



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	トウモロコシ交雑品種における雄穂発達期の低温感受性に関する研究
Author(s)	林, 拓
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第12253号
Issue Date	2016-03-24
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k12253
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/64752
Type	doctoral thesis
File Information	Taku_Hayashi.pdf



トウモロコシ交雑品種における
雄穂発達期の低温感受性に関する研究

北海道大学 大学院農学院

生物資源科学専攻 博士後期課程

林 拓

目 次

第1章 緒言

第1節 世界と北海道におけるトウモロコシ栽培	1
第2節 過去の不稔研究および冷害研究	10
第3節 検討を要する事項と本研究の目的	13

第2章 2003年の不稔の実態と発生要因

第1節 不稔発生時の状況整理と発生要因の推定	16
第2節 人工的な低温処理による不稔原因の検討	25

第3章 雄穂発達期の低温感受性に関する品種間差異

第1節 2003年における雄穂形態および開花特性の品種間差異	39
第2節 品種間差異の検出法	45

第4章 雄穂発達期の低温感受性に関する遺伝的改良

第1節 寒冷地向け既存品種の比較	58
第2節 親自殖系統が明らかな交雑系統の比較	63

第5章 総合考察

第1節 トウモロコシにおける低温に起因する不稔の発生	71
第2節 品種間差異の存在およびその検出法	77
第3節 雄穂発達期における低温障害の回避法	81
第4節 将来展望	84

引用文献	87
------	----

謝 辞	103
-----	-----

摘 要	105
-----	-----

付 図	114
-----	-----

第1章 緒 言

第1節 世界と北海道におけるトウモロコシ栽培

(1) 世界におけるトウモロコシ栽培

トウモロコシ (*Zea mays* L.) はイネ、コムギと並び世界三大穀物の1つと称されている。原産地は温暖な中央アメリカであるが (Wilkes 2004), 近年, その栽培地域は緯度 30° から 55° の範囲にまで広がっている (Shaw 1988). 栽培面積は年々増え続けており, 2014 年には 40 年前と比べておよそ 2 倍の約 2 億 ha となっている (Figure 1-1). 生産量の上位 3 カ国はアメリカ合衆国, 中華人民共和国, ブラジル共和国で, これら 3 カ国で世界の総生産量のおよそ 60% を占めている (Ranum ら 2014). アメリカ合衆国は世界最大のトウモロコシ輸出国でもある.

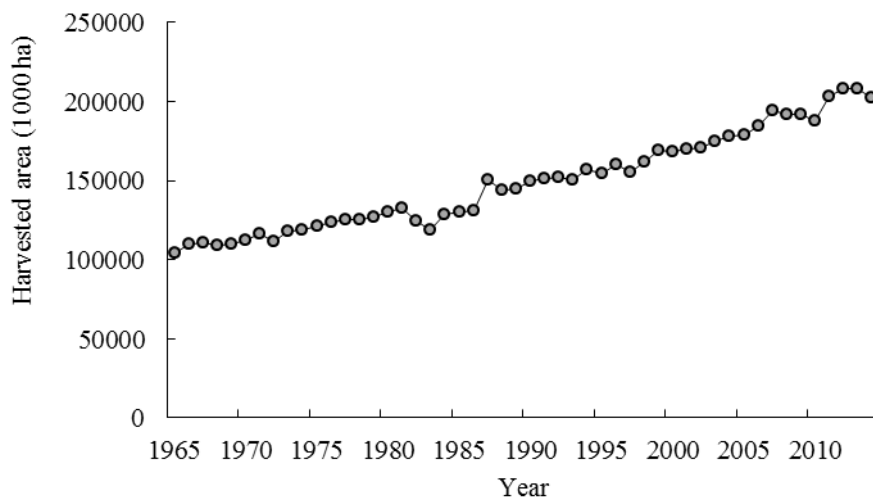


Figure 1-1. Transition of maize (grain) harvested area in the world. (Source: USDA FAS, 2015).

トウモロコシは子実が食用利用されるほか, 酒類醸造用, コーンスターチまたは食用油の製造用などの加工原料, さらには燃料用エタノール原料としても利用される (Watson 1988).

近年は, 燃料用エタノール向けの利用が増加しており, 2013 年には, アメリカでは国内消費

量の 43%が燃料用エタノール製造のために消費されるようになった (Ranum ら 2014). その一方で, アメリカ国内の家畜飼料向けの消費量は 30 年ほど前から大きくは変わっておらず, トウモロコシの用途としては従前から最も大きな割合を占めている (Watson 1988, Ranum ら 2014). トウモロコシの世界最大の生産・輸出国であるアメリカにおいてトウモロコシが新たな用途 (燃料製造向け) に大量に用いられるようになった結果, 世界的なトウモロコシの需給は逼迫しつつある. 農林水産省 (2015a) によると, トウモロコシの国際価格は 2012 年に史上最高値を示し, 2013 年 7 月以降は世界的な豊作により下落傾向であるものの, 2015 年冬には高騰前 (2006 年秋) の 1.7 倍の水準となっている.

(2) 寒冷地におけるトウモロコシ栽培

トウモロコシ国際価格の変動の影響を大きく受ける地域の 1 つに, 北海道根釧地域のように 1 年を通じて寒冷または冷涼で, 酪農が農業の主要な形態となっている地域があげられる (以下, 寒冷地とする). こうした地域の主要な作物はチモシー (*Phleum pratense* L.) などの寒地型牧草であるが, 北海道農政部 (2005) によると, 泌乳牛の栄養要求量を満たすためには 1 頭・1 日あたり牧草サイレージ 28 kg のほかトウモロコシのホールクロップサイレージ 25 kg, トウモロコシ穀実などが配合された濃厚飼料 6 kg を給与する必要がある (重量は現物ベース). そのため, 日本における酪農の中心地の 1 つである根釧地域では, 寒冷地ながらトウモロコシ栽培が盛んである.

しかし, トウモロコシ栽培には 1 ha あたり約 30 万円かかる上 (根釧農業試験場 2013), 従前濃厚飼料は比較的安価であったため, 実態としてトウモロコシサイレージの給与量は上述の 1 頭・1 日あたり 25 kg という水準には届いておらず, 泌乳牛にとって不足する栄養摂取量は濃厚飼料を多給することによって補われている. 近年, トウモロコシ穀実の国際価格が乱高下したことで, 北海道内の酪農家たちはトウモロコシサイレージの給与量 (栽培面積) を増やそうとしている. その表れとして, 日本全体の 2014 年のトウモロコシ栽培面積は前年

と比べ 600 ha 減少したのに対し、北海道の栽培面積は逆に 500 ha 増加した（農林水産省 2015 b）。

根釧地域の地理的条件を概説すると、南は寒流である親潮が流れる太平洋に面しているため、夏季に吹く南風は冷氣と霧を地域にもたらす。北西には山並みが連なっているため、冬季に吹く北西風は根釧地域に到達するまでに水分を失い、冬は少雪かつ放射冷却現象により厳しい低温となる。そのため、土壌凍結が 20 cm 以上の深さにまで入る（根釧農業試験場 2015）。雪解け後は土壌凍結が完全に解凍するまで圃場は乾かないため、作業機械が圃場に入れるようになるのは 5 月上旬以降である。さらに、10 月上旬には早霜が降りる。そのため、根釧地域のトウモロコシの作期は 5 月中旬から 10 月中旬の間に限られる。

Shaw（1988）は、トウモロコシが年次的に安定的に登熟するためには夏季の平均気温が 19 °C 以上でかつ無霜期間が 120 日以上必要としている。根釧地域の中標津町は、夏季（7 月－8 月）の平均気温は 17.0 °C であり、北海道札幌市および茨城県つくば市の 21.4 °C および 24.7 °C に比べ著しく低い（気象庁 2015）。また、最低気温の平年値が 4 °C 以上の日数を無霜期間とみなして計算すると、中標津町の無霜期間は 145 日と推定される。これらの気象データからみて、根釧地域は無霜期間でみるとトウモロコシの栽培は可能であるが夏季の平均気温からみると栽培が難しい地域といえる。高田・山川（2009）は、ヨーロッパ諸国のトウモロコシ栽培面積と 6－9 月の平均気温との関係を調べ、同期間の平均気温が 16 °C 以下の国ではトウモロコシがほとんど栽培されていないことを示した。その上で彼らは、根釧地域は同期間の平均気温が 15.6 °C であることから、世界的にみてトウモロコシの栽培限界地域であるとしている。

根釧地域のトウモロコシ栽培面積は 1980 年代前半にピークを迎えたが、その後複数回の著しい冷害（生育遅延）に見舞われた（根釧農業試験場 1984）ことで大きく減少した（Figure 1－2）。その後、1995 年頃から 2004 年頃にかけては、保温のためのビニールマルチを用いた栽培法により一定の栽培面積が維持された。2004 年頃より後、輸入飼料の価格高騰およびマ

ルチなしでも栽培可能な早生品種が育成・導入されたことを受け、トウモロコシ栽培面積は急激に増加している。北海道が2011年に策定した「北海道酪農・肉用牛生産近代化計画」では、全道の輸入濃厚飼料の給与量を2020年までに2008年比で約20%減らすとともに、普通畑での飼料生産面積（トウモロコシ作付けを想定していると考えられる）を同じく2008年比で約21%増加させることを目標としている（北海道2011）。飼料自給率向上のため、根釧地域を含む寒冷地のトウモロコシ栽培面積は引き続き増加する方向にあると考えられる。

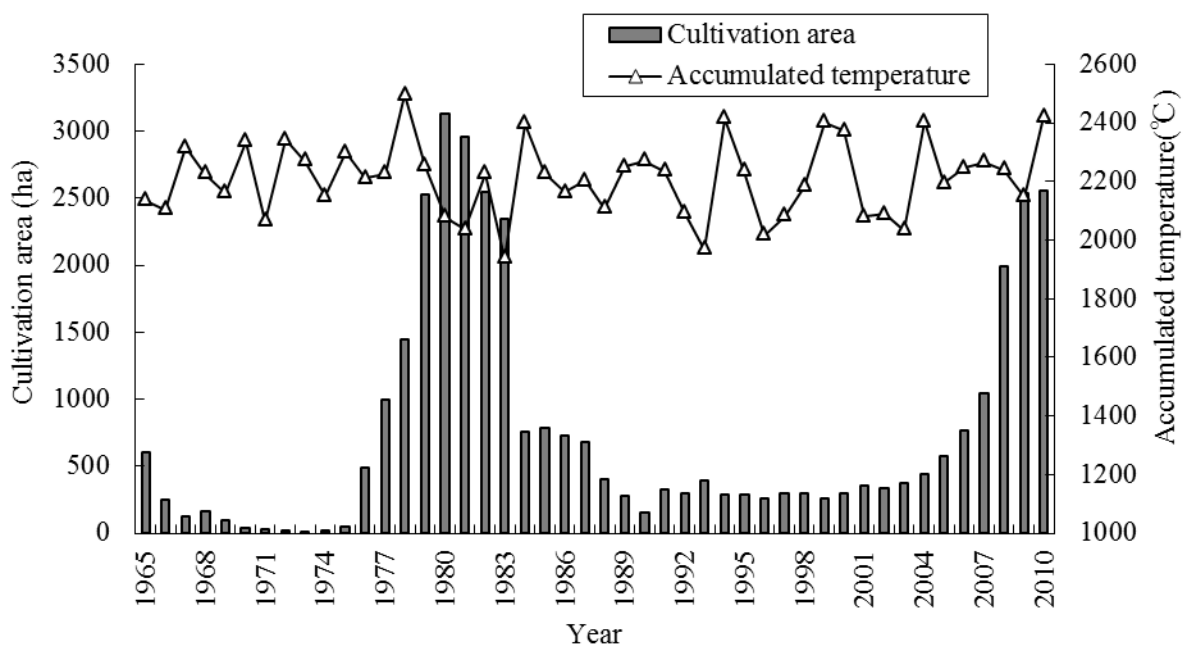


Figure 1-2. Transition of maize cultivation area and accumulated temperature in Nemuro district (a part of the Kosen region). Data source: cultivation area, MAFF for 1965–2004 and Nemuro Agricultural Extension Center (unpublished data) for 2005–2010, accumulated temperature, Japan Meteorological Agency. Accumulated temperature is sum of daily mean temperature for 1 May to 30 September in Nakashibetsu, Kosen region.

