それに加えて、‘ふさおとめ’において *HSP26* が 25℃区より 30℃区においてより高いレベルで発現しているのに対して、‘初星’では 25℃区と 30℃区で *HSP26* の発現にほとんど差がなかった。

*HSP26* は植物特有の低分子量 HSP であり、葉緑体に局在する。*HSP26* は葉緑体ストロマ内のタンパク質の維持安定化に働いており、そこでは一連のデンプン合成系酵素が機能している。*HSP26* はコムギ品種 ‘Mustang’ で見つかった高温耐性獲得に働く原因遺伝子であり、高温条件で発現上昇することが報告されている。

おそらく、胚乳品質、とりわけデンプン品質の高温感受性に関しては、細胞質で働く *HSP90cyt* や *HSP101* の発現より、むしろ葉緑体にある *HSP26* の発現レベルが重要であると考えられる。遺伝子発現の解析から、‘ふさおとめ’は高温ストレスに速やかに応答して *HSP26* を発現増加していることが示された。

Table 14 A set of oligo DNA primers used for RT-PCR

---

|                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| <i>HSE42e</i> , AK068660             | Fw: 5-ATCCTGAGTTCATACGCCAGCTGTT-3<br>Rev: 5- AAGTACTCAAGGGTCGTTGGAGCTC-3               |
| <i>HSP101</i> , AF332981             | Fw: 5-CGTGACCTTTGTCATGCAGGAGGTGAGG-3<br>Rev: 5-CTACTCTTCGTCCATGCCGTCCTCGTC-3           |
| <i>HSP90<sub>cyt</sub></i> , AB11180 | Fw: 5-GAAGGTCTGAAGCTTGATGAGAGTGAG-3<br>Rev: 5-TTAGTCGACCCTCCTCCATCTTGCTCTCTCGCC-3      |
| <i>HSP90ER</i> , AB037681            | Fwr: 5-GACTCTAAGCTCAAGGACCTCAAGGAGTCC-3<br>Rev: 5-CTACAGCTCGTCCTTATCATACGACGACGG-3     |
| <i>HSP26</i> , AB020973              | Fwr: 5- GTGGGATCCGCGCGCGCAGGAGAACAGGGAC -3<br>Rev: 5-ATTCGTCGACTGGACCTGCACGTCGATGAC -3 |
| <i>PDI</i> , AK072941                | Fwr: 5-AAGGGCCAAGTGAAGCTAGGTCATGTG-3<br>Rev: 5-TCACGTTGTGAGCAACCATCGCTGGATAGC-3        |
| <i>actin</i> , AY212324              | Fwr: 5-TCCATCTTGGCATCTCTCAG -3<br>Rev: 5-GTACCCGCATCAGGCATCTG-3                        |

---

Sizes of PCR products with gene specific primers are ranging from 500 to 600bp.

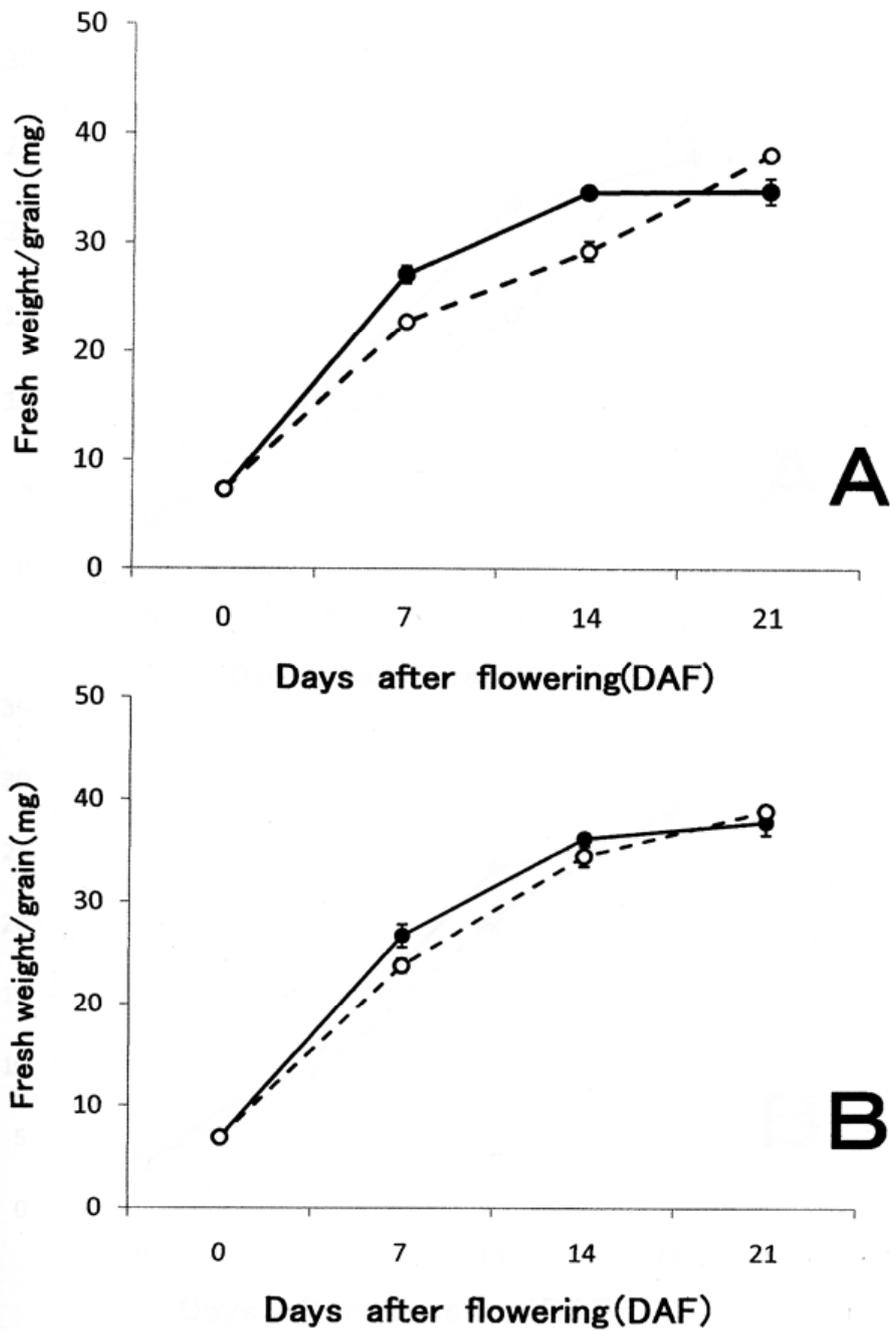


Fig.22 Changes of fresh weight of rice grains after flowering.  
 (A) 'Hatsuboshi', (B) 'Fusaotome'.  
 Rice plants were incubated at 25°C or 30°C at grain filling stage. Open circle (25°C), Closed circle (30°C).

