

## イネの高温障害を軽減する開花時刻と登熟に関する生理生態的研究

石丸努（農研機構中日本農業研究センター）

米は世界の約半分の人口にとって主食である重要な食糧である。増加し続ける世界人口を養うためには、さらなる米の増産が必要であるとともに、近年進行著しい地球温暖化において、我が国の玄米品質は著しく低下している。地球規模で高温ストレスによる不稔発生を通じた収量低下も懸念され始めた。石丸氏は、高温ストレス環境下におけるイネの収量や品質の安定化を目指し、登熟期の貯蔵物質蓄積に関する基礎的研究および高温ストレスによる玄米品質低下の生理生態的研究を行うとともに、高温ストレスに最も脆弱とされる開花期の高温不稔発生を軽減する開花特性に関する研究に取り組んできた。特に開花期の高温回避性を向上させる開花時刻に関する研究では早朝開花遺伝子に着目した研究を行い、世界的な視野での実証を展開するなど、高温ストレス研究に新たな局面を切り拓いた。主たる研究成果は、以下の通りに要約される。

### 1. 登熟粒の微細組織における貯蔵物質蓄積の基盤的研究

イネは登熟期に子房にデンプンやタンパク質などを貯蔵する。胚乳内で貯蔵物質が蓄積する部位は異なり、胚乳の最外層に位置する糊粉層には脂質やタンパク質（グロブリン）が、糊粉層の内側に位置するデンプン性胚乳にはデンプンやタンパク質（プロラミンやグルテリン）が主に蓄積する。石丸氏は、切片から標的となる微細組織を単離できるレーザーマイクロダイセクション（以下、LMD）法を登熟期のイネ胚乳に適用する技術を開発し（業績1）、糊粉層とデンプン性胚乳において、ショ糖を分解する代謝の初期段階は主に糊粉層で行われるのに対し、デンプン合成に重要なステップであるADP-グルコースピロフォスフォリラーゼ以降の代謝段階になると、デンプン性胚乳での発現が特異的に高く、代謝段階によって胚乳内での発現様式が異なることを見出した（業績7）。また、44Kマイクロアレイを用いて、登熟初期と中期の糊粉層やデンプン性胚乳の遺伝子発現を18パターンに分類し、胚乳での貯蔵物質蓄積にはこれまで知られていなかった分子シャペロンの関与やプログラム細胞死に関わる遺伝子の関与など、穎果の貯蔵物質蓄積には時期的・空間的に胚乳内で様々な遺伝子が関与することを示唆した（業績15）。

### 2. 高温ストレスによる玄米品質低下の生理生態的研究

イネは登熟期の高温にさらされると玄米が白く濁る、いわゆる「白未熟粒」が発生する。石丸氏は上記「1. 登熟期の貯蔵物質蓄積に関する基礎的研究」で得た技術や知見を活かし、近年我が国で著しい問題となっている高温ストレスによる玄米品質低下について生理学的側面から研究に取り組んできた。高温で発生する乳白粒（中心部のデンプン性胚乳における白濁）では、白濁が形成される登熟初期の胚乳中心部において水分の早期凋落が関わっている可能性を指摘した（業績2）。またLMD法を高温で登熟している胚乳に応用し、背白粒（背部のデンプン性胚乳における白濁）の発生には、登熟初期の隣接する糊粉層の細胞数増加やストレス応答経路の遺伝子発現の低下が関連していることを指摘するとともに、胚乳の中心部に発生する乳白粒では貯蔵タンパク質であるプロラミンの合成に関与し粗面小胞体に局在する特定の分子シャペロンの発現が低下している一方で、デンプン合成系の遺伝子発現は著しく低下していないことから、乳白粒の白濁発現部ではストレス応答性が脆弱になっていると示唆した（業績12）。