(3) トウモロコシの寒冷地への伝搬と遺伝的な多様性

トウモロコシが寒冷地でも多く栽培されるようになった背景には、トウモロコシは幅広い遺伝的変異を持つことがある。トウモロコシは、7世紀から8世紀にかけて栽培地域が中央アメリカから北アメリカへと広がったが、その過程で各地に適応した特性を獲得していった

(Troyer 2004). すなわち、トウモロコシの遺伝子型は大きくフリント種 (flint) とデント種 (dent) に分けられるが、フリント種はさらに、大きく北方型フリント種 (northern flint) とカリビア型フリント種 (Caribbean flint) に分けられる. 北方型フリント種は 7 世紀以降に北アメリカ各地に伝搬した型で、開花における日長反応性が鈍く、高緯度地域の低温や長日、短い作期に適応している (Camus-Kulandaivelu ら 2006, Frei 2000). デント種は 16 世紀にメキシコで見いだされ、その後北アメリカに伝搬し特に南部において広く栽培されるようになった遺伝子型で (Troyer 2004), フリント種に比べ概して晩熟で温暖な地域に適応し、多収であった. アメリカの主要なトウモロコシ生産地であるコーンベルト地帯では、この地域に適するようやや早生化されたデント種 (コーンベルトデント種, Corn Belt dent) が用いられている.

トウモロコシのアメリカ大陸以外への最初の伝搬先はヨーロッパで、15 世紀にカリブ海の島嶼部で栽培されていたフリント種がヨーロッパ南部 (イベリア半島) にもたらされたとされている (Troyer 2004). その後、北アメリカの北方型フリント種がヨーロッパ北部にもたらされ、低い日長感受性や早期開花性がフランス、ドイツなどの地理的条件に適合して、各地に広まった (Gouesnard ら 2005, Dubreuil ら 2006). ヨーロッパでは、先に伝搬した南部のフリント種と遅れて伝搬した北部の北方型フリント種とが交雑して在来種化し、ヨーロッパフリント種 (European flint) と呼ばれる集団を形成した (Camus-Kulandaivelu ら 2006).

アジアへはフリント種のトウモロコシがヨーロッパから伝搬したとされており (Troyer 2004), 日本には 16 世紀にカリビア型フリント種がポルトガル人によってもたらされたといわれている (戸澤 2005). しかし、日本でトウモロコシが本格的に栽培利用されるようになったのは明治時代以降で、北海道にアメリカから早生のデント種と北方型フリント種が持ち込まれてからである (戸澤 2005). これらのうち、早生で低温条件下での生育が優れる北方型フリント種が、北海道の地理的条件に適合し在来種として定着した.

これら在来種は北海道内での新品種開発において重要な役割を果たした. 例えば、1979 年

に北海道立十勝農業試験場（十勝農試）で開発された当時としては最も早生のホールクロップサイレージ用品種「ワセホマレ」では、種子親に北海道在来の北方型フリント種自殖系統が用いられた（櫛引 1979a）。また、2007 年に開発された根釧地域向けホールクロップサイレージ用品種「ぱぴりか」では、親自殖系統の 1 つが北海道在来の北方型フリント種であった（濃沼ら 2007a）。なお、北海道内での新品種開発は、1999 年までは十勝農試および農林水産省北海道農業試験場（現在の国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター〈北農研センター〉）が担ってきた。現在では北農研センターおよび一部の民間種苗会社が新品種を開発を行っている。

現在世界各地で栽培されているトウモロコシ品種の多くは、雑種強勢（ヘテロシス）を利用するため、自殖を繰り返して遺伝的に固定した系統（自殖系統）同士をかけ合わせた単交雑あるいは三系交雑によって作出されている。大きなヘテロシス効果を得るためにはなるべく遠縁の自殖系統同士を交雑するのがよいとされているが、1950 年代以降、遺伝的に遠縁であるヨーロッパフリント種とコーンベルトデント種との交雑品種の有用性（特に多収性と早生性の両立）が認められ（Barrière ら 2006）、アメリカやヨーロッパの主要な種苗メーカーがデント種とフリント種との交配によって多くの一代雑種品種を育成している。現在、北海道で栽培されている品種の多くは、海外種苗会社で育成されたものである。

(4) 寒冷地におけるトウモロコシ栽培の課題

トウモロコシの栽培地がより冷涼な地域へと拡大するのにしたが、発芽期の低温による発芽遅延や実生の枯死、生育初期の低温による生育停滞および葉の退色が問題となってきた。また、葉の展開期間中の低温による葉の光合成能力の低下およびそれにともなう生育停滞や登熟期の低温による同化産物の子実への蓄積停滞も問題となってきた。そのため、これらの生理的背景やこれらを克服するための育種的方法に関する研究が多数行われてきた（Mock and McNeill 1979, Lee and Estes 1982, Greaves 1996, Frei 2000, Revilla ら 2000, Marton

2005, Marocco ら 2005, Sowiński ら 2005, Bhosale ら 2007, Bano ら 2015). これら既報を総合すると、寒冷地向け品種に求められる主要な特性は、多収性や各種病害への抵抗性とはより、低温伸育性（春先の低温条件下での伸育性）、早生性（早期開花性）および低温登熟性（秋の低温条件下でも子実への乾物蓄積が進む程度）といえる。寒冷地におけるこのような特性を持つ品種の重要性は、早生品種は晩生品種に比べて低温条件下での初期生育はより良好であったこと、また早生品種の収量は温暖地で比較するとより晩生の品種より少ないものの寒冷地ではより晩生の品種と同程度となること（Lee and Estes 1982）に表れている。

一方、寒冷地に適応した品種であっても、低温に遭遇すると生育が遅延して登熟不良となる。その根拠として、トウモロコシの葉の展開速度や雄穂抽出期は積算気温でよく説明できること（Tollenaar ら 1979, Warrington and Kanemasu 1983, Dwyer and Stewart 1986, Ellis ら 1992, Padilla and Otegui 2005）や、登熟の進展も積算気温でよく説明できることがあげられる。岩田・大久保（1969）は東北地方において圃場試験を行い、トウモロコシの播種から絹糸抽出期までの間隔および絹糸抽出期から成熟期までの間隔はその間の有効積算気温（積算される温度範囲は前者では 10–25 °C、後者では 1–23 °C）で表せるとしている。楢引（1979c, 1980）は北海道内の複数地点で取得された栽培データを解析し、北海道では日平均気温をそのまま積算する単純積算気温の方が有効温度範囲のみを積算した有効積算気温より場所間および年次間の変異が小さく、生育および登熟の進行をよく表すとしている。これらの特徴から、トウモロコシ品種の熟期は生理的登熟に至るのに必要な積算気温によって表されることが多い。日本で一般に用いられている熟期指標は、「相対熟度（RM）」（relative maturity）である。RM は、播種から生理的登熟に至るまでに必要な有効積算気温を品種育成地における日平均気温で割って算出される（数値が小さいほど早生であることを表す。単位は日）（戸澤 2005）。アメリカでは、積算される温度範囲を 10–30 °C とした有効積算気温が多く用いられている（Hicks and Thomison 2004）。

低温が登熟不足をもたらすという概念は、寒冷地におけるトウモロコシ安定栽培技術の基

礎となっている。例えば根釧地域では、極早生品種（RM75 日クラス前後）がホールクroppサイレージ用の収穫適期である黄熟期に達するためには播種翌日からの単純積算気温で 1948 °C 以上が必要であることが明らかにされ、一定の作期内にその温度を得られる確率が 1km メッシュで図示されている（根釧農業試験場 2013）。なお、根釧地域内陸部の中標津町では、5 月 25 日－9 月 30 日に単純積算気温が 1948 °C 以上となる確率は 50% 程度であった。北海道農政部は、トウモロコシの栽培にあたっては地域の積算気温に応じた品種を利用すること、および適期播種を励行することを営農技術情報として公表している（北海道農政部 2015）。

(5) 2003 年に根釧地域で発生した子実不稔害

2003 年は中標津町における 5 月 20 日－9 月 30 日の単純積算気温が 1842 °C となり（平年は 1988 °C）、明らかな低温年であった。そのため、地域全体でトウモロコシの生育および登熟は遅延したが、生産現場で多く栽培されていた品種を中心に、登熟不足だけではなく、Figure 1-3 にあるような子実の歯抜け状の不稔が発生した。こうした子実不稔は特定の地区や圃場に偏って発生したものではなく、地域全体の多くの圃場で発生した。当時、地域で広く栽培されていた品種を中心に乾雌穂重割合（全乾物収量に対する雌穂乾物収量の割合）が 20－30% 程度にとどまる圃場もみられた（Table 1-1）。なお、当地域の通常年の乾雌穂重割合は 55% である（根釧農業試験場 2015）。

根釧地域は 1983 年などにも甚大な冷害に見舞われたが、その際の被害の様相は春先または初夏の低温による著しい生育停滞または枯死であった（根釧農業試験場 1984）。1986 年には十勝地方で大冷害が発生したが、トウモロコシでは単純積算気温が不足したことによる遅延型の冷害が報告されている（十勝農業試験場 1982）。



Figure 1—3. Ears of cultivar ‘39B29’ observed in the fields in the Konsen region in 2003. Photos taken on: (A), 16 September; (B), 24 September; (C), 10 October; (D), 26 September.

Table 1—1. Yield survey data on the farm fields in Konsen region in 2003.

Cultivar	Number of observation	Dry matter yield (g m^{-2})				Ear to top ratio (%)			
		Mean	Min.	Max.	CV(%)	Mean	Min.	Max.	CV(%)
39B29	20	1395	932	1909	17.7	32.4	13.5	43.9	28.3
39F83	9	1402	1074	1650	14.4	33.1	20.6	42.7	20.7
Tiberius	4	1722	1432	1924	12.4	40.2	27.1	48.1	23.7
Norda	4	1520	1438	1636	5.6	40.6	38.4	43.4	5.1

Data are collected by the courtesy of Nemuro Agricultural Extension Center.
 Ear to top ratio (%): percentage of ear dry matter to top dry matter.

第 2 節 過去の不稔研究および冷害研究

(1) トウモロコシの子実不稔に関する既報

トウモロコシにおける子実不稔の原因としては、生殖生長期の高温または干ばつ、雄穂開花期と絹糸抽出期のずれ、および高すぎる栽植密度が知られている。まず、高温ストレスまたは干ばつ（低水分ストレス）に関しては以下のような報告例がある。Herrero and Johnson (1980) は、32 °C を超える高温により花粉の発芽が抑制されるとした。Edreira ら (2011) は、絹糸抽出期前の高温ストレスにより小花数、抽出絹糸数および充実子実数が減少することや、高温ストレスの影響は雌穂より雄穂により大きく発現することを報告した。Herrero and Johnson (1981) は、雄穂開花期頃の低水分ストレスにより絹糸抽出期が雄穂開花期より遅れることを示した。Hall ら (1982) は、雄穂抽出前の低水分ストレスにより雄穂開花期と絹糸抽出期の間隔が広がり、かつ花粉飛散量が減少することを報告した。Schoper ら (1986) は、(ア) 受粉前後 3 日間に雌穂着生節葉の水ポテンシャルが -1.3 MPa から -1.8 MPa の間になるような低水分ストレス処理を受けた個体では絹糸の受精能力が低下する、(イ) 同じ低水分ストレスを受けた個体でも花粉は授精能力を保つ、(ウ) 38/32 °C (昼/夜) の高温ストレスを受けた個体では花粉の授精能力が大きく低下することを報告した。Cicchino ら (2010) は、絹糸抽出期前の高温ストレスにより絹糸抽出期は大きく遅れ、雄性および雌性の不稔化が起こることを示した。

雄穂開花期と絹糸抽出期とのずれによる受粉障害および花粉飛散量不足に着目した報告例には以下のようなものがある。Bassetti and Westgate (1994) は、絹糸抽出期が雄穂開花期の 7 日以上後になると子実稔実率が低下するとした。Uribelarrea ら (2002) は、子実稔実率 95% 以上を得るためには 1 日あたりの花粉飛散量は 227 粒/cm² 必要で、これは飛散した花粉の発芽能力の維持期間を勘案すると絹糸 1 本あたり花粉 2 粒以上に相当することを報告した。Westgate ら (2003) は、除雄または雄性不稔系統を用いた圃場試験を行い、花粉飛散量が絹糸 1 本あたり 3000 粒以下になると子実数が減少するとし、この状態は雄穂の 50% 以下