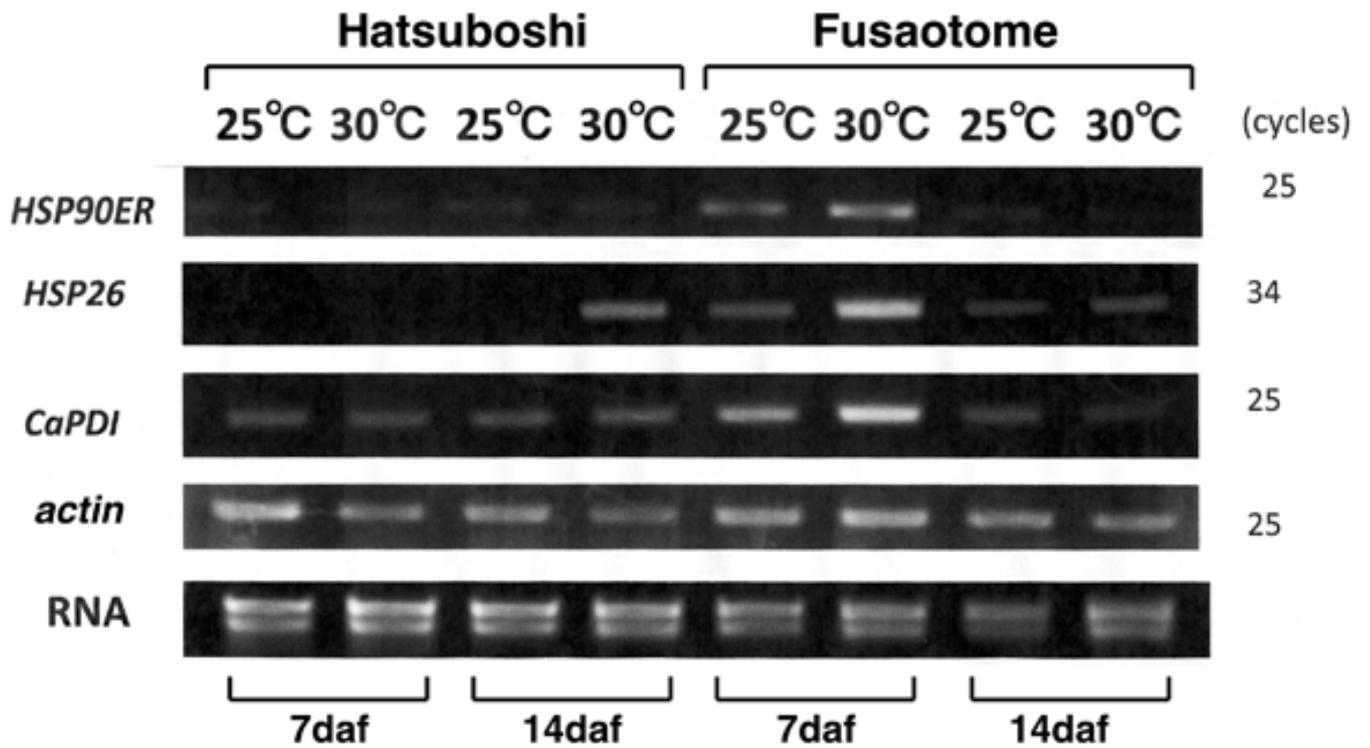


Fig.23 Expression profiles of ER-HSP90, HSP26 and PDI in rice grains.

After flowering, 'Hatsuboshi' and 'Fusaotome' plants were subjected to heat treatment (30°C).

## 総合考察

IPCC(気候変動に関する政府間パネル)の最新レポート(2007)では、21世紀中に地球表面の温度が1.1~6.4℃上昇すると予測されている。温暖化に対抗する選択肢としては、温室効果ガス放出量の削減と、温暖化が引き起こす障害に対する適応の2つが考えられる。九州は日本南部の暖地に位置することから温暖化の影響が重大であり、温暖化が引き起こす障害を軽減するため、高温に適応した栽培技術の開発や品種改良が本質的な命題である。高温は作物の生育を促進し、作期を変化させる。また、水稻の生育適温を超えた高温は、不稔の発生を増加させ、収量や品質を低下させる(長戸ら 1961, 長戸・江幡 1965, Tashiro・Wardlaw 1991, Katayama 1995, Satake 1995, Pengら 2004)。本研究において、極早生品種‘コシヒカリ’の出穂、成熟期予測のため生育ステージモデルを作成し、福岡県全域における移植および成熟早限期マップを作成した(第1章)。さらに、湛水直播栽培において、熟期の異なる3品種と幅広い播種期を組み合わせた生育ステージモデルを作成した(第2章)。これらはDVR法を用いたモデルであり、モデルによる生育ステージ予測や1kmメッシュ気候値を組み合わせることで1kmメッシュ単位での移植や成熟早限期マップの作成を行った。DVRモデルは動的なモデルであり高温や低温条件における生育シミュレーションが可能である(堀江・中川, 1990)。そこで、GIS(地図情報システム)とAMeDAS(地域気象観測システム)観測値を用いて1kmメッシュ単位でリアルタイムの予測や温度条件が異なる場合の生育シミュレーションを行い、温暖化に対応できる生育予測システムを開発した。

米の品質は水稻生産上の重要な項目であるが、九州における最近10か年の玄米の検査等級は、過去に比較して著しく劣る。本研究では、湛水直播栽培における収量や検査等級、食味関連形質を移植栽培と比較して明らかにした(第2章)。湛水直播と移植栽培を比較すると収量や品質に差は認められなかった。しかし、玄米の検査等級や精米のアミロース含有率、炊飯米のテクスチャー特性値(H/-H, H/A<sub>3</sub>)は、既報(長戸ら 1961, 茶村ら 1979, 稲津 1988, 岡本 1994)と同様に登熟期間の高温との相関が認められた。そこで、第5章では登熟期間の高温が米の品質や理化学特性におよぼす影響を明らかにした。高温は白未熟粒の発生を増加させ、炊飯米が軟らかくなり粘りが低下した。収量に対する影響は認められず、高温は収量よりも品質に対する影響が大きいことが判明した。さらに、水稻の窒素吸収量と玄米の窒素含有率、炊飯米の食味との関係を検討し、‘ヒノヒカリ’の収量と品質向上のための窒素吸収量の目標値を明らかにした(第3章)。これらの研究から、九州の普通期栽培で、高温条件における収量や品質向上に有益な成果を得ることができた。

高温条件における米の品質低下を軽減し品質を維持するためには、高温耐性を有する品種の育成が最も効果的である。本研究では、高温耐性品種と高温感受性品種を用いて、登熟期間の高温と子実の水分動態の関係を検討し、品質の早期診断について検討した(第4, 5章)。水稻の子実では、同化産物の輸送は水の動きと関連が高い。<sup>1</sup>H-NMR( $T_1$ )値は、登熟初期に高温に曝された水稻子実における水分動態を定量的に示す指標であり、開花後14日における籾の水分含量と乾物蓄積量との間には高い相関が認められた(Funabaら 2006, Tanakaら 2009)。30℃処理を行った‘にこまる’の登熟初期の籾乾物重や水分含有率、<sup>1</sup>H-NMR( $T_1$ )値は25℃処理と有意な差はなく、‘元気つくし’も同様の傾向で、これらは高温耐性品種の特性と判断された。