さらに、高温障害が深刻な問題となっている地域の公設試験研究機関や生産者と連携した研究を推進した。三重県農業研究所との共同研究により、外観では同じ乳白粒でも高温年で発生する「高温型乳白粒」と低日射年で発生する「遮光型乳白粒」の玄米成分を比較し、「高温型乳白粒」では同じ環境で生育した整粒に比べて玄米タンパク質含有率が有意に低いことを突き止めた（業績11）。その知見を2019年の異常高温における記録的な玄米品質低下に対しても応用し、乳白粒では整粒に比べて貯蔵タンパク質である13kDaプロラミンの含量が著しく低い一方で、デンプン特性に一定の傾向が見られないことを明らかにし、業績11や業績12での知見と合わせて、高温で発生する乳白粒ではプロラミン合成の阻害をはじめとした玄米タンパク質の蓄積過程に原因があることを示した（業績13）。加えて、高温登熟性がやや強である「にじのきらめき」について、「コシヒカリ」と同程度の玄米タンパク質含有率でありながら、高温で高い外観品質を維持できるメカニズムの一因として、「にじのきらめき」が高温でも穂の温度が上昇しにくい『高温回避性』を有する可能性を世界で初めて指摘した（業績17）。「にじのきらめき」の良食味多収栽培技術を開発し（業績19）、その優れた高温登熟性の知見と合わせて普及に取り組み、国内で玄米外観品質向上を目指す生産現場へ有益な情報を提供した。

### 3. 高温不稔発生を軽減する開花時刻に関する生理生態的研究

近年進行著しい地球温暖化において、地球規模で高温ストレスによる不稔発生を通じた収量低下が懸念されている。開花時の高温不稔を軽減する方策として、気温の低い早朝に開花時刻をシフトする「早朝開花性」がSatake and Yoshida (1978)により指摘されていたものの、早朝に開花する遺伝資源がイネ品種には存在しなかったため、有効な遺伝的アプローチが見出されていなかった。石丸氏のグループは、早朝に開花する野生種 *Oryza officinalis* と栽培イネとの交雑系統の中に早朝に開花する系統(EMF20)を発見し、ポット試験により早朝開花性による高温不稔回避効果を実証した（業績3, 4）。その後、早朝開花性の量的遺伝子座 *qEMF3* が第3染色体の短腕に存在し、*qEMF3* を導入した世界で初めてとなる早朝開花性準同質遺伝子系統の育成を主導した（業績5）。また国際稲研究所 (IRRI) での高温ストレスチームの研究活動を通じて、共同で熱帯品種の高温不稔耐性のランク分けを行うとともに（業績6）、熱帯の高温障害地域での現地調査により、ラオス中部とインド南部の現地品種で乾期の酷暑期に開花期を迎えると高温不稔が発生していることを明らかにした（業績8）。育成した早朝開花性準同質遺伝子系統はインド南部の圃場条件で高温不稔を軽減したのみならず、世界の289品種と比較しても最も開花時刻が早いことをIRRIの高温ストレスチームのDr. Krishna Jagadishと共同で実証した（業績10）。さらにミャンマーの乾期に4年7作期に渡る栽培試験を行い、開花期の日最高気温と稔実率との関係を解析したところ、通常の開花時刻の品種では36.1℃以上になると稔実率が低下し始めるのに対し、早朝開花性準同質遺伝子系統では36.9℃以上で稔実率が低下し始めることや、早朝開花性準同質遺伝子系統では日最高気温が37℃以上になっても品種に比べて稔実率の低下が緩やかであることを定量的に示した（業績14）。

上記成果をさらに発展させるために、IRRIの高温ストレスチームのDr. Changrong Yeと共同で早朝開花性準同質遺伝子系統が高

温不稔耐性準同質遺伝子系統との組み合わせにより、より高温域でも高温不稔軽減効果が得られること（業績 16）、IRRI の乾燥ストレスチームの Dr. Amelia Henry と共同で穂温が上昇しやすい乾燥ストレス下でも早朝開花性準同質遺伝子系統は気温の低い早朝に開花でき、早朝開花性準同質遺伝子系統は乾燥耐性準同質遺伝子系統との組み合わせにより、高温と乾燥の複合ストレス条件下での稔実の安定性に寄与する可能性を示した（業績 18）。このような IRRI での研究成果は国内にも波及し、ジャポニカ背景での早朝開花性準同質遺伝子系統の育成につながった（業績 20）。