しか花粉飛散能力をもっていないときに起こるとした。

高すぎる栽植密度については、以下のような報告がある。Stinson and Moss (1960) は、密植適性が異なる品種群に対し遮光処理した結果、密植適性が小さい品種では雌穂収量は減少したがその要因は雌穂サイズの減少ではなく子実稔実率の低下であったと報告した。Andrade ら (2000) は、絹糸抽出期の前 10 日から後 20 日の間に遮光処理を行い、個体当たりの受光量が 0.31 MJ/日を下回ると子実稔実率が低下すると報告した。Early ら (1967) は、生殖生長期に 21 日間にわたり遮光率 60%以上で処理した場合に子実稔実率が低下したことを報告した。Kiniry and Ritchie (1985) は、受精後 1-2 週間の期間に遮光処理した場合に子実の発達に阻害されることを明らかにした。Sass and Loeffel (1959) および Wooley ら (1962) は、密植栽培により雄穂および雌穂の分化自体には影響はみられないものの、絹糸の抽出が遅れ、子実稔実率が低下すると報告した。

密植栽培と関連する場合もあるが、子実の稔実と同化産物不足との関係を取り上げた報告もある。岩田 (1973) は、密植栽培における不稔雌穂および無雌穂個体の発生要因について検討し、これらは栽植密度の増加にともなって増加すること、密植栽培で発生する不稔粒は受精後の同化産物不足によるものであること、さらに絹糸抽出の前後 20 日間の受光量減少が不稔雌穂および無雌穂個体の発生に関係することを明らかにした。佐藤ら (2001) は、1999 年に北海道中央部で発生した不稔事例についてその年の気象条件から要因を考察し、不稔が発生した品種では雄穂開花期と絹糸抽出期との間隔が大きくなりがちであったことと、雄穂開花期頃に高温かつ低日照となった品種で不稔が多発する傾向がみられたことから、高温で生育が促進されたにも関わらず低日照で同化産物が不足したため絹糸抽出が遅延して絹糸の受精機能が低下した可能性があるとして報告した。

子実不稔を引き起こすその他の要因として、千藤ら (1995) はアブラムシの寄生程度（トウモロコシの個体における寄生面積の大小）と異常雌穂（不稔、先端不稔、矮小雌穂）の発生割合との間には高い相関関係があることを見出し、その原因は葉身にアブラムシが寄生し

たことによる光合成阻害である可能性を指摘している．Below ら（2009）は，殺菌剤の一種が原因となって雌穂形態異常（不稔）が起こる場合があることを報告している．

以上のようにトウモロコシの子実不稔に関する情報は多数存在するが，低温（冷害）に起因するとした報告例は見当たらない．

（2）他の作物における不稔の原因

トウモロコシでは低温によって子実不稔が発生するとの報告例が見当たらないため，ここでは他の作物における低温と不稔に関する報告を示した．イネ（*Oryza sativa* L.）では，低温によって生育が遅延して秋冷によって登熟が不十分のまま収穫せざるをえない生育遅延型冷害のほか，穂ばらみ期や開花期といった特定の時期の低温により花粉形成不全または受精不全などの障害が起きる障害型冷害，さらに上記の両型が併発した混合型冷害が起きることが知られている（星川 1984）．障害型冷害は，出穂前 11 日頃に 12℃程度の低温に 4 日間以上さらされることによってタペート細胞が異常肥大を起こし，充実花粉粒数が減少して不稔につながるもの（Hayase ら 1969, Satake 1991），および開花期に 12–15℃程度の低温に 8 日間以上さらされることによって花粉発芽能力が低下して不稔につながるもの（Satake and Koike 1983）が知られている．なお，寒冷地である北海道で熱帯原産のイネが栽培可能となった歴史的背景には，第 1 に短日植物であるイネの出穂期を早めるため日長感应性が小さな品種が選抜されてきたことがある．その上で，現代では収量・食味などの農業特性に優れることはもとより障害型冷害抵抗性を含めた耐冷性に優れた品種の育成が進められている（北海道米麦改良協会 2011）．

ソルガム（*Sorghum bicolor* (L.) Moench）では，減数分裂期の低夜温処理（10℃ 5 日間）によって雄性不稔が誘発されることや，小穂原基が花序全体にみられる時期の低夜温処理によって子実数が大きく減少すること（Brooking 1976），さらに開花期の 15/10℃（昼/夜）の低温処理により幼穂重および幼穂あたりの穀実数は大きく減少すること（Maulana and

Tesso 2013) が報告されている. コムギ (*Triticum aestivum* L.) では, 15/10 °C (昼/夜) の低温処理により充実花粉生産にかかる日数が延長すること (Qian ら 1986) や, 低温により雄性不稔が起きて低収害につながることを (Săulescu and Braun 2001) が報告されている.

ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr) では, 開花期の低温による着莢数の減少が問題となっており, これまで, 15 °C (昼/夜) の低温処理によって着莢数が減少すること (Saito ら 1970) や, 18/13 °C (昼/夜) の処理により着莢数が減少すること (Kurosaki ら 2003) が報告されている. また, 開花の 12.5 日前または 3–4 日前の低温処理 (15/10 °C <昼/夜>) によって花粉が正常に発達せず着莢率が低下すること (Ohnishi ら 2010) が報告されている. アズキ (*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et Ohashi) では, 開花の 9–14 日前に 7 日間 14 °C の低温にさらされた花において着莢率および受精率が著しく小さくなったこと, および開花時に 7 日間 14 °C の低温条件におくと受粉数が低下することが報告されている (島田 1997). また, 開花期以降に 7 日間, 昼の最高気温を 15 °C に調節する処理を行うことで, アズキ品種の「開花着莢障害耐冷性」を評価する手法が提案されている (青山・島田 2014). ヒマワリ (*Helianthus annuus* L.) では, 小花の分化期に 14 日間 19 °C 以下の低温条件におくと子実着生数が顕著に減少するという報告がある (Chimentì and Hall 2001).

第 3 節 検討を要する事項と本研究の目的

(1) 検討を要する事項

トウモロコシにおいても低温に関連して子実不稔が発生すると考えられた場合 (イネのように障害型冷害が発生する場合), 寒冷地でのトウモロコシ栽培には, 低温年には未熟害のほかに子実不稔害という新たな冷害に注意する必要があることになる. 寒冷地で将来にわたりトウモロコシ栽培を安定的に続けていくためには, 第 1 に, 2003 年に根釧地域で起こったような子実不稔の実態および原因を整理・推定しておく必要がある. 過去に, トウモロコシに

において低温に関連する不稔の報告例がなかったのは、根釧地域のように夏季に厳しい低温に見舞われる可能性がある地域でのトウモロコシ栽培の歴史が浅いためかもしれない。つまり、寒冷地では、低温による子実不稔害が起こりえるとしてもこれまで系統だった研究が行われてこなかった可能性がある。

第2に、トウモロコシにおいても低温に関連して不稔が発生すると考えられた場合、その回避のために品種選定からの取り組みが可能かどうかを明らかにする必要がある。トウモロコシは長大型作物であるため、生殖生長期に入り節間伸長が始まった段階で保温等のために何らかの対策技術を行うことは困難である。特に酪農家による飼料用栽培の場合は、管理面積が広大なこともあって追加の費用をかけて通常とは異なる栽培管理をすることは考えにくい。したがって、低温に起因する不稔害を避けるためには品種選定からの対策が重要となる。例えばイネ、ソルガムまたはダイズでは、障害型冷害への耐性の強化に向けた育種が進んでいる（丹野ら 2000, Brooking 1979, 青山・島田 2014）。トウモロコシには広い遺伝的変異があるとされており、寒冷地への適応性拡大に関しても遺伝的変異について論じた報告は多い（Greaves 1996, Marocco ら 2005, Marton 2005, Camus-Kulandaivelu ら 2006, Bhosale ら 2007）。トウモロコシにおいても子実稔実に関し低温の影響を受けにくい遺伝資源が存在する可能性がある。なお、トウモロコシでは、例えば窒素利用効率および干ばつ耐性について遺伝的変異があることが知られている（Betrán ら 2003, Gallais and Coque 2005）。

(2) 本研究の目的

本研究の目的は寒冷地におけるトウモロコシ栽培の安定性を確保するために、2003 年に北海道根釧地域で発生した子実不稔の発生要因を整理し、その回避に向けた知見を提供することである。まず第2章において、2003 年の北海道根釧地域におけるトウモロコシの子実不稔の実態を整理するとともに、その発生原因を検討した。実態の整理にあたっては、地域の農業改良普及センターの協力のもと、農家圃場におけるトウモロコシの生育状況を調査すると

ともに、圃場ごとの品種、栽培法および収量の各データを収集した。また、子実不稔発生要因の検討にあたっては、北海道立総合研究機構根釧農業試験場（以下、根釧農試とする）場内の定期作況調査圃場における月例の葉数調査結果および品種検定圃場における雄穂開花期および絹糸抽出期データを利用した。さらに、根釧農試場内に設置された気象庁のアメダス気象観測地点の気象データを用いた。第3章では、2003年に根釧地域で発生した不稔を品種選定の面から回避できるか検討した。そのため、2003年の圃場条件における子実不稔および生育異常の発生程度の品種間差異を整理した。また、ポット条件にて低温処理に対する品種ごとの反応を調査し、低温に起因する生育異常に関する品種間差異検出法の策定を試みた。第4章では、子実不稔が発生しにくい品種の開発に資するため、低温に対する感受性が小さな品種の遺伝的背景について検討した。そのために、市販品種および試験交配系統を用いて低温に起因する生育異常の発生程度の品種間・系統間差異を調査した。また、構成親自殖系統ごとに交雑系統の低温感受性を整理し、低温感受性の遺伝的改良に資する基礎的知見を得ようとした。

第2章 2003年の不稔の実態と発生要因

第1節 不稔発生時の状況整理と発生要因の推定

2003年に、北海道根釧地域において不稔に対する懸念が最初に認識されたのは絹糸抽出期を過ぎた9月中旬以降であった。圃場での実態調査はその後実施されたため、2003年の雄穂開花または絹糸抽出の実態およびそれ以前の生育状況に関する情報は少ない。とはいえ、本研究では地域の農業改良普及センターの協力のもと、根釧地域各地のトウモロコシ圃場の播種期、栽植密度および収量データを入手することができた。また、根釧農試場内で調査された開花特性、雄穂開花前のトウモロコシ生育ステージの進行状況、さらに気象データが入手できた。これらの情報から、2003年の子実不稔害の発生要因を考察した。

(1) 材料と方法

2003年に、北海道根室農業改良普及センターおよび北海道釧路農業改良普及センターの協力のもと、農家圃場（耕種概要は各農家の慣行法による）において、当時根釧地域で最も多く栽培されていた品種である「39B29」の播種日、栽植密度および収量の各データを収集した。これらのデータを入手できた圃場数は20であった。「39B29」はアメリカのパイオニア社が育成したデント×フリントの1代雑種で、RM75日タイプの極早生品種である（平成15年度北海道農業試験会議飼料作物分科会資料〈内部資料〉）。

根釧農試場内の品種検定圃場において、「39B29」の雄穂開花期および絹糸抽出期データ（開花特性データ）を収集した。根釧農試は北海道中標津町の北緯43度33分、東経144度59分、標高50mに位置し、試験圃場の土壌は黒ボク土である。開花特性データについては、2003年の根釧農試場内における調査結果のほか、2001－2002年の同場内の品種検定圃場における調査結果および北海道内各地の農業試験場の品種検定圃場における調査結果を用いた（平成15年度飼料作物品種比較試験成績書〈内部資料〉）。ここで参考とした試験場は、当時「39B29」

を試験していた上川農業試験場天北支場（浜頓別町，北緯 45 度 7 分，東経 142 度 21 分，標高 18 m，土壌タイプは台地土），十勝農業試験場（芽室町，北緯 42 度 54 分，東経 143 度 3 分，標高 90 m，土壌タイプは黒ボク土）および北見農業試験場（訓子府町，北緯 43 度 45 分，東経 143 度 43 分，標高 195 m，土壌タイプは黒ボク土）である．これらのうち，上川農業試験場天北支場は，夏季の気象条件が根釧地域に類似した地域に立地している．

根釧農試の品種検定圃場の播種期は，2001 年は 5 月 16 日，2002 年は 5 月 22 日，2003 年は 5 月 22 日であった．栽植様式は，畦幅 72 cm，株間 18 cm の 7.7 本/m²で，畦長は 4 m とし 1 区畦数は 4 とした．試験区は 4 反復乱塊法にて配置した．播種床には完熟堆肥を 40 t/ha すき込み，播種時には化学肥料を用い，N，P₂O₅，K₂O でそれぞれ 4 g，21 g，6 g/m²施用した．追肥として，9 葉期頃，N，K₂O をそれぞれ 4 g/m²ずつ施用した．参考データを収集した各農業試験場では，各場の慣行法で施肥管理されていた．

雄穂開花期および絹糸抽出期は，区内の 50% の個体で雄穂開花（わずかな小穂でも葯を抽出した状態）または絹糸抽出（包葉の先から絹糸束の先端が抽出した状態）がみられた日とした．雄穂開花期と絹糸抽出期の差（以下，ASI <anthesis-silking interval> とする）を，絹糸抽出期から雄穂開花期を引いた値として算出した．気象データは，各農業試験場内または近傍に設置されている気象観測地点（アメダス）（気象庁 2015）から収集した．

ASI の年次間差は分散分析により解析した．分散分析における分散源は各年の試験区に設置された反復とした．統計処理は統計ソフトウェア「R」（バージョン 2.14.2 <R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria>）を用いて行った．

(2) 結果

2003 年当時，生産現場ではビニールマルチ栽培が主流であり，子実不稔が発生した農家圃場の多くでビニールマルチが用いられていた．トウモロコシの播種期は 5 月下旬で，栽植密度は 8–9 本/m²であった（Table 2–1）．9 月に観察したところ，雄穂の全体または一部に小

穂が付かないという形態異常がみられた (Figure 2-1).