さらに、高温耐性品種と高温感受性品種を用いて、子実の内部形態と高温耐性との関係を調査した(第5章)。高温は水稻子実のデンプン粒の詰まり方を緩くし、粒重を低下させ、異常な白濁粒

を増加させる(Resurreccion ら 1977, Lisle ら 2000). 開花後に 30°C 処理を行うと, 高温耐性品種の‘にこまる’と‘元気つくし’では珠心表皮の消失が遅かったのに対し, 高温感受性品種の‘ヒノヒカリ’では, 珠心表皮は開花 14 日後に消失した. 形態学的研究によると, 登熟過程における胚乳の発達は, 穎果内部への同化産物や水分の輸送に伴って進行する(星川 1967, Hoshikawa 1972). これらの結果から, 高温ストレス下においても‘にこまる’と‘元気つくし’では‘ヒノヒカリ’に比較して胚乳のデンプンが乳熟期から糊熟期への変化が緩やかで, 子実の成熟に伴う水分や<sup>1</sup>NMR 緩和時間の減少および同化産物の蓄積が緩やかであることが明らかとなった.

RT-PCR 分析では, 高温耐性品種‘ふさおとめ’における *HSFA2* や *HSP 90cyt*, ER-type *HSP* の遺伝子発現は, 高温感受性の‘初星’に比較して高かった. ‘ふさおとめ’における *HSFA2* の発現レベルは, 開花後 7 日における 25°C, 30°C 処理のいずれにおいても‘初星’よりも高く, *HSP 90cyt* の発現レベルも比較的高かった. このことから, ‘ふさおとめ’では, 登熟初期における *HSFA2* の発現レベルが顕著に高く, このことが必然的に *HSP 90cyt* の発現レベルを比較的高く維持していると考えられ, これらの遺伝子が高温耐性の品種間差異と関連している可能性があると考えられた.

## 摘要

### 高温条件における水稲の生育予測, 生育診断および品質向上に関する研究

夏期の高温による水稲の生育や作期の変化, 品質低下が発生しており, 特に温暖な九州地域では高温の悪影響が問題となっている. そこで, 本研究の第1の目的は, 1) 水稲の生育ステージと気温の関係を解析して生育モデルを作成し, 温度変化に対応可能で 1km メッシュ単位で水稲ステージを推定できる生育予測法を明らかにすること, 2) 水稲湛水直播栽培を導入した場合の作期幅や収量, 品質特性を明らかにして, 九州地域の温暖な気候を活かした省力的な直播栽培の実用性を明らかにすること, 3) 水稲の収量と食味を両立することができる栽培技術確立のため, 水稲の生育時期別窒素吸収量の目標値を明らかにして, 高温条件にも適用できる汎用的な生育診断指標値を明らかにすることである. さらに, 第2の目的は, 水稲の登熟期の籾水分動態を, 非破壊で調査できる  $^1\text{H-NMR}$  法を用いて調査し, 登熟期の高温によって引き起こされる玄米品質低下の品種間差異を評価することであり, 新たに育成された高温耐性品種の耐性機構について, 籾の水分動態や乾物重, 内部形態, 遺伝子発現, 米の外観品質や理化学特性から評価することである.

#### 第1章 水稲品種‘コシヒカリ’における生育予測モデルおよび移植, 成熟早限期予測図の作成

極早生の水稲品種‘コシヒカリ’は中生品種に比較して生育ステージの変動が大きく, 精度の高い出穂, 成熟期予測法が望まれていた. そこで, DVR 法を用いて生育予測モデルを作成し, 福岡県内の全地域において 1km メッシュ単位で出穂, 成熟期の早限期を推定する予測図を作成した. この生育予測モデルを3年間にわたり福岡県内各地の 42 圃場において検証したところ, 出穂, 成熟期共に 2~3 日の高い精度で予測可能であった. さらにこのモデルとメッシュ気候値を用いて, 日平均気温  $13^{\circ}\text{C}$  を越える日を移植早限期とした場合の出穂, 成熟期を推定した. その結果, 移植早限期は福岡県南部では 4 月 6~10 日, 北部では 4 月 11~15 日で, この時期に移植した場合, 成熟期は福岡県南部では 8 月 8~13 日, 北部では 8 月 13~18 日であることが明らかになった. この生育予測モデルと, 任意地点における日平均気温やアメダスの観測データから 1km メッシュ単位で推定された気温データを用いることで, リアルタイムの生育予測を福岡県全域において 1km メッシュ単位で行うことが可能である.

#### 第2章 水稲湛水直播栽培における品種と播種期の組み合わせによる作期幅拡大

水稲湛水直播栽培は育苗や移植作業を省略できる省力的な栽培法である. 直播栽培を導入して規模拡大を図るためには, 麦類の収穫や耕起, 代かき等の作業が集中しないよう作期幅を拡大することが不可欠である. そこで, 熟期の異なる 3 品種を福岡県内の 2 つの試験圃場において 4 月から 6 月の間に直播し, DVR 法による生育モデルを作成して作期幅を推定した. さらに, 収量や品質を移植栽培と比較して, 湛水直播栽培の実用性を明らかにした. その結果, 極早生, 早生, 中生の 3 品種を 4 月下旬から 6 月中旬に播種することで, 成熟期を 8 月下旬から 10 月中旬の範囲に拡大できることを明らかにした. 同じ時期に播種または移植した場合, 湛水直播と稚苗移植栽培の収量や検査等級, 米のタンパク質含有率には差がみられなかった. 米のアミロース含有率や飯米の粘りは播種や移植時期との相関が高く, 登熟温度の影響が大きいと考えられ

た.