以上のように、石丸氏の研究活動は貯蔵物質蓄積や開花の基礎研究にとどまらず、高温障害が問題となっている国内外の研究者・公設試験研究機関・生産者に、その研究成果が様々な形で波及した。また高温登熟や早朝開花性の研究成果を総説にまとめるなど、作物学の発展及び情報発信に寄与している（業績 9, 21）。これらの成果は、今度進行が懸念される温暖化の中でのイネの安定生産に地球規模で貢献する可能性が高く、日本作物学会賞を授与するに値する研究業績と評価される。

## 研究業績

1. Ishimaru, T., Nakazono, M., Masumura, T., Abiko, M., San-oh, Y., Nishizawa K. N. and Kondo M. 2007. A method for obtaining high integrity RNA from developing aleurone cells and starchy endosperm in rice (*Oryza sativa* L.) by laser microdissection. *Plant Science* 173: 321-326.
2. Ishimaru, T., Horigane, A. K., Ida, M., Iwasawa, N., San-oh, A. Y., Nakazono, M., Nishizawa, K. N., Masumura, T., Kondo, M. and Yoshida, M. 2009. Formation of grain chalkiness and changes in water distribution in developing rice caryopses grown under high-temperature stress. *Journal of Cereal Science* 50: 166-174.
3. Ishimaru, T., Hirabayashi, H., Ida, M., Takai, T., San-oh, A. Y., Yoshinaga, S., Ando, I., Ogawa, T. and Kondo, M. 2010. A genetic resource for early-morning flowering trait of wild rice *Oryza officinalis* to mitigate high temperature-induced spikelet sterility at anthesis. *Annals of Botany* 106: 515-520.
4. Ishimaru, T., Hirabayashi, H., Kuwagata, T., Ogawa, T. and Kondo, M. 2012. The early-morning flowering trait of rice reduces spikelet sterility under windy and elevated temperature condition at anthesis. *Plant Production Science* 15: 19-22.
5. Hirabayashi, H., Sasaki, K., Kambe, T., Gannaban, R. B., Miras, M. A., Mendioro, M. S., Simon, E. V., Lumanglas, P. D., Fujita, D., Takemoto-Kuno Y., Takeuchi Y., Kaji, R., Kondo, M., Kobayashi, N., Ogawa, T., Ando, I., Jagadish, K. S. V. and Ishimaru, T. 2015. *qEMF3*, a novel QTL for early-morning flowering trait from wild rice, *Oryza officinalis*, to mitigate heat stress damage at flowering in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany* 66: 1227-1236.
6. Shi, W., Ishimaru, T., Gannaban R. B., Oane, W. and Jagadish, S. V. K. 2015. Popular rice (*Oryza sativa* L.) cultivars show contrasting responses to heat stress at gametogenesis and anthesis. *Crop Science* 55: 589-596.
7. Ishimaru, T., Ida, M., Hirose, S., Shimamura, S., Masumura, T., Nishizawa, N. K., Nakazono, M. and Kondo, M. 2015. Laser microdissection-based gene expression analysis in the aleurone layer and starchy endosperm of developing rice caryopses in the early storage phase. *Rice* 8: 22.
8. Ishimaru, T., Seefong, X., Nallathambi J., Rajendran, S., Yoshimoto, M., Phoudalay, L., Benjamin, S., Hasegawa, T., Hayashi, K., Arumugam, G., Muthurajan, R. and Jagadish, K. S. V. 2016. Quantifying rice spikelet sterility in potential heat-vulnerable regions: Field surveys in Laos and southern India. *Field Crops Research* 190: 3-9.
9. Ishimaru, T., Hirabayashi, H., Sasaki, K., Ye, C. and Kobayashi, A. 2016. Breeding efforts to mitigate damage by heat stress to spikelet sterility and grain quality. *Plant Production Science* 19: 12-21.
10. Bheemanahalli, R., Sathishraj R., Sumanth, M., Muthurajan, R., Ishimaru, T. and Jagadish, K. S. V. 2017. Is early morning flowering an effective trait to minimize heat stress damage during flowering in rice? *Field Crops Research* 203: 238-242.