根釧農試場内の品種検定圃場における雄穂開花期および絹糸抽出期を Table 2-2 に示した. 2001 年には雄穂開花期は絹糸抽出期より 2 日遅れたものの, 2002 年には両者は同日であった. 一方, 2003 年には雄穂開花期は絹糸抽出期より大きく遅れ, ASI は 7 日に達した. 2003 年の ASI は, 2001 年および 2002 年のそれより有意に長かった.

Table 2-1. Sowing date and planting density at the farm fields in Konsen region in 2003.

Cultivar	Number of observation	Sowing date (date of May)			Planting density (plants m ⁻²)			
		Mean	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	CV(%)
39B29	20	23	14	28	8.18	7.27	9.85	7.2

Data are collected through the courtesy of Nemuro Agricultural Extension Center.

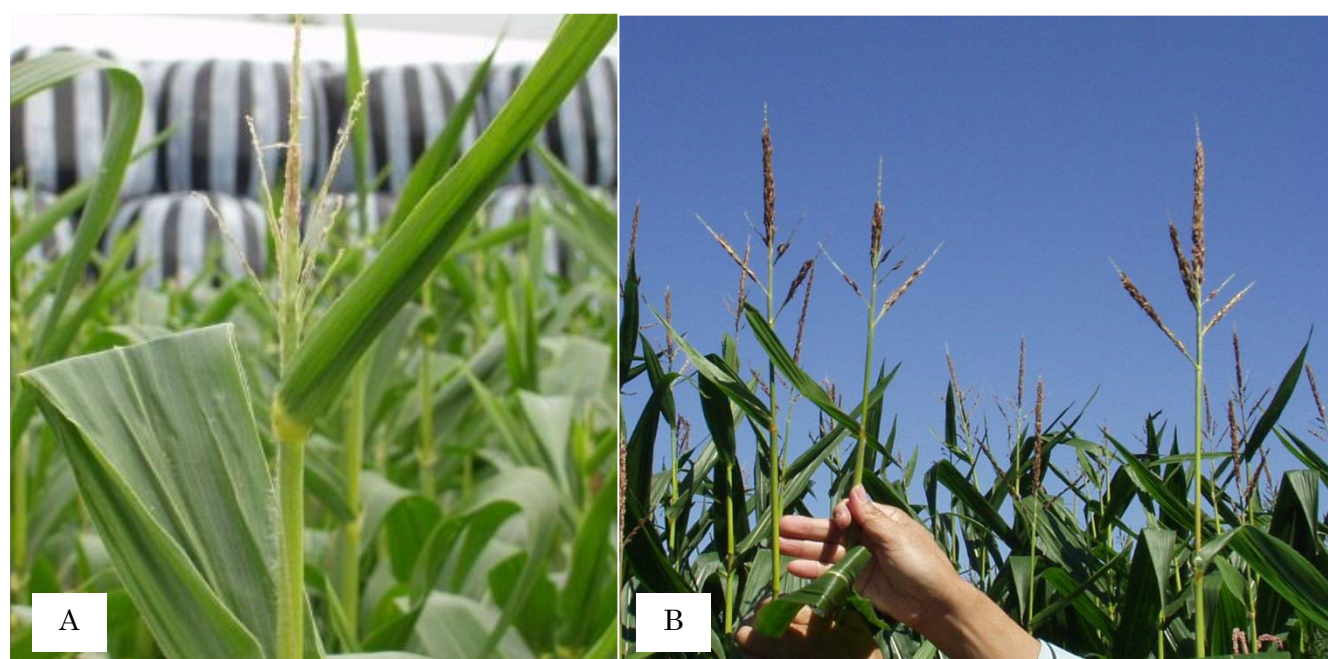


Figure 2-1. Maize tassels of cultivar 39B29 observed in the farmers' fields in Konsen region in 2003. Photos taken on: (A), 10 October; (B), 16 September.

根釧農試場内のアメダスで観測された 6-9 月の日平均気温および降水量を Figure 2-2 に示した。また、同期間の旬別に集計した日照時間を Table 2-3 に示した。日平均気温は 6 月下旬（雄穂開花期の 50 日ほど前）に 10 °C 近くにまで低下し、その後も 7 月中旬まで 15 °C 弱のままで推移し、7 月下旬（雄穂開花期の 30 日ほど前）には再び 10 °C 前後となった。さらに、8 月中旬（絹糸抽出期の直前）にも 10 °C 前後となった。降水量をみると、8 月上旬中に降雨が続いたことが特徴的であったが、8 月中旬には降雨がない日が 5 日間続いていた。雄穂開花期の直前には断続的な降雨があったが、その後は降雨がない日が数日続いた。日照時間は 7 月中旬から下旬にかけてかなり短く、この期間の平年値の 20% 程度しかなかった。

根釧農試における播種期から雄穂開花期までの単純積算気温は、2003 年は 1382 °C で、2001 年より 43 °C 多く 2002 年より 50 °C 少なかった (Table 2-2)。また、播種期から絹糸抽出期までの単純積算気温は、2003 年は 1270 °C で、2001 年より 28 °C 少なく 2002 年より 162 °C 少なかった。道内他地域（浜頓別、芽室および訓子府）での「39B29」の開花特性をみると (Table 2-4)、2003 年には雄穂開花期が絹糸抽出期より遅れる傾向（ASI が大きくなる傾向）がみられたものの、2001 年および 2002 年にはそのような傾向はみられず、これら 3 地域の 2003 年の ASI は根釧農試より小さかった。播種期から雄穂開花期までの単純積算気温は、浜頓別の 2002 年および 2003 年に他の年や地域に比べ多かった。播種期から絹糸抽出期までの単純積算気温は、浜頓別の 2002 年にやや多かったものの 2001 年と 2003 年は同程度で、他の地域では、年による違いほとんどみられなかった。

中標津の過去 37 年間（1978-2014 年）の 7 月の気象条件を 2003 年のそれと比較したところ (Figure 2-3)、2003 年と同程度に低温かつ低日照となった年は、37 年間のうち 1 年もなかった。根釧農試場内の定期作況報告（品種検定圃場にて調査。品種「エマ」）によると、トウモロコシの葉数は、6 月 20 日に 5.6 枚、7 月 20 日に 10.8 枚であった（根釧農業試験場 2003）（葉数の数え方は本研究の本章第 2 節と同じ〈Figure 2-4 を参照〉）。

Table 2—2. Date of anthesis and silking, and anthesis-silking interval (ASI) of cultivar ‘39B29’ in the test field of Konsen Agricultural Experiment Station.

Year	Date of anthesis	Date of silking	ASI (d)	Accumulated temperature(°C)	
				anthesis	silking
2001	24 August	22 August	2 ± 0.82 a	1339	1298
2002	30 August	30 August	0 ± 0.25 a	1432	1432
2003	28 August	21 August	7 ± 0.41 b	1382	1270

ASI: (date of anthesis)–(date of silking), values are the means ± S.E. of 4 replications. Values followed by the same letters are not different at the 1% confidence level by Tukey's HSD test (n = 4). Accumulated temperature: sum of daily mean air temperature from the next day of sowing date to the anthesis or silking date.

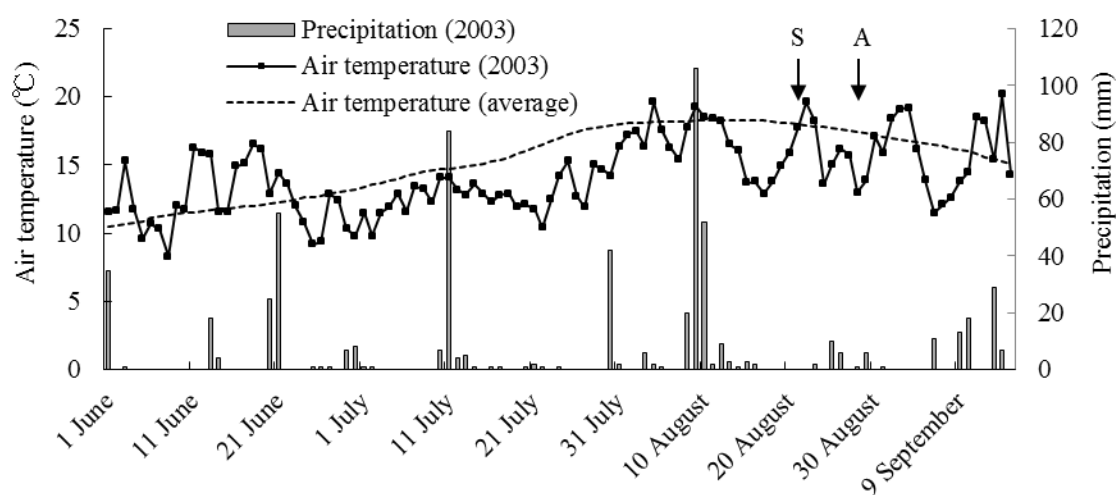


Figure 2—2. Daily mean air temperature and daily precipitation in Nakashibetsu in 2003 and the average year (average of 1979–2000). S and A indicate the dates of silking and anthesis of the cultivar ‘39B29’ in the test field at Konsen Agricultural Experiment Station respectively.

Table 2—3. Sunshine hours for 10 d span accumulations at the pre-flowering season of maize.

		June			July			August		
	year	First	Middle	Last	First	Middle	Last	First	Middle	Last
Sunshine hours	2003	67	47	31	48	3	9	20	13	19
(hr)	Average	37	32	34	31	26	28	28	29	35

Average year data are averages of 1986-2000.

Table 2—4. Date of anthesis and silking, and anthesis-silking interval (ASI) of cultivar ‘39B29’ in the test fields of the other regions in Hokkaido.

Location	Year	Date of anthesis	Date of silking	ASI (d)	Accumulated temperature(°C)	
					anthesis	silking
Hamatonbetsu	2001	16 August	17 August	–1	1290	1307
	2002	30 August	30 August	0	1473	1473
	2003	22 August	18 August	4	1388	1305
Memuro	2001	26 July	27 July	–1	1205	1224
	2002	28 July	28 July	0	1178	1178
	2003	6 August	4 August	2	1253	1210
Kun'neppu	2001	4 August	7 August	–3	1221	1267
	2002	3 August	4 August	–1	1185	1202
	2003	5 August	5 August	0	1231	1231

Hamatonbetsu, Memuro and Kun'neppu are the locations of Kamikawa Agricultural Experiment Station (AES) Tenpoku branch, Tokachi AES and Kitami AES, respectively. Accumulated temperature: sum of daily mean air temperature from the next day of sowing date to the anthesis or silking date. Temperature in Kun'neppu is observed at Sakaino AMeDAS Station.