### 第3章 水稲品種‘ヒノヒカリ’における収量、食味向上のための窒素栄養診断

水稲の窒素吸収量は生育診断や収量、品質向上を図る際の重要な指標である。米のタンパク質含有率や窒素含有率は飯米の食味と相関が高いが、窒素吸収量との関係は明らかではなかった。そこで、水稲品種‘ヒノヒカリ’の生育時期別窒素吸収量と米の窒素含有率、飯米の食味および収量との関係を検討して、収量と品質両面からみた最適窒素吸収量を明らかにした。‘ヒノヒカリ’の良食味を維持するためには玄米窒素含有率を 1.3%以下に抑える必要が認められ、玄米窒素含有率 1.3%に対応する穂揃期の窒素吸収量は 11.0kg/10a、成熟期の窒素吸収量は 12.0kg/10a であった。目標収量を 570~600kg/10a とした場合、 $m^2$ 当たり最適粒数は 30,000~32,000 粒、穂揃期の窒素吸収量 10.5~11.0kg/10a、成熟期の窒素吸収量 12.0kg/10a であった。この値を目標に栽培することで‘ヒノヒカリ’の食味を低下させることなく収量を確保することが可能である。

### 第4章 高温耐性水稲品種の<sup>1</sup>H-NMR法による登熟期の籾水分動態解析

登熟期の温度ストレスは作物の収量や品質に悪影響を与える。子実の成熟は水分の低下に伴う組織の生化学的、生理的変化と関連しているが、水稲子実の水分動態は<sup>1</sup>H-NMR法で測定することが可能である。そこで、温度感受性の高い‘ヒノヒカリ’と低い‘にこまる’を供試して、登熟期に温度ストレスを与えた場合の<sup>1</sup>H-NMR( $T_1$ )緩和時間の変化を調査し、玄米外観品質との関係を明らかにした。登熟期の高温により‘ヒノヒカリ’子実中の自由水は早い時期から減少し、これが背白米や乳白米の発生要因の一つと考えられた。‘にこまる’では登熟期の温度が変化しても子実の自由水の差が小さく、同化産物の蓄積や乳熟期から糊熟期への変化が緩やかであった。このことが登熟期に温度ストレスを受けた場合でも品質の低下が少ない要因の一つと考えられた。

### 第5章 登熟期の高温が高温耐性の異なる水稲品種の籾水分動態や内部形態、玄米外観品質、理化学特性に及ぼす影響

高温条件における水稲の収量や品質には高温に対する適応能力が関与している。そこで、高温耐性の低い‘ヒノヒカリ’と高い‘にこまる’、‘元気つくし’を供試して開花期から成熟期まで 30°Cおよび25°C処理を行い、登熟期の高温が籾の水分動態(<sup>1</sup>H-NMR緩和時間)や乾物重、内部形態、米の外観品質や理化学特性に対する影響を評価した。30°C区における白未熟粒の割合は、‘ヒノヒカリ’では 22%、‘にこまる’、‘元気つくし’ではともに4%であった。高温区では、‘ヒノヒカリ’は開花後 7~14 日の籾乾物重の増加量や<sup>1</sup>H-NMR緩和時間の減少程度が大きく、開花後 14 日には糖の通路となる珠心表皮の退化が観察された。これに対し、‘にこまる’、‘元気つくし’では高温の影響は小さく、開花後 14 日における珠心表皮の退化もみられなかった。収穫後の調査では、高温により3品種とも米のアミロース含有率が低下し、最高粘度やブレイクダウンが増加し、飯米の粘りや硬さが低下したが、必ずしも白未熟粒発生程度の差は反映されなかった。以上の結果から、登熟期の高温による外観品質の低下が小さい品種は、高温条件における登熟初期の籾水分の低下や<sup>1</sup>H-NMR緩和時間の減少が緩やかであることが明らかとなった。

### 第6章 水稲‘初星’、‘ふさおとめ’の遺伝子発現における高温ストレスの影響

登熟期の高温ストレスにより、登熟子実の遺伝子発現が変化することが明らかにされているが、温度感受性の品種間差異をもたらすメカニズムには不明な点が多い。そこで、高温耐性の低い‘初星’と高い‘ふさおとめ’を供試して開花期から成熟期まで 30℃および 25℃処理を行い開花後 7, 14 日目の籾を採取して、RT-PCR により主に HSP (Heat Shock Protein, 熱ショックタンパク質) 関連の遺伝子発現を調査した。‘ふさおとめ’は‘初星’に比較して、開花後 7 日目の *HSP90ER*, *HSP26*, *CaPDI* の発現が多く、特に 30℃区での発現が多かった。このことから、これらの遺伝子が高温に対する感受性の品種間差異と関連している可能性があると考えられた。

## 謝 辞

本研究の遂行ならびに本論文の作成にあたり、終始懇篤なる御指導と御鞭撻を賜った九州大学大学院教授、井上眞理博士に心から感謝の意を表す。本論文の作成にあたり御校閲と貴重な御示唆を賜った九州大学大学院教授、筑紫二郎博士ならびに九州大学大学院准教授、湯浅高志博士に厚く御礼申し上げます。

九州大学大学院における研究の機会を与えて頂き、有益な助言と激励を賜った福岡県農業総合試験場長松江勇次博士、筑後分場長濱地勇次博士、前豊前分場長大庭義材氏、豊前分場長山本富三博士に心から感謝申し上げます。また、本研究の遂行に際し御支援頂いた福岡県農業総合試験場ならびに九州大学生物環境調節センターの皆様には感謝の意を表す。さらに、本研究の遂行にあたり労苦を共にし、協力を惜しまれなかった福岡県農業総合試験場の荒木雅登博士、内川修博士、宮崎真行氏、九州大学農学部作物学研究室の大西亮樹氏、岸田学氏、岡村健太氏、石橋勇志博士、石岡裕美氏ならびに作物学研究室の皆様には厚く御礼申し上げます。本論文の英文校閲を賜った吉富玄蔵氏、特別研究報告の出版に御尽力頂いた福岡県農業総合試験場企画情報部企画課の皆様には感謝の意を表す。最後に本研究の遂行にあたり妻の田中房代から多大な協力と支援を受けた。ここに記して心から厚く御礼申し上げます。

なお、本特別研究報告の内容は、九州大学 審査学位論文(博士:農学)「Studies on Growth Prediction, Diagnosis and Quality Improvement in Rice Plants under High Temperature Conditions」を和文訳したものである。審査学位論文(博士:農学)は URL: [http://mars.lib.kyushu-u.ac.jp/infolib/meta\\_pub/G0000002GAKUISYOSI\\_18133](http://mars.lib.kyushu-u.ac.jp/infolib/meta_pub/G0000002GAKUISYOSI_18133) を参照。