11. Ishimaru, T., Nakayama, Y., Aoki, N., Ohsumi, A., Suzuki, K., Umemoto, T., Yoshinaga, S. and Kondo, M. 2018. High temperature and low solar radiation during ripening differentially affect the composition of milky-white grains in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Production Science* 21: 370-379.
12. Ishimaru, T., Parween, S., Saito, Y., Shigemitsu, T., Yamakawa, H., Nakazono, M., Masumura, T., Nishizawa, N. K., Kondo, M. and Sreenivasulu, N. 2019. Laser microdissection-based tissue specific transcriptome analyses reveals novel regulatory network of genes involved in heat-induced grain chalk in rice endosperm. *Plant Cell Physiology* 60: 626-642.
13. Ishimaru, T., Miyazaki, M., Shigemitsu, T., Nakata, M., Kuroda, M., Kondo, M. and Masumura, T. 2020. Effect of high temperature stress during ripening on the accumulation of key storage compounds among Japanese highly palatable rice cultivars. *Journal of Cereal Science* 95: 103018.
14. Ishimaru, T., Hlaing, K. T., Oo, Y. M., Lwin, T. M., Sasaki, K., Lumanglas, P. D., Simon, E. V. M., Myint, T. T., Hairmansis, A., Susanto, U., Ayyenar, B., Muthurajan, R., Hirabayashi, H., Fukuta, Y., Kobayashi, K., Matsui, T., Yoshimoto, M. and Htun, T. M. 2022. An early-morning flowering trait in rice can enhance grain yield under heat stress field conditions at flowering stage. *Field Crops Research* 277: 108400.
15. Ishimaru, T., Parween, S., Saito, Y., Masumura, T., Kondo, M. and Sreenivasulu, N. 2022. Laser microdissection transcriptome data derived gene regulatory networks of developing rice endosperm revealed tissue- and stage-specific regulators modulating starch metabolism. *Plant Molecular Biology* 108: 443-467.
16. Ye, C., Ishimaru, T., Lambio, L., Li, L., Long, Y., He, Z., Htun, T. M., Su, Z. and Tian, B. 2022. Marker assisted pyramiding of QTLs for heat tolerance and escape upgrades heat resilience in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical Applied Genetics* 135: 1345-1354.
17. Ishimaru, T., Okamura, M., Nagaoka, I., Yamaguchi, H., Yoshimoto, M. and Ohdaira, Y. 2022. Quantitative assessment on the grain appearance of a new Japanese rice cultivar 'Niji-no-kirameki' with a novel heat-avoidance mechanism during ripening. *Plant Stress* 4: 100074.

18. Ishimaru, T., Sasaki, K., Lumanglas, P. D., Cabral, C. L. U., Ye, C., Yoshimoto, M., Kumar, A. and Henry, A. 2022. Effect of drought stress on flowering characteristics in rice (*Oryza sativa* L.): A study using genotypes contrasting in drought tolerance and flower opening time. *Plant Production Science* 25: 359-370.
19. 石丸努・岡村昌樹・長岡一朗・金達英・山口弘道・梶亮太・大平陽一 2023. 北陸地域における水稲品種「にじのきらめき」の多収と良食味を両立可能な諸形質の条件. *日本作物学会紀事* 92: 173-183.
20. 平林秀介・田之頭拓・田中明男・竹牟禮穰・若松謙一・石丸努・佐々木和浩 2023. 日本型イネの遺伝的背景への早朝開花性導入による高温不稔軽減効果. *育種学研究* 25: 140-149.
21. Ishimaru, T. Nagaoka, I. and Kim, D. 2023. Development, characterization, and distribution of new, high-yielding and highly palatable Japanese rice cultivars 'Tsukiakari' and 'Niji-no-kirameki'. *Japan Agricultural Research Quarterly* 57: 89-97.