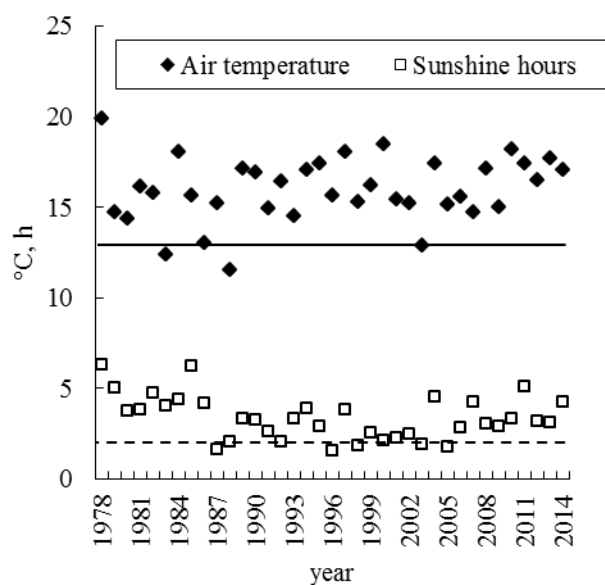


Figure 2—3. Daily mean air temperature and daily sunshine hours for July in 1978—2014 in Nakashibetsu. The data are averages of 1 July to 31 July. Horizontal lines indicate the levels in 2003.

(3) 考察

トウモロコシでは、過度の密植栽培は雌穂の発達不良をもたらし、子実不稔の原因となるとされている (Sass and Loeffel 1959, Stinson and Moss 1960). しかし、2003 年の農家圃場における栽植密度は 7.3–9.8 本/m²の範囲にあり、栽培法は 9.5 本/m²程度の密植に耐えるとされるビニールマルチ栽培 (名久井ら 1995) がほとんどであったことから、栽植密度は不稔を起こすほど高くはなかった. 2003 年に根釧地域で観察された子実不稔の態様が、雌穂の発達不良ではなく子実の着生不良であったことから、不稔の原因は過度の密植栽培ではないと考えられる.

子実が着生不良を起こす要因の 1 つとして、絹糸抽出期頃のアブラムシの大量発生が報告されている (千藤ら 1995). また、害虫により絹糸が直接食害を受ける場合もある. しかし、子実不稔が発生した圃場の写真 (Figure 1–3) にみられるように、子実不稔が発生した圃場でアブラムシが大量発生した痕跡は確認されず、また絹糸は食害を受けることなく十分に伸長していたことから、2003 年の不稔は虫害によるものではないと考えられる. 花粉飛散時期の長雨が花粉飛散を妨げ、受粉障害を引き起こす場合があるが、2003 年の雄穂開花期頃 (8 月下旬) には長く連続した降雨はなかった. 花粉飛散期の高温は花粉の発芽を阻害し、受粉障害の原因となるが (Edreira ら 2011, Cicchino ら 2010, Schoper ら 1986, Herrero and Johnson 1980), 根釧地域 (中標津) の 2003 年夏季は平年に比べ低温に推移していたため、この点は問題にはならない. 受精後の低日照等に起因する同化産物不足が子実の発達不全につながるとの報告があるが (Andrade ら 2000, 佐藤ら 2001), 2003 年の不稔は子実が歯抜け状に着生する態様であったことから (Figure 1–3), 2003 年の不稔は受精後の問題ではなく、そもそも受粉自体が正常に行われていなかったと考えられる.

雄穂開花期と絹糸抽出期とが 5 日以上ずれると、絹糸が受精可能な状態を保つ期間内に十分な花粉飛散量が得られず、雌穂の稔実率低下が起こるといわれている (Bassetti and Westgate 1994). 2003 年の根釧農試場内の品種検定圃場では、雄穂開花期と絹糸抽出期のず

れは7日に達していた。このため、雄穂開花期と絹糸抽出期との大きなずれが、2003年の子実不稔の一因となっていたと推察される。一方、Uribelarrea ら (2002) は、95%以上の子実が稔実するためには1日あたり絹糸1本につき花粉2粒が必要だとしている。また、Westgate ら (2003) は、子実稔実率を維持できる最小限の花粉量は1シーズンに絹糸1本につき3000粒としており、これは、圃場全体の20%の個体しか通常量の花粉を産生していない状況にあたるとしている。2003年には、根釧地域の多くの圃場で雄穂小穂の着生不良がみられた。このため花粉飛散量が少なくなっていたと考えられ、これも子実不稔の原因となっていたと推察した。

2003年の根釧地域で上述のような開花特性の異常および雄穂形態の異常が発生した要因を検討するにあたり、まず注視すべきことは、2003年には雄穂開花が絹糸抽出期より大幅に遅れたことである。トウモロコシは本来雄性先熟の作物であり、通常は雄穂が開花し花粉の飛散が始まってから絹糸が抽出する (Bolaños and Edmeades 1993, Westgate ら 2004)。2003年の開花特性はそのトウモロコシ本来の特性に反したものであった。2003年のこの現象に関しては、絹糸抽出期が異常に早かった、もしくは雄穂開花期が異常に遅かったという2つの要因が考えられる。葉数の増加、葉身の展開および絹糸抽出期などの生育ステージの進行は積算気温でよく説明できる (岩田・大久保 1969, Tollenaar ら 1979, 櫛引 1979c, 1980, 田村ら 1989, Ellis ら 1992, Stewart and Dwyer 1994)。また、このことは異常低温年でも当てはまるとされている (戸澤・長谷川 1983)。実際、2001–2003年の4試験地の播種から絹糸抽出期までの単純積算気温は、2002年の根釧農試および浜頓別を例外とし、1200–1300℃でほぼ一定であった (Table 2–2, Table 2–4)。このことから、2003年に雄穂開花期が絹糸抽出期より遅れたのは、絹糸抽出期が異常に早かったというより雄穂の開花が異常に遅れたことによると推察した。

雄穂の開花が遅れたということは、雄性不稔（ここでは花粉の発達不全）が起きていたことを示唆する。本試験では雄穂開花期は区内の半数以上の個体が開葯した日として記録した

が、その際、雄穂上のごく一部の小穂が葯を抽出した場合と全体が開葯した場合とは分別していない。つまり、2003 年の雄穂開花期の記録には、実態としてはわずかな小穂しか葯を抽出していなかった場合が含まれていた。

雄穂の形態異常（小穂の着生不良）が発生したことからは、雄穂の分化期に、雄穂への養分転流を妨げるような現象が発生していたことがうかがえる。Moss and Helsop-Harrison (1968) は、短日条件においたトウモロコシ個体は、無処理（長日条件）で栽培した個体と比べて雌穂の生長が早まる一方、雄穂では枝梗数が減少し、さらに不稔花粉粒が増加したと報告している。また、トウモロコシの自殖系統では、ポット条件の低温処理試験の結果、雄穂小穂数が減少したとの報告がある（Bechoux ら 2000, Tranel ら 2009）。

本試験における雄穂の発達異常がいかなる条件により発生したのか考察するため、2003 年の気象推移とトウモロコシの生育ステージとの関係（一部推定を含む）を検討した。根釧地域では 2003 年の 6 月下旬から 7 月にかけて、とりわけ 7 月全旬は、過去に例を見ないほどの著しい低温および低日照条件であった（Figure 2-2, Table 2-3, Figure 2-3）。根釧農試の当時の作況調査品種「エマ」の葉数記録からは、7 月にはトウモロコシは 6 葉期と 9 葉期の間にあったものと推測された。トウモロコシの雄穂分化期は、播種から雄穂開花までの期間の約 1/3 の時期であるとの報告がある（Warrington and Kanemasu 1983）。2003 年の根釧地域におけるトウモロコシの播種期は 5 月下旬であり、雄穂開花期は概ね 8 月中下旬であったことから、雄穂は 6 月下旬以降に分化したと考えられる。よって、この時期のトウモロコシ雄穂は分化の最中にあり、低温等の環境ストレスの影響を受けやすい状態にあったと推察した。

以上のことから、2003 年の子実不稔発生は、7 月の著しい低温および低日照が引き金となって雄穂開花期が絹糸抽出期より大きく遅れ、かつ雄穂小穂が発達不全を起こしたことにより、受粉が不十分となったためと推定した。

第2節 人工的な低温処理による不稔原因の検討

前節の結果から、2003年に根釧地域で発生した子実不稔は、7月の著しい低温および低日照に起因する雄穂発達異常(雄穂開花と絹糸抽出期の大幅なずれおよび花粉産生部位の減少)によって起きたと推定した。しかし、これまでに知られているトウモロコシの不稔の原因は、高温、干ばつ、高すぎる栽植密度等が主で、低温に関連するものは見当たらない。

本節では人工的な低温処理を行い、前節で示した仮説、すなわち2003年の不稔は7月の著しい低温および低日照が引き金となって雄穂開花期が絹糸抽出期より大きく遅れ、かつ雄穂小穂の退化が起こったことによる、を確認しようとした。しかし、トウモロコシは地上部が長大な作物であるため、圃場条件で植物体全体に低温処理を行うことは難しい。Adams and Thompson (1973) は、登熟期の高温が問題となるアメリカ合衆国のテキサス州において、地温を下げる実験処理のため地中に銅製の冷水パイプを配置したところ、地表下7.5–46cmの平均地温を無処理区に比べ4℃程度下げることができ、地上10cmのトウモロコシ茎温度を無処理区の33℃から27℃へと低下させることができたとしている。しかし、このような処理および調査を行うには、大規模な施設が必要となる。

人工的な低温処理試験はポット条件にて行うのが一般的である。他の作物においても、実験的に植物体を低温条件にさらすためにはポット試験を行う場合が多く、第1章で示した他作物における低温に起因する不稔研究事例のほとんどはポット条件で行われたものである。

本節ではトウモロコシをポット栽培条件にて低温処理し、2003年に根釧地域でみられたような開花特性および雄穂形態の変化が起こるのか検討した。また、低温処理が花粉産生および雌穂稔性にどのような影響を及ぼすのか検討した。なお、根釧地域において著しく低温かつ低日照であった2003年の7月にトウモロコシの雄穂がどのような発達段階にあったのかは不明確であったため、低温処理は複数の時期に行った。

(1) 材料と方法

供試品種は 2003 年に不稔が発生した「39B29」とし、試験場所は根釧農試場内のガラス室（床面積：9 m×5 m）とした。1/2000 a ワグネルポットに、根釧農試場内の土壌とピートモスを 7:3 の割合で混合したものをつめ、種子を 3 粒ずつ播種した。試験は 2004 年と 2009－2014 年に行い、播種日はそれぞれ 5 月 19 日、8 月 13 日、5 月 18 日、5 月 27 日、6 月 1 日、5 月 14 日、6 月 5 日とした。発芽後 14－18 日目に間引きして 1 本立てとした。播種時に基肥として化学肥料で、N、P₂O₅、K₂O それぞれを 14 g、20 g、14 g/m²ずつポット表層に混和した。追肥として、後述する低温処理の後に化学肥料で N、K₂O をともに 7 g/m²施用した。ガラス室内の気温は外部の気温および日照時間に応じて変化したが、20 °C 以上になるように管理した。灌水は適時に適量行い、生育中の個体が干ばつ状態にならないよう留意した。

低温処理は、トウモロコシ自殖系統を用い環境ストレスが雄穂形態に及ぼす影響を報告した Bechoux ら（2000）を参考に、10 °C で 7 日間とした。処理はポットごと 10 °C（昼夜）に設定された低温ガラス室（幅 2 m、奥行き 3 m、小糸製作所、横浜。以下、低温室とする）に移動することで行った。低温室には、中央部における日射量が自然条件の 30% 程度になるよう天井および側壁部分に寒冷紗をかけた。この遮光処理は低温室内の日射条件を 2003 年の低温時に近づけるためのほか、低温条件下で日射量が十分にあると発生する可能性がある光阻害作用を防ぐために実施した。低温室は壁面上部から冷気を吹き出し、同じ壁面の下部から内気を吸い込む構造であり、床面積が小さいこともあって、ポットの位置による室温のむらはなかった（低温室壁際 3 カ所および中央部 1 カ所で 10 分おきに温度を記録した結果、データ省略）。

低温処理の具体的方法は以下のとおりである。ガラス室内で、処理前の個体が総じて 6 葉期、7 葉期、8 葉期、9 葉期になるつど、あらかじめその時期に処理するよう割り付けておいた 4 個体（2004 年、2009－2010 年）、または 3 個体（2011－2014 年）を低温室に移動した。2011－2014 年には 9 葉期以降にも低温処理を行った。9 葉期以降の処理は、ガラス室内の処理前