## 引用文献

- 茶村修吾・金子平一・斉藤裕幸 (1979) 登熟期の気温と食味との関係 - 登熟期間を一定温度とした場合 - . 日作紀 48:475-482.
- Cheng, F. M. and Zhong, L. J. (2001) Variation of rice quality traits under different climate conditions and its main affected factors. *Chin. J. Rice Sci.* 15: 187-191.
- Chowdhury, S. I. and Wardlaw, I. F. (1978) The effect of temperature on kernel development in cereals. *Aust. J. Agril. Res.* 29:205-223.
- de Wit, C. T., Brouwer, R. and Penning de Vries, F. W. T., (1970) The simulation of photosynthetic systems. *Proc. Of the IBP/PP Technical Meeting, PUDOC, Wageningen*, 47-70.
- Dunn, J. H., Bughrara, S. S., Warmund, M. R. and Fresenburg, B. F. (1999) Low temperature tolerance of zoysiagrass. *Hortscience.* 34: 96-99.
- 遠藤勲・柳瀬肇・石間紀男・竹生新次郎 (1980) 極少量炊飯方式による米飯のテクスチュロメーター測定 第1報 測定条件の検討と主要品種への適用. 食総研報 37:1-8.
- 深田健一郎・湯田保彦 (1987) 早期水稲のたん水土壤中直播き栽培. 九農研 49:37.
- 船場貢・松原功・立石博・三好祐二 (1989) 長崎県におけるコシヒカリの早進化栽培技術. 日作九支報 56:21-24.
- Funaba, M., Ishibashi, Y., Molla, A. H., Iwanami, K. and Iwaya-Inoue, M. (2006) Influence of low/high temperature on water status in developing and maturing rice grains. *Plant Prod. Sci.* 9:347-354.
- 原田皓二・松江勇次・吉野稔・尾形武文・佐藤寿子・長尾學禧・今林惣一郎・野田政春 (1989) 福岡県における良食味中生水稲の新奨励品種「ヒノヒカリ」. 福岡農総試研報 A-9:1-4.
- Hawker, J. S. and Jenner, D. F. (1993) High temperature affects the activity of enzymes in the committed pathway of starch synthesis in developing wheat endosperm. *Aust. J. Plant Physiol.* 20:197-209.
- He, G-C., Kogure, K. and Suzuki, H. (1990) Development of endosperm and synthesis of starch in rice grain. III. Starch property as affected by the temperature during grain development. *Jpn. J. Crop Sci.* 59:340-345.
- Hills, B.P. and Remigereau, B. (1997) NMR studies of changes in subcellular water compartmentation in parenchyma apple tissue during drying and freezing. *Int. J. Food Sci. Technol.* 32:51-61.
- Hirose, T., Takano, M. and Terao, T. (2002) Cell wall invertase in developing rice caryopsis: molecular cloning of OsCIN1 and analysis of its expression in relation to its role in grain filling. *Plant Cell Physiol.* 43:452-459.
- Hirotsu, N., Makino, A., Yokota, S. and Mae, T. (2005) The photosynthetic properties of rice leaves treated with low temperature and high irradiance. *Plant Cell Physiol.* 46:1377-1383.
- Hong, S.K., Aoki, T., Kitano, H. and Nagato, Y. (1995) Temperature-sensitive mutation,

- embryoless 1, affects both embryo and endosperm development in rice. *Plant Sci.* 108:165-172.
- 本庄一雄 (1971) 米のタンパク含量に関する研究 第 1 報 タンパク質含有率の品種間差異ならびにタンパク質含有率に及ぼす気象環境の影響. *日作紀* 40:183-189.
- 堀江武・中川博視 (1990) イネの発育過程のモデル化と予測に関する研究 第 1 報 モデルの基本構造とパラメータの推定法および出穂予測への適用. *日作紀* 59:687-695.
- Horie T., Matsui T., Nakagawa H, Omasa K. (2005) Effect of elevated CO<sub>2</sub> and global climate change on rice yield in Japan. *Rice is life: scientific perspectives for the 21st century*, eds. K. Toriyama, K.L. Heong, and B. Hardy, session 19: 536-539.
- Horigane, A. K., Engelaar, W. M. H. G., Maruyama, S., Yoshida, M., Okubo, A. and Nagata, T. (2001) Visualisation of moisture distribution during development of rice caryopses (*Oryza sativa* L.) by nuclear magnetic resonance microimaging. *J. Cereal Sci.* 33:105-114.
- 星川清親 (1967) 米の胚乳発達に関する組織形態学的研究 第 2 報 胚乳細胞の肥大生長について. *日作紀* 36:203-209.
- Hoshikawa, K. (1972) Anatomical and developmental studies of the rice endosperm tissue. *Biol. Sci.* 23:66-76.
- Hoshikawa, K. (1989) *The Growing Rice Plant, An Anatomical Monograph.* Nobunkyo: Tokyo, Japan.
- Hoshikawa, K. (1993) *Science of the Rice Plant. Vol. 1. Morphology. 3. Morphology and development of reproductive organs. Chapter 3. Quality and shape of rice grains. 2. Rice grain texture and grading standard.* Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo. 383-389.
- Hurkman W.J., DuPont F.M, Altenbach S.B., Combs A., Ronald Chan, Charlene K. Tanaka , Moshe Reuveni and John E. Bernardin (2002) BiP, HSP70, NDK and PDI in wheat endosperm. II. Effects of high temperature on protein and mRNA accumulation. *Physiol. Plant* 103: 80 – 90.
- Inaba, K. and Sato, K. (1976) High temperature injury of ripening in rice plant: VI. Enzymes activities of kernel as influenced by high temperature, *Proc. Crop Sci. Soc., Jpn.* 45:162-176.
- 稲津脩 (1988) 北海道産米の食味向上による品質改善に関する研究. *北海道立農試報* 66: 1-89.
- International Rice Genome Sequencing Project (2005) The map-based sequence of the rice genome. *Nature* 436: 793-800.
- IPCC. (2007) *IPCC fourth assessment report (AR4): Climate change 2007*, Cambridge University Press. <http://www.ipcc.ch/>
- 石橋英二・桐山隆・田村良文・金野隆光・小野裕幸 (1990) ノンパラメトリック回帰を用いた温度影響評価による水稻の生育期予測. *日作紀* 58:443-449.
- Ishiguro S., Watanabe Y., Ito N., Nonaka H., Takeda N., Sakai T., Kanaya H. and Okada K. (2002) SHEPHERD is the Arabidopsis GRP94 responsible for the formation of functional CLAVATA proteins. *EMBO J.* 21: 898 – 908.