の個体が9葉期に達した日から開花直前まで、概ね2, 3日おきに3個体ずつ低温室に移動することで行った。低温室に移動したポットは7日後に元のガラス室に戻した。ポットの移動は午前8時から10時の間に行い、移動の途中には、風通しのよい日陰の場所(施設間の通路)に10分以上ポットを置き、植物体が急激な環境変化を受けないよう配慮した。対照として、無処理の個体を4個体(2004年, 2009–2010年)または3個体(2011–2014年)、生育期間を通じてガラス室内で栽培した。2011–2013年には、2003年の低温条件に近い処理として、8葉期に13℃で15日間または21日間の処理を行った(各処理3個体)。

低温処理開始時のトウモロコシ生育ステージは、展開済みの葉数、すなわち先端が丸い第1本葉から最上位葉までの本葉枚数として測定した(以下、「葉期」または「LS」<leaf stage>とする)。最上位葉の内側から抽出中の葉については、それが最上位葉から完全に分離して展開・伸長し始めた段階で、最上位葉との長さの比により、小数点第1位として葉数に加えた。なお、最上位葉とは完全に抽出しきった葉、もしくは抽出途中であっても葉身が開いた状態で葉身角度が下位葉と同程度となり、かつ小数点を付すべき最新葉が内側から抽出した葉とした(Figure 2–4に例示)。

なお、低温障害の程度は子実稔実率で表すのが最適であるが、そのためには処理終了後の個体を処理区ごとに隔離栽培する必要がある。多くの処理区についてそれぞれ隔離栽培することは事実上困難であるため、本研究では、開花特性の変化および雄穂長の変化を指標として低温障害の程度を評価した。

ポット試験における雄穂開花日は最低1つの小穂が葯を抽出した日とし、絹糸抽出日は最低1本の絹糸が雌穂先端から抽出した日とした。ASIを、第1節と同様に雄穂開花日から絹糸抽出日を引いて計算した。2010–2014年には7–8葉期に予備個体2–3個体を解剖して雄穂発達状況を調査した。雄穂開花が完全に終わった時期に雄穂を切除し、雄穂長(雄穂主軸および枝梗について、小穂が着生した部分の長さ)および雄穂上の小穂着生数(2011–2014年のみ)を計測した。雄穂長測定および小穂数計測の対象とした小穂は、葯を抽出できる程

度の大きさのものとした。ただし、雄穂採取時にすでに葯が脱落していた個体もあったため、実際に葯を抽出した小穂かは確認していない。低温処理が雄穂長に及ぼす効果を年次間で比較するため、低温処理された個体の雄穂長を無処理個体の平均雄穂長で除して相対化した(以下、「雄穂長比」または「RTL」〈relative tassel length〉とする)。



Figure 2-4. An illustration of leaf number counting. The plant represents 7.7-leaf stage. Leaf number is counted, beginning with the lowermost short true leaf and ending with the uppermost developed leaf. The uppermost developed leaf (A) is determined as the leaf of which the tip comes up to the top, when the leaves are stretched to upright position. The leaf just above the uppermost developed leaf (B) is used for determining the decimal number, which is the ratio of the length of elongated part of the leaf B to that of the leaf A.

2013 年および 2014 年には雄穂から飛散した花粉を採取した。花粉採取のため、抽出した雄穂(開花前)の全体をラップ状に覆うように透明なセロファンフィルムを穂軸に巻き付け、リボンワイヤーおよびマスキングテープを用いて固定した。開花終期にセロファンフィルムを巻き付けた箇所より下で雄穂を切除し、花粉をふた付きのシャーレに移した。花粉はセロ

ファンフィルムの中で湿気を帯びる場合があったため、シャーレに移した後 70 °C で 1 時間乾燥させた。その後、シリカゲルを同梱した密閉袋に入れ保存した。

個体ごとの花粉量は花粉量指数 (pollen quantity index) として表した。花粉量指数は、試験年ごとに花粉量が最も多かった個体に対する比 (最大値 1) として定義した。その際、本試験以外の処理に供した個体も同時に評価したため、花粉量指数 1 の個体は本試験で供試された個体とは限らない。調査は目視で行い、まず花粉量が最多の個体群を選び出してそれらを指数「1」とした上で、それらの 75% 程度の量の個体群、50% 程度の量の個体群を選び出してそれぞれ指数「0.75」、同「0.5」とした。次いで、指数 0.5 の個体を新たな指標としてその 75% 程度の量の個体群、50% 程度の量の個体群を選び出してそれぞれ指数「0.375」、同「0.25」とした。以下同様に、全ての個体に指数を付した。充実花粉粒率 (pollen fertility) は、各個体から回収した花粉について一部を取り分けてヨウ素ヨウ化カリウム溶液を用いて染色し、花粉 50 粒中の濃く染色されたものを充実花粉とみなして計測した (2 回調査した平均値を当該個体の結果とした)。低温処理が雌穂の稔実能力に与える影響を評価するため、低温処理された個体の絹糸に低温処理されていない個体の花粉をふりかけた。雌穂は黄熟期以降に収穫し、個体ごとに雌穂表面にある子実原基数と稔実子実粒数を計測して子実稔実率 (ear fertility) を算出した。

結果の解析にあたっては、低温処理開始時葉期は連続数として扱い、雄穂長との関係については散布図および回帰分析にて傾向を検討した。ただし、低温処理開始時の「葉期」が開花特性または雄穂形態に及ぼす影響を検討する際には、各試験年について各葉期に属する個体を反復とした分散分析を行った。各個体が属する葉期は、低温室搬入時の設定葉期ではなく、低温室搬入時に実測された葉期を四捨五入して設定した。そのため、分散分析における葉期別反復個体数は同時に低温室に搬入された処理個体数とは一致しない場合がある。統計処理は、R (バージョン 2.14.2) を用いて行った。分散分析の結果、有意性が認められた場合には、TukeyHSD 法 (危険率 5%) による多重比較を行った。対照 (無処理個体) との対比を

行う場合には、Dunnett の方法 (Hothorn ら 2008, 中澤 2009) を用いて多重比較を行った。

(2) 結果

雄穂開花日および絹糸抽出日は、低温処理された個体では無処理個体より遅れた。遅れの程度は試験年により異なったが、2012 年を除き、雄穂開花の方が絹糸抽出より大きく遅れる傾向であった。その結果として、低温処理された個体では ASI が増大する傾向を示し (Table 2-5), 特に 7 葉期または 8 葉期頃に低温処理された個体の ASI は無処理個体または他の時期に低温処理された個体の ASI より大きくなる傾向であった。その他の葉期に低温処理された個体の ASI は無処理個体と同程度であった。

Figure 2-5 に、低温処理開始時葉期と雄穂長比との関係を示した。低温処理された個体の雄穂では、枝梗自体が短くなるとともに小穂が未着生となる部分がみられ、雄穂長が短くなった。雄穂長が最も短くなる処理時期および短くなる程度は試験年によってやや異なったが、7-8 葉期頃の処理で雄穂長は顕著に短くなり、その時の雄穂長比は概して 60%以下であった。他方、6 葉期頃または 10 葉期以降に低温処理された個体の雄穂長比は、ばらつきが大きかったものの 100%前後であった。7-8 葉期に前後 1 葉期を加えた 6-9 葉期の範囲で、低温処理開始時葉期を説明変数とし雄穂長比を目的変数として一次回帰モデルと二次回帰モデルとを比較したところ、一次回帰モデルには有意性は認められなかったものの二次回帰モデルでは一次項、二次項ともに高度に有意となり、さらにモデル自体も高度に有意となった (Table 2-6)。

低温処理開始日から雄穂開花日までの単純積算気温を横軸とし、雄穂長比を縦軸として散布図を描いたところ、年次にかかわらず単純積算気温が 500-600 °C のときに雄穂長比が最低値をとるような関係性がみられた (Figure 2-6)。積算気温 500-600 °C 前後とは、温室内の気温条件 (20 °C 以上に維持) では雄穂開花日の 25-30 日程度前にあたる。

雄穂長と雄穂小穂数との間には、決定係数 (R^2) 0.866 の高度に有意な直線関係が認めら

れた (Figure 2-7). Table 2-7 に低温処理開始時葉期ごとの小穂あたりの花粉量指数 (pollen quantity index per spikelet), 充実花粉粒率および子実稔実率を示した. 小穂あたりの花粉量指数は無処理個体で最も多く, 低温処理された個体では総じて少なくなった. これについて低温処理開始時葉期ごとにみると, 2 カ年の試験のうち 1 カ年では一定の傾向は認められなかったものの, もう 1 カ年では 8-10 葉期に低温処理された個体で無処理個体および他の時期に低温処理された個体より少なくなる傾向がみられた. 充実花粉粒率は 8-10 葉期に低温処理された個体で無処理個体または他の時期に低温処理された個体より小さくなる傾向がみられ, 特に 2013 年試験には, 9 葉期に処理された個体が無処理個体または他の時期に低温処理された個体より有意に小さい値を示した. 子実稔実率は概ね全ての処理群および無処理個体で 70%前後以上となったものの, 7 葉期頃に低温処理が開始された個体が無処理個体または他の葉期に低温処理された個体より小さくなる傾向がみられた.

8 葉期に 13 °C で 15 日間または 21 日間処理された個体では雄穂開花日が絹糸抽出日より顕著に遅れ, ASI は 15 日間処理では 3.6 日, 21 日間処理では 2.9 日となった. 雄穂長比は 15 日間処理では 20%, 21 日間処理では 22%となった (Table 2-8). 8 葉期に植物体を解剖して雄穂の発達段階を観察したところ, 主軸では小穂が形態的な分化を完了しており, 枝梗では先端に近い部位では小穂の形態的な分化が始まったところであった (Figure 2-8).

Table 2—5. Effects of the low temperature treatment on the days to anthesis and silking, and anthesis-silking interval (ASI).

Test year	Treatment	n	Anthesis (DAS)	Silking (DAS)	ASI (d $\pm$ S.E.)	
2004	Control	4	56.8	56.5	0.3 $\pm$ 0.25	a
	6-leaf stage	5	62.0	61.4	0.6 $\pm$ 0.40	a
	7-leaf stage	3	62.0	61.0	1.0 $\pm$ 0.00	a
	8-leaf stage	3	61.3	60.3	1.0 $\pm$ 0.00	a
	9-leaf stage	5	60.6	60.0	0.6 $\pm$ 0.24	a
2009	Control	4	46.5	47.0	-0.5 $\pm$ 0.65	b
	6-leaf stage	4	53.3	50.5	2.8 $\pm$ 0.25	a
	7-leaf stage	4	54.3	51.0	3.3 $\pm$ 0.48	a
	8-leaf stage	3	54.3	50.0	4.3 $\pm$ 0.67	a
	9-leaf stage	5	53.0	50.8	2.2 $\pm$ 0.58	a
2010	Control	4	60.8	61.3	-0.5 $\pm$ 0.29	b
	6-leaf stage	4	66.0	66.0	0.0 $\pm$ 0.71	ab
	7-leaf stage	4	64.5	64.5	0.0 $\pm$ 0.58	ab
	8-leaf stage	4	67.3	65.3	2.0 $\pm$ 0.00	a
	9-leaf stage	4	67.5	67.3	0.3 $\pm$ 0.48	ab
2011	Control	3	58.7	59.3	-0.7 $\pm$ 0.88	a
	6-leaf stage	3	62.3	62.3	0.0 $\pm$ 0.00	a
	7-leaf stage	2	63.5	63.5	0.0 $\pm$ 0.00	a
	8-leaf stage	4	62.0	62.0	0.0 $\pm$ 0.41	a
	9-leaf stage	3	63.3	63.7	-0.3 $\pm$ 0.33	a
2012	Control	3	73.3	75.0	-1.7 $\pm$ 0.33	ab
	6-leaf stage	2	77.0	81.5	-4.5 $\pm$ 0.67	b
	7-leaf stage	4	75.5	76.5	-1.0 $\pm$ 0.58	a
	8-leaf stage	3	78.7	78.7	0.0 $\pm$ 0.00	a
	9-leaf stage	3	81.7	80.3	1.3 $\pm$ 0.48	a
2013	Control	3	68.7	69.7	-1.0 $\pm$ 1.00	a
	6-leaf stage	3	75.3	76.0	-0.7 $\pm$ 0.67	a
	7-leaf stage	3	74.0	74.0	0.0 $\pm$ 0.58	a
	8-leaf stage	2	77.0	76.0	1.0 $\pm$ 0.00	a
	9-leaf stage	4	76.3	75.0	1.3 $\pm$ 0.48	a
2014	Control	3	60.3	59.7	0.7 $\pm$ 0.33	ab
	6-leaf stage	3	63.3	63.3	0.0 $\pm$ 0.00	ab
	7-leaf stage	3	65.0	64.7	0.3 $\pm$ 0.33	ab
	8-leaf stage	3	64.7	62.7	2.0 $\pm$ 0.58	a
	9-leaf stage	3	64.7	65.3	-0.7 $\pm$ 0.67	b
Average	Control		60.7	61.2	-0.5	a
	6-leaf stage		65.6	65.9	-0.3	a
	7-leaf stage		65.5	65.0	0.5	a
	8-leaf stage		66.5	65.0	1.5	a
	9-leaf stage		66.7	66.1	0.7	a

Treatment indicates the starting period of the low temperature treatment. n: number of observation. DAS: days after sowing. ASI: values are the means $\pm$ S.E. Values followed by the same letters are not different at the 5% confidence level by Tukey's HSD test. The data may contain rounding errors. Source of variances are individual plant for the analysis for each year and test year for the analysis for the average.

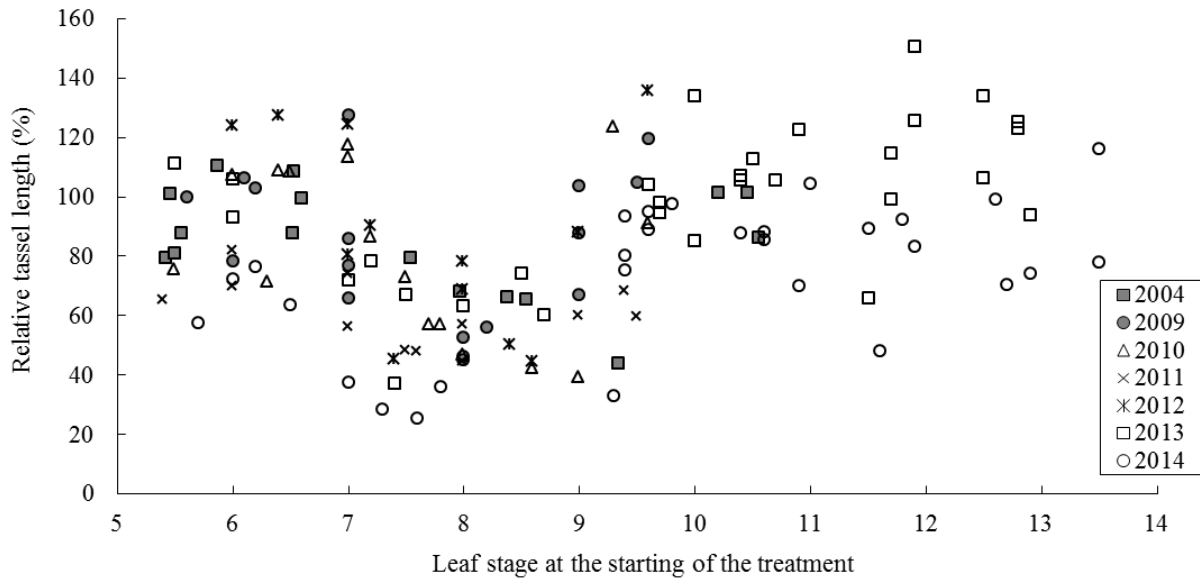


Figure 2—5. Effects of the starting stage of low temperature treatment on tassel length. Relative tassel length was calculated by determining the ratio of the tassel length of treated plants to the mean length of control plants for each test. The mean lengths of the control plants were 149.7 cm in 2004, 79.5 cm in 2009, 110.3 cm in 2010, 174.4 cm in 2011, 118.3 cm in 2012, 102.2 cm in 2013, and 143.7 cm in 2014.

Table 2—6. Comparison of two regression models for the relationship between the leaf stage (LS) at the starting of the low temperature treatment and relative tassel length (RTL) (n = 96).

Model	<i>p</i> -value of the parameter of the explanatory factor(s) (β or β_2)			Coefficient of determination of the regression model	
	linear predictor	parameter	<i>p</i> -value	R^2	<i>p</i> -value
Linear	$\alpha + \beta LS$	β	0.167	0.010	0.167
Quadratic	$\alpha + \beta LS + \beta_2 LS^2$	β β_2	$p < 0.0001$ $p < 0.0001$	0.173	$p < 0.0001$

Models are estimated through the data of 6-LS to 9-LS in Figure 2—5.

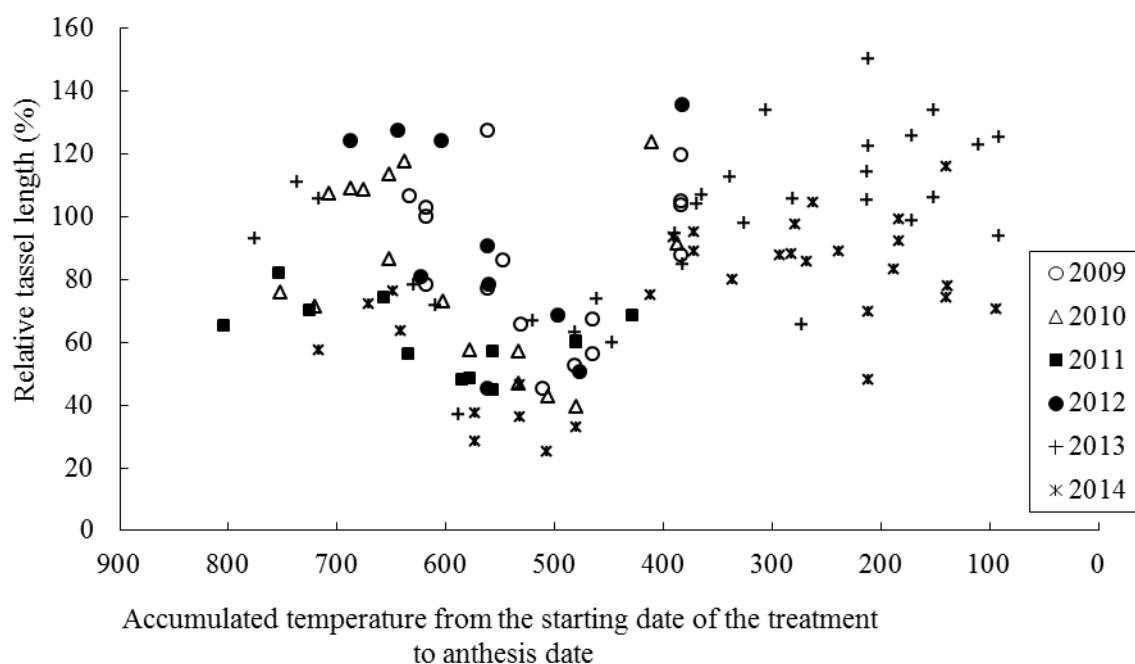


Figure 2—6. Relationship between accumulated temperature from the starting date of the low temperature treatment to date of anthesis and relative tassel length. Relative tassel length was calculated by determining the ratio of the tassel length of treated plants to the mean length of control plants for each test. The mean lengths of the control plants were same as in Figure 2—5.

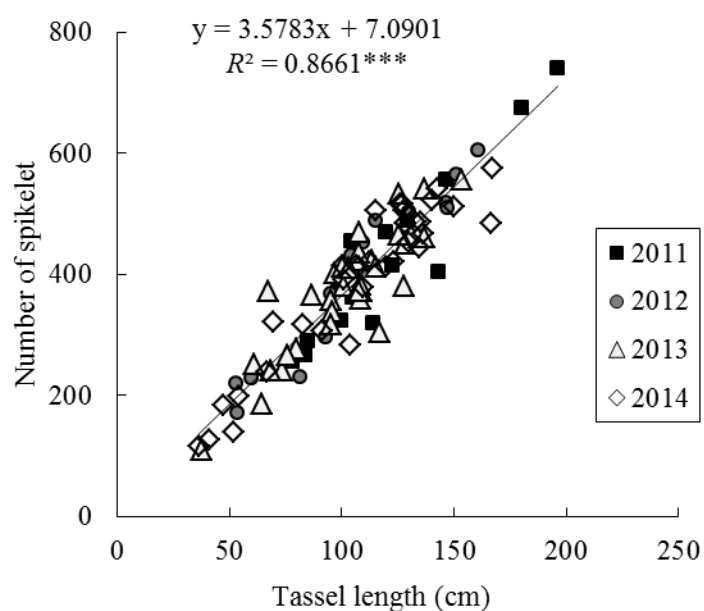


Figure 2—7. Relationship between tassel length (cm) and spikelet number in cultivar '39B29'. *** indicates significance at 0.1% confidence level.

Table 2—7. Effects of the low temperature treatment on the pollen production and ear fertility.

Test year	Treatment	n	Pollen quantity per spikelet ($\times 10^{-4}$)	Pollen fertility (%)	Ear fertility (%)
2013	Control	3	6.7 $\pm$ 3.5 a	100 $\pm$ 0.3 a	86 $\pm$ 4.7 a
	6-leaf stage	3	3.9 $\pm$ 9.7 a	100 $\pm$ 0.0 a	82 $\pm$ 5.9 a
	7-leaf stage	3	3.8 $\pm$ 1.7 a	99 $\pm$ 0.0 a	61 $\pm$ 4.8 a
	8-leaf stage	2	4.5 $\pm$ 16.5 a	97 $\pm$ 2.5 ab	80 $\pm$ 2.2 a
	9-leaf stage	2	2.7 $\pm$ 5.0 a	92 $\pm$ 3.0 b	89 $\pm$ 9.4 a
	10-leaf stage	7	4.8 $\pm$ 3.1 a	96 $\pm$ 0.0 ab	74 $\pm$ 6.4 a
	11-leaf stage	3	4.7 $\pm$ 2.7 a	98 $\pm$ 1.7 a	81 $\pm$ 4.4 a
	12-leaf stage	5	4.4 $\pm$ 6.0 a	99 $\pm$ 0.4 a	81 $\pm$ 4.4 a
	13-leaf stage	5	4.3 $\pm$ 4.8 a	100 $\pm$ 0.2 a	79 $\pm$ 2.2 a
	14-leaf stage	0	nd	nd	nd
2014	Control	3	7.7 $\pm$ 4.4 ab	100 $\pm$ 0.0 a	75 $\pm$ 3.7 ab
	6-leaf stage	3	1.5 $\pm$ 1.0 ab	100 $\pm$ 0.0 a	77 $\pm$ 2.2 ab
	7-leaf stage	3	1.1 $\pm$ 1.0 ab	100 $\pm$ 0.3 a	63 $\pm$ 2.4 b
	8-leaf stage	3	0.2 $\pm$ 0.0 b	100 $\pm$ 0.0 a	75 $\pm$ 2.9 ab
	9-leaf stage	4	1.1 $\pm$ 0.7 b	98 $\pm$ 0.6 a	74 $\pm$ 2.5 ab
	10-leaf stage	4	1.1 $\pm$ 0.8 b	96 $\pm$ 2.3 a	76 $\pm$ 2.9 ab
	11-leaf stage	4	1.6 $\pm$ 0.7 ab	98 $\pm$ 1.2 a	78 $\pm$ 4.2 ab
	12-leaf stage	4	2.2 $\pm$ 0.7 ab	100 $\pm$ 0.0 a	80 $\pm$ 5.6 ab
	13-leaf stage	3	2.8 $\pm$ 2.1 ab	100 $\pm$ 0.0 a	87 $\pm$ 2.7 a
	14-leaf stage	2	9.2 $\pm$ 2.7 a	100 $\pm$ 0.0 a	73 $\pm$ 0.1 ab

Treatment indicates the starting period of the low temperature treatment.

n: number of observation. Pollen quantity per spikelet: pollen quantity index divided by the number of spikelets. Values are the means $\pm$ S.E. Different letters in the same column indicate significantly different at the 5% confidence level by Tukey's HSD test.

Table 2—8. Effects of the low temperature treatment (13 °C for 15 or 21 days) on the flowering characteristics and tassel morphogenesis of cultivar '39B29'.