- 石間紀男・平宏和・平春枝・御子柴穆・吉川誠次 (1974) 米の食味に及ぼす窒素施肥および精米中のタンパク質含有率の影響. 食総研報 29:9-15.
- Iwaya-Inoue, M., Yoshimura, K., Yamasaki, H and Kaku, S. (1993) Characteristic change in relaxation times of water proton in *Vigna radiata* seedlings exposed to temperature stress. *Plant Cell Physiol.* 34: 705-711.
- Iwaya-Inoue, M., Kumamoto, Y. and Watanabe, G. (2001) Ratio changes in Lorentzian/Gaussian curves determined by  $^1\text{H-NMR}$  reflect seed dehydration. *Cryobiol. Cryotechnol.* 47: 51-58.
- Iwaya-Inoue, M. and Nonami, H. (2003) Effects of trehalose on flower senescence from the view point of physical states of water. *Environ. Cont. Biol.* 41:3-15.
- Iwaya-Inoue, M., Matsui, R. and Fukuyama, M. (2004a) Cold- or Heat-tolerance of leaves and roots in perennial ryegrass determined by  $^1\text{H-NMR}$ . *Plant Prod. Sci.* 7:118-128.
- Iwaya-Inoue, M., Matsui, R., Sultana, N., Saitou, K., Sakaguchi, K and Fukuyama, M. (2004b)  $^1\text{H-NMR}$  method enables early identification of degeneration in the quality of sweet potato tubers. *J. Agron. Crop Sci.* 190:65-72.
- Joshi, C.P., Klueva N.Y., Morrow K.J. and Nguyen N.H. (1997) Expression of a unique plastid-located heat-shock protein is genetically linked to acquired thermotolerance in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 95: 834-841.
- Juliano, B. O., Onate, L. U. and del Mundo, A. M. (1965) Relation of starch composition, protein content and gelatinization temperature to cooking and eating qualities of milled rice. *Food Technology* 19: 116-121.
- 角重和浩・山本富三・井上恵子・田中浩平 (1993) ヒノヒカリの窒素栄養診断 第1報 ヒノヒカリの窒素吸収量と生育・収量との関係. 福岡農総試研報 A-12:15-18.
- 鍛冶原俊夫・泉恵一・加賀山文雄・清田洋次・加賀山文雄・清田洋次・横山威・郡司掛則昭 (1989) 麦跡湛水直播栽培技術体系の確立. 熊本農試研報 15:1-30.
- Kaku, S. (1993) Monitoring stress sensitivity by water proton NMR relaxation times in leaves of azaleas that originated in different ecological habitats. *Plant Cell Physiol.*, 34: 535-541.
- Kamst, G, F., Bonazzi, C., Vasseur, J. and Bimbenet, J, J. (2002) Effect of deformation rate and moisture content on the mechanical properties of rice grains. *Transactions of the ASEA.* 45: 145-151
- Kano, H., Ishida, N., Kobayashi, T. and Koizumi, M. (1990)  $^1\text{H-NMR}$  imaging analysis of changes of free water distribution in barley and soybean seeds during maturation. *Jpn. J. Crop Sci.* 59:503-509.
- Katayama, T. 1995. *Science of the rice plant. Vol. 2. Physiology.* 1. Physiology of development. Chapter 2. Physiology and biology in flower bud differentiation. 1. Flower bud differentiation and its inducing factors. Food and agriculture policy research center, Tokyo. 66-80.
- Katiyar-Agarwal S., Agarwal M., Grover A. (2003) Heat-tolerant basmati rice engineered by over-expression of hsp101. *Plant Mol. Biol.* 51: 677-686.
- 川方俊和・岡田益己 (1989) 発育指数を用いた水稻の幼穂形成始期と出穂期の推定. 農業気象

45:137-142.

- 木根淵旨光 (1969) 水稻稚苗栽培技術の確立ならびに機械化技術における実証的研究. 東北農試研報 38:1-151.
- Lisle, A.J., Martin, M. and Fitzgerald, M.A. (2000) Chalky and translucent rice grains differ in starch composition and structure and cooking properties. *Cereal Chem.* 77:627-632.
- Liu, D., Zhang, X., Cheng, Y., Takano, T., Liu, S. (2006) rHsp90 gene expression in response to several environmental stresses in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiol. Biochem.* 44:380-386.
- Liu D., Lu Z, Mao Z and Liu S (2009) Enhanced Thermotolerance of *E. coli* by Expressed OsHsp90 from Rice (*Oryza sativa* L.). *Curr Microbiol* 58: 129-133.
- 前重道雅 (1984) 米の食味関与の変動に関する研究 第5報 糊化特性並びに炊飯特性に及ぼす登熟気温の影響. 広島農試報告 48:17-22.
- Maheswari, M., Joshi, D. K., Saha, R., Nagarajan, S. and Gambir, P. N. (1999) Transverse relaxation time of leaf water protons and membrane injury in wheat (*Triticum aestivum* L) in response to high temperature. *Ann. Bot.* 84: 741-745.
- 真鍋尚義・田中浩平・福島祐助 (1990) 水稻品種ヒノヒカリの栽培法. 福岡農総試研報 A-10:5-10.
- 松田智明・山本芳範・長南信雄 (1989) 炊飯に伴う米の微細構造の変化 II. 白色不透明部をもつ粳米の場合. 日作紀 58(別 1):214-215.
- 松江勇次・水田一枝・古野久美・吉田智彦 (1991) 北部九州産米の食味に関する研究 第1報 移植時期, 倒伏の時期が米の食味および理化学的特性に及ぼす影響. 日作紀 60:490-496.
- 松江勇次 (1995) 北部九州産米の食味に関する研究 第5報 1993年の低温, 寡照条件下における米の食味と理化学的特性. 日作紀 64:709-713.
- 松島省三・真中多喜夫・角田公正 (1957) 水稻収量の成立と予察に関する作物学的研究. XXXIX 水稻の登熟機構の研究.(5). 生育各期の気温の高低・日射の強弱並びにその複合じょうけんが水稻の登熟に及ぼす影響. 日作紀 25:203-206.
- 深山政治・岡部達雄 (1984) 水稻の品種特性と最適窒素保有量. 土肥誌 55:1-8.
- 森康明・河野富香・房尾一宏・鳥生久嘉 (1987) 広島県メッシュ気候値の利用に関する研究 第8報 水稻の出穂期及び成熟期の推定とその利用. 広島農試報告 50:11-24.
- 森田敏・白土宏之・高梨純一・藤田耕之輔 (2004) 高温が水稻の登熟に及ぼす影響 一穂・茎葉別の高夜温・高昼温処理による解析一. 日作紀 73:77-83.
- Morita, S., Yonemaru, J. and Takanashi, J. (2005) Grain growth and endosperm cell size under high night temperatures in rice (*Oryza sativa* L.). *Ann. Bot.* 95:695-701.
- 長戸一雄・江幡守衛・河野恭広 (1961) 米の品質からみた早期栽培に対する適応性の品種間差異. 日作紀 29:337-340.
- 長戸一雄・江幡守衛 (1965) 登熟期の高温が穎果の発育ならびに米質に及ぼす影響. 日作紀 34:59-66.
- 尾形武文・矢野雅彦・田中昇一 (1988) コシヒカリの移植時期別生育特性と安定多収栽培法 第1報 移植時期と生育・収量. 九農研 50:30.
- 岡本正弘 (1994) 炊飯米の粘りに関連する化学成分の育種学的研究. 中国農試報 14:1-68.