	Anthesis (DAS)	Silking (DAS)	ASI (d)	Tassel length (cm)	Relative tassel length (%)
Control	63.6 $\pm$ 2.9	64.7 $\pm$ 3.0	-1.1 $\pm$ 0.3	132 $\pm$ 22	(100)
15 days	77.3 $\pm$ 4.0	73.8 $\pm$ 4.5	3.6 $\pm$ 0.6 **	30 $\pm$ 9 **	20 $\pm$ 5.2
21 days	79.6 $\pm$ 3.9 *	76.7 $\pm$ 4.1	2.9 $\pm$ 1.2 *	25 $\pm$ 13 **	22 $\pm$ 13.3

DAS: days after sowing. ASI : anthesis-silking interval. Relative tassel length is determined as the ratio of tassel length to the average of that of control plants. Values are the means $\pm$ S.E. of 3 years. * and ** indicate significantly different from control at 5% and 1% confidence level by Dunnett's test (n = 3), respectively.



Figure 2-8. Tassels of cultivar '39B29' at 8-leaf stage. The ruler in the photos is graduated in millimeters. The length of the tassel central axis was different depending on individual plants.

(3) 考察

品種「39B29」では8葉期の低温が雄穂開花および雄穂形態に影響を及ぼすと考えられた。すなわち、本試験でトウモロコシの6-9葉期に10℃で7日間の低温処理を実施したところ、雄穂開花日が絹糸抽出日より遅れ、ASIが大きくなる傾向がみられた。また、8葉期頃に低温処理された個体で、雄穂長は無処理個体または他の時期に低温処理された個体より短くなる傾向が認められた。低温処理開始時葉期と雄穂長比との関係において、一次回帰モデルは有意とはならず、二次回帰モデルが高度に有意となった (Table 2-6)。このことは、雄穂長比は特定の時期（この場合、8葉期頃）の低温処理により小さくなるということを強く示唆する。

8 葉期に 13 °C で 15 日間または 21 日間処理した結果、雄穂開花日が絹糸抽出日より 3–4 日遅れた (ASI は 3–4 日) (Table 2–8). 無処理個体の雄穂開花日は絹糸抽出日より 1 日早かった (ASI は –1 日) ことを考えると、8 葉期頃の低温処理は雄穂開花を 2003 年の圃場条件に近い水準 (ASI は 7 日) にまで遅らせることが確認された。また、同じ処理では雄穂長は無処理個体の 20% 程度にまで減少し、これは、2003 年の圃場実態 (Figure 2–1) と同程度の雄穂形態異常と考えられた。

8 葉期に植物体を解剖して雄穂の発達段階を観察したところ、部位により小穂は形態的には未発達であった (Figure 2–8). また、雄穂長と雄穂小穂数との間には高度に有意な正の相関関係がみられた (Figure 2–7). これらのことから、8 葉期頃の低温ストレスは発達中の小穂の退化を引き起こすものと考えられた。なお、雄穂長は雄穂開花日までの積算気温で 500–600 °C の時期に低温処理された場合に短くなる傾向がみられたことから (Figure 2–6), 本試験での 8 葉期はこの積算気温の時期と言い換えることができると考えられた。

他の作物でも特定の時期の低温ストレスが生殖生長に影響を及ぼすことが知られている。充実花粉粒の産生に対しては、限られた期間のストレスが大きな効果を持つとされており (Thakur ら 2010, Zinn ら 2010), 例えばイネでは小孢子初期の低温によって充実花粉粒が減少して不稔につながる (Satake ら 1969, Satake 1991), ソルガムでは減数分裂期の低温によって雄性不稔が発生することが知られている (Brooking 1976)。

トウモロコシの 8 葉期が雄穂発達のどの段階であるのかは本試験では明らかにできない。Mock and Frey (1970) は、葉数を指標にすることでトウモロコシの減数分裂期を精度良く推定できるとしているが、葉数何枚目が減数分裂期かは、品種および環境条件によって異なるとしている。Tranel ら (2008) は、総葉数がそれぞれ 20 枚および 17 枚のトウモロコシ自殖系統 2 系統を用いた試験を行い、葯の分化は V7 から V9 (V-stage は、目視できる葉鞘の数 <Ritchie ら 1993>) にかけて始まり、花粉母細胞の減数分裂は V9 から V12 にかけて始まるとした。やや粗雑な試算をすると、総葉数 17 枚の系統の V9 とは総葉数の 50% 以上が展開し

た時期で、総葉数 20 枚の系統の V12 とは総葉数の 60% 近くが展開した時期と推定される。

本試験で供試した「39B29」の総葉数は 14 枚前後であるため、「39B29」では 7.4–8.4 葉期頃に減数分裂期を迎えていた可能性がある。

雄穂開花日に近い 10 葉期以降にも低温処理を実施したところ、小穂あたりの花粉量指数は 8–10 葉期の低温処理により低下する場合があった (Table 2–7)。Tranel ら (2008) は、雄穂小穂は主軸中央部やや下から発達が進み、その後順次枝梗の小穂が発達するとしている。

本試験で小穂あたりの花粉量指数および充実花粉粒率が 10 葉期頃まで低温に感受性を示したことは、雄穂の部位により小穂の発達段階が異なったことによると推察した。

子実稔実率は 7 葉期に低温処理された場合に低下する傾向を示した。トウモロコシ自殖系統では、分化直前の低温により雌穂が分化不全 (abortion) を起こす場合があることが報告されている (Lejeune and Bernier 1996)。この報告は、本試験で 7 葉期の低温処理によって子実稔実率が低下した理由を直接的に説明するものではないが、雌性の発達も低温に対し感受性を持つ場合があることを示している。一方、イネおよびソルガムでは、花粉産生に影響が出るような低温処理を受けた個体でも雌性の稔性には問題がなかったことが報告されている (Hayase ら 1969, Brooking 1976)。さらに、2003 年の圃場条件では雄穂小穂数が減少するなど雄穂に顕著な障害が発生していたことから、2003 年の子実不稔は雌穂に問題があって発生したものではないと推察した。

以上より、2003 年の著しい子実不稔害は、8 葉期頃、すなわち雄穂発達期の著しい低温によって引き起こされる開花特性の変化 (雄性不稔の発生) および雄穂小穂数の減少による充実花粉の飛散量不足が原因であったと考えた。本研究ではこの現象を雄穂発達期の低温感受性に起因する不稔害と呼ぶことにする。

第3章 雄穂発達期の低温感受性に関する品種間差異

第1節 2003年における雄穂形態および開花特性の品種間差異

前章で、北海道根釧地域において2003年に発生したトウモロコシの子実不稔は生育初期(8葉期頃)の低温、低日照により雄穂開花が絹糸抽出期より大きく遅れ、かつ雄穂小穂数が減少したことが原因と考えられた。このような低温障害(雄穂発達期の低温感受性による不稔害)への対応策としてまず考えられるのは、耐冷性が大きい品種(もしくは低温感受性が小さな品種)の利用である。

イネ、ダイズ、アズキ、ソルガムおよびコムギでは、低温による生殖生長の阻害には品種間差異があることが知られている(佐々木・和田 1975, Brookings 1979, Schmid and Keller 1980, Qian ら 1986, 島田 1997, Kurosaki ら 2003, Maulana and Tesso 2013, 青山・島田 2014)。このように多くの作物において生殖生長に対する低温感受性に品種間差異が存在することが知られていることから、トウモロコシ交雑品種でも品種間差異が存在する可能性があると思定された。トウモロコシでは、例えば雄穂抽出前の低水分ストレスにより花粉飛散量が減少する程度(Hall ら 1982)や、雄穂抽出後の雄穂に対する高温処理が花粉稔性に及ぼす影響(Schoper ら 1986)に品種間差異が存在することが知られている。

本節では、トウモロコシ交雑品種において雄穂発達期の低温感受性に品種間差異が存在するかどうかを検討するため、2003年の根釧地域における圃場条件での開花特性、子実稔実程度および雄穂形態の品種間の違いを整理した。さらに、2003年に子実不稔が多発した品種を含む3品種を用い、ポット条件にて2003年の気象条件を模した低温処理試験を行い、低温に対する品種ごとの反応の違いを検討した。

(1) 材料と方法

1) 圃場調査

2003 年に品種「39B29」および「ぱびりか」を対象に、圃場条件での雄穂形態および開花特性を調査した。「ぱびりか」は北農研センター育成のフrint×フrintの 1 代雑種で、「39B29」と同じ RM75 日タイプの極早生品種である（濃沼ら 2007a）。調査場所は、これら 2 品種を栽培していた農家圃場 1 圃場（根釧農試の南約 10 km に位置する。以下、農家圃場とする）および根釧農試場内の品種検定圃場とした。

農家圃場では根室農業改良普及センターの協力のもとで雄穂形態および子実稔実状況を目視観察で記録するとともに、収穫期には収量を調査した。調査地点は圃場中程の生育中庸な地点とし、反復は設けなかった。農家圃場では土壌保温のためビニールマルチが用いられ、播種期は 2003 年 5 月 25 日で、耕種概要は当該農家の慣行法であった。

根釧農試場内の品種検定圃場では「39B29」および「ぱびりか」の雄穂開花期および絹糸抽出期を調査した。当該圃場は 4 畦/区（1 区面積 11.4 m²）の 4 反復乱塊法配置とし、調査地点は各区中央部とした。この圃場では 1 区面積が小さく、かつ熟期（雄穂開花期）が異なる複数の品種が栽培されていたことから、子実稔実状況は調査しなかった。これは、トウモロコシの受粉様式は風媒であり 100 m 程度離れた個体にも交雑するとされている（Luna ら 2001, Beck 2004）ことによる。雄穂開花期、絹糸抽出期および ASI は、第 2 章第 1 節の方法で調査した。この圃場では、2001 年および 2002 年の雄穂開花期と絹糸抽出期のデータも収集した。各年の播種日は 2001 年 5 月 22 日、2002 年 5 月 16 日、2003 年 5 月 16 日で、施肥量は基肥 8-20-6（N-P₂O₅-K₂O, kg/10a）、追肥 4-0-4（N-P₂O₅-K₂O, kg/10a）であった。播種前年秋に堆肥を 40 t/ha すき込んだ。除草その他の管理方法は根釧農試の慣行法とした。

2) ポット試験

2011-2013 年に、根釧農試場内のガラス室および低温室において 2003 年の実際の気温に

近い処理における品種ごとの反応を調査した。供試品種は「ぱぴりか」、「39B29」および「クウィス」とした。「クウィス」はドイツのクラインワンツレーベン育種会社 (KWS) 育成の RM73 日クラスのデント×フリントの 1 代雑種で、早生性および収量性に優れ、冷涼地での栽培によく適すると考えられた (根釧農業試験場 2008) ため本試験に供試した。なお、「クウィス」は 2003 年には生産現場および根釧農試の品種検定圃場では栽培されていなかったため、2003 年の気象条件が開花特性および雄穂形態に及ぼす影響は未知である。

低温処理は第 2 章の結果に基づき、トウモロコシの 8 葉期に実施した。播種日は 2011 年は 5 月 27 日、2012 年は 5 月 22 日 (「39B29」のみ 6 月 1 日)、2013 年は 5 月 14 日 (「クウィス」のみ 6 月 5 日) で、ポットの栽培法は第 2 章のポット試験と同じとした。低温の程度は 13 °C とし、処理期間は 15 日間または 21 日間とした。低温条件下で日射量が十分にあると、それも植物体にとって異常な生育の原因になると考えられたため、低温室では天井および側壁部分に寒冷紗をかけ、低温室中央部における日射強度を寒冷紗がない場合の 30% に減らした。この処理には、低温室内の環境を 2003 年の低温時の日照条件に近づけるという意味もあった。ポットのガラス室と低温室との間の移動は、午前 8 時から 10 時の間に行った。植物体が急な温度変化を受けるのを防ぐため、ポットの移動の途中には風通しのよい日陰の場所 (施設間の通路) に 10 分以上おいた。対照である無処理個体 3 個体は、試験期間を通じてガラス室で栽培した。統計処理は、R (バージョン 2.14.2) を用いて行った。

(2) 結果

1) 圃場調査

農家圃場においては、「39B29」では第 2 章と同様の雄穂小穂の着生不良および子実不稔がみられたが、「ぱぴりか」では雄穂全体に小穂が着生し、子実稔実は良好であった (Figure 3-1)。農家圃場の収穫時の乾雌穂割合は、「39B29」で 26% だったのに対し、「ぱぴりか」では 47% であった (データ未掲載)。

根釧農試の品種検定圃場においては、2003 年の「39B29」の雄穂開花期は絹糸