- 岡村敏夫 (1987) メッシュ気候値 -その作成, 利用の現状と将来-. 天気 34:157-174.
- Peng, S., Huang, J., Sheehy, J. E., Laza, R. C., Visperas, R. M., Zhong, X., Centeno, G. S., Kush, G. S. and Cassman, K. G. (2004) Rice yields decline with higher night temperature from global warming. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:9971-9975.
- Resurreccion, A.P., Hara, T., Juliano, B.O. and Yoshida, S. (1977) Effect of temperature during ripening on grain quality of rice. *Soil Sci. Plant Nutr.* 23:109-112.
- 坂井真・岡本正弘・田村克徳・梶亮太・溝淵律子・平林秀介・深浦壮一・西村実・八木忠之 (2007) 玄米品質に優れる暖地向き良食味水稻品種「にこまる」の育成について. *育種学研究* 9:67-73.
- Sakuma Y., Maruyama K., Qin F., Osakabe Y., Shinozaki K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2006) Dual function of an Arabidopsis transcription factor DREB2A in water-stress- and heat-stress-responsive gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103: 18828-18833.
- Satake, T. (1995) Science of the rice plant. Vol. 2. Physiology. 4. Physiological basis of the damage caused by unfavorable climatic conditions, disease and insect pests. Chapter 1. Damage due to extreme temperature. 5. High temperature injury. Food and agriculture policy research center, Tokyo. 805-812.
- 佐藤庚・稲葉健五 (1973) 高温による水稻の稔実障害に関する研究 第 2 報 穂と茎葉を別々の温度環境下においた場合の稔実. *日作紀* 42:214-219.
- Sato Y. and Yokoya S. (2008) Enhanced tolerance to drought stress in transgenic rice plants overexpressing a small heat-shock protein, sHSP17.7. *Plant Cell Rep.* 27: 329-334.
- 清野 豁 (1993) アメダスデータのメッシュ化について. *農業気象* 48:379-383.
- Shimono, H., Hasegawa, T. and Iwama, K. (2002) Response of growth and grain yield in paddy rice to cool water at different growth stages. *Field Crops Res.* 73:67-79.
- Singla, S.L. and Grover, A. (1993) Antibodies raised against a yeast heat shock protein cross-react with a heat and abscisic acid-regulated polypeptide in rice. *Plant Mol. Biol.* 22: 177-180.
- Tahir, I.S.A., Nakata, N. and Yamaguchi, T. (2005) Responses of three wheat genotypes to high soil temperature during grain filling. *Plant Prod. Sci.* 8:192-198.
- Takezawa, K. and Tamura, Y. (1991) Use of smoothing splines to estimate rates of development. *Agric. For. Meteorol* 57:129-145.
- 田中浩平・大隈光善 (1991) 水稻の出穂・成熟期に対する気温の影響 -特に1990年の異常高温について-. *日作九支報* 58:4-6.
- 田中浩平・山本富三・角重和浩・大隈光善 (1992) 水稻品種「ヒノヒカリ」の収量、食味からみた最適穎花数と窒素保有量. *日作紀* 61(別 1):184-185.
- 田中浩平・角重和浩・山本富三 (1994a) ヒノヒカリの窒素栄養診断 第 3 報 窒素吸収量と玄米窒素濃度・食味との関係. *福岡農総試研報* A-13:9-12.
- 田中浩平・清野 豁 (1994b) アメダスデータを利用した早期コシヒカリの生育期予測. *日作九支報* 60:13-16.

- 田中浩平 (1995) 福岡県における農業気象情報利用の利活用 第1報 アメダスデータのメッシュ化による気象値の推定. 福岡農総試研報 14:54-56.
- 田中浩平・原田皓二 (1997) 水稲‘コシヒカリ’の生育モデルの構築と地域別移植及び成熟早限期マップの作成. 福岡農総試研報 16:5-8.
- 田中浩平・石丸知道・松尾太 (1998) 水稲湛水直播栽培における品種と播種期の組み合わせによる作期幅拡大. 日作九支報 64:23-26.
- 田中浩平・尾形武文・陣内暢明・原田皓二 (2000) 水稲品種‘つくし早生’の食味向上のための栽培法 第2報 早期穂肥と1回穂肥施用法の現地実証. 福岡農総試研報 19:21-24.
- 田中浩平・久保田孝・川村富輝 (2002) 水稲品種「ヒノヒカリ」の食味向上のための穂肥施用法. 九農研 64:4.
- Tanaka, K., Takeda E., Onishi, R., Ishibashi, Y., Yuasa, T. and Iwaya-Inoue, M. (2008a) Influences of heat stress on rice plants characterized by induction of heat shock proteins in relation to water status. In Suk-Ha Lee et al. eds., Proc. 5th Int. Crop Sci. Congress. :181.
- Tanaka, K., Takeda E., Onishi, R., Funaba, M. Ishibashi, Y. and Iwaya-Inoue, M. (2008b) Water status of thermal stress-resistant rice seeds. Cryobiol. Cryotechnol. 54: 129-134.
- Tanaka, K., Onishi, R., Miyazaki, M, Ishibashi, Y., Yuasa, T. and Iwaya-Inoue, M. (2009) Changes in NMR relaxation of rice grains, kernel quality and physicochemical properties in response to a high temperature after flowering in heat-tolerant and heat-sensitive rice cultivars. Plant Prod. Sci. 12:185-192.
- Tashiro, T. and Wardlaw, I. F. (1991) The effect of high temperature on kernel dimensions and the type and occurrence of kernel damage in rice. Aust. J. Agric. Res. 42:485-496.
- 豊島英親・岡留博司・大坪研一・須藤充・堀末登・稲津脩・成塚彰久・相崎万裕美・大川俊彦・井ノ内直良・不破英次 (1997) ラピッド・ビスコ・アナライザーによる米粉粘度特性の微量迅速測定方法に関する共同試験. 日食科工誌 44:579-584.
- 梅木佳良・牧慧・坂本真一・村社久米夫・江藤博六 (1986) 暖地早期水稲の収穫期早進化技術 第1報 移植時期と苗の種類. 九農研 48:28.
- 和田卓也・坪根正雄・井上 敬・尾形武文・浜地勇次・松江勇次・大里久美・安長知子・川村富輝・石塚明子 (2010) 高温登熟性に優れる水稲新品種「元気つくし」の育成およびその特性. 福岡農総試研報 29:1-9.
- 若松謙一・佐々木修・上藺一郎・田中明男 (2007) 暖地水稲の登熟期間の高温が玄米品質に及ぼす影響. 日作紀 76:71-78.
- Wallwork, M. A. B., Logue, S. J., MacLeod, L. C. and Jenner, C. F. (1998) Effects of high temperature during grain filling on starch synthesis in developing barley grain. Aust. J. Plant Physiol. 25:173-181.
- Yamakawa, H., Hirose, T., Kuroda, M. and Yamaguchi, T. (2007) Comprehensive expression profiling of rice grain filling-related genes under high temperature using DNA microarray. Plant Physiol. 144:258-277.
- 山下鏡一・藤本堯夫 (1974) 肥料と米の品質に関する研究 2 窒素肥料が米の食味, 炊飯特性, デンプンの理化学的性質等に及ぼす影響. 東北農試研報 48:65-79.

- 雪竹照信・河内埜一之・杠政則 (1982) 西南暖地における稲, 麦二毛作下の湛水直播栽培法に関する研究. 第 1 報 出芽, 苗立の安定化並びに播種期と品種の出穂反応との関係. 九農研 44:23-24.
- Zakaria, S., Matsuda, T., Tajima, S. and Nitta, Y. (2002) Effect of high temperature at ripening stage on the reserve accumulation in seed in some rice cultivars. Plant Prod. Sci. 5:160-168.

# **Studies on Growth Prediction, Diagnosis and Quality Improvement in Rice Plants under High Temperature Conditions**

## **Summary**

Since the growth stage in 'Koshihikari', an extremely early maturing rice cultivar, varies enormously compared to middle maturing cultivars, a growth stage model was created to estimate heading and maturity stages of 'Koshihikari' by using the DVR method. The differences in the date of between the observed and estimated heading and maturity stages were less than 2-3 days when this growth estimate model was verified at 42 paddy fields in Fukuoka Prefecture for three years. The accuracy of prediction was superior though the prediction was performed in for a wide range of temperature, various areas and transplanting times. Then, the maps of early limit of transplanting and maturity in Fukuoka Prefecture were drawn which limits were estimated, by using DVR model and one-km grid climatic data when the early limit of transplanting was the day with temperatures over 13°C. The early limit for the transplanting date was during April 6-10 in the southern part of Fukuoka Prefecture, and during April 11-15 in the northern part. The early limit for the maturity date was during August 8-13 in the south, and during August 13-18 in the north.

The direct seeding in flooded paddy field of rice is labor-saving cultivation as seeding and transplanting are not necessary. In order to expand the scale of the direct seeding, it is essential to extend cropping seasons of rice to disperse workforce so that farm practices such as harvesting of wheat, plowing, puddling and leveling should not be centered on the same period. Therefore, I examined the yield and grain quality of three cultivars in the direct seeding and transplanting during April and June. Then I developed the growth stage model for estimating maturity dates in the direct seeding and transplanting cultivations in two experimental stations in Fukuoka Prefecture. It was clearly shown that the potential to extend maturing dates in direct seeding during late in August and middle of October by using extremely early maturing cultivar, and early maturing and middle maturing cultivars seeded late April to middle June in northern part of Kyushu District. There were no significant differences between direct seeding and transplanting in the yield, inspection grade and protein content of milled rice, whereas the amylose content of the milled rice was higher according to late seeding and transplanting cultivation.

The amount of nitrogen uptake in rice plants is one of the important index for growth diagnosis, yield and quality improvement. It was known that protein and nitrogen content rates in rice grain are significantly correlated with the palatability of boiled rice, whereas the relationships between

the amount of nitrogen uptake, the nitrogen content rates in brown rice and palatability of boiled rice was not cleared. Therefore, the relationships between the amount of nitrogen uptake, the content of brown rice and palatability of boiled rice were examined in 'Hinohikari'. The nitrogen content of brown rice must be kept under 1.3% for superior palatability, and the content at 1.3% was corresponding to the amount of nitrogen uptake of 11.0kg/10a and 12.0kg/10a in full heading stage and maturity stage, respectively. It is considered that the optimum number of kernel is 30,000-32,000 in case of target yield is 570-600kg/10a, the most suitable amount of nitrogen uptake in full heading stage is 10.5-11.0kg/10a, in maturity stage is 12.0kg/10a for stability production and superior palatability in 'Hinohikari'. The amount of nitrogen uptake in 'Hinohikari' clearly showed the index for yield and quality improvement.

Thermal stress during the grain-filling stage usually causes deleterious effects on the yield and quality of crop products. Grain maturation is associated with biochemical and physiological changes in tissues along with dehydration. The water status of rice grains exposed to thermal stress was evaluated by NMR relaxation times. Therefore, I evaluated the undertaken changing pattern of NMR  $T_1$  of grains of sensitive ('Hinohikari') and insensitive ('Nikomaru') rice cultivars against thermal stress during grain maturation. Furthermore, the profiles of NMR relaxation times of grains in relation to kernel quality during the development and maturation periods were examined. It was suggested that the early reduction of free water in 'Hinohikari' grains at a higher temperature caused the formation of a higher number of white-back or chalky grains during maturation. In the thermal stress-resistant cultivar, 'Nikomaru', starch accumulation in grains grown at low/high temperature normally changed from a fluid state to a doughy state accompanied by a decrease in water content. Especially, the free water in the developing grains diminished as similarly in grains grown at 25°C. This caused the production of higher quality rice under thermal stress.

Rice productivity is related to the ability of plants to adapt to heat stress. The heat-tolerant cultivars 'Nikomaru' and 'Genkitsukushi' and heat-sensitive cultivar 'Hinohikari' were grown at 30°C and 25°C for 49 days after flowering. At 30°C, only a few white immature kernels were produced in 'Nikomaru' and 'Genkitsukushi', but about 22% of grains had immature kernels in 'Hinohikari'. The high temperature(30°C) caused no significant changes in grain dry weight, water content, and the NMR  $T_1$  value during the early ripening stage in 'Nikomaru' and "Genkitsukushi". Grain development was also not affected by the high temperature, especially with respect to the nucellar epidermis, in 'Nikomaru' and "Genkitsukushi", but the temperature caused clear cessation of development of the nucellar epidermis at 14 days after flowering in 'Hinohikari'. In addition, high temperature decreased the amylose content and increased hardness vs. adhesion ratio of cooked rice in both 'Nikomaru' and "Genkitsukushi", resulting in a softer, less sticky texture, but not in

‘Hinohikari’. The maximum viscosity and breakdown values were increased, and final viscosity decreased at 30°C in all three cultivars. These results suggested that starch in the endosperm of grains changed from a fluid state to a doughy state more slowly in ‘Nikomaru’ and ‘Genkitsukushi’ than in ‘Hinohikari’, in which the water content and NMR relaxation time decreased, and transported assimilates were accumulated slowly during grain development.

RT-PCR with rice kernels showed that expression of a set of HSP genes were higher in Fusaotome than those in Hatsuboshi and that heat treatment induced up-regulation of *HSP101* and *PDI* in ‘Fusaotome’ but not in ‘Hatsuboshi’. In both 25°C and 30°C treatments at 7DAF, expression levels of *HSFA2* were higher in ‘Fusaotome’ than in cv. ‘Hatsuboshi’. Base on the expression analysis, there is a possibility that higher expression of *HSFA2* in ‘Fusaotome’ contributes to its thermotolerant phenotype by increasing a set of HSPs regulated at downstream of *HSFA2*. The direct linkage between HSPs genes and thermotolerance among rice cultivars remains to be clarified by real time RT-PCR and/or DNA array using lines of rice cultivars with broad ranging thermo-sensitivities.

福岡県農業総合試験場特別報告  
第32号

---

高温条件における水稻の生育予測，生育診断  
および品質向上に関する研究

---

発行 平成23年 3月

福岡県農業総合試験場  
〒818-8549 福岡県筑紫野市吉木 587  
TEL 092-924-2971

著書 田中浩平

印刷所 秀英社印刷株式会社  
〒818-0052 福岡県筑紫野市武蔵 3丁目 2-6  
TEL 092-923-3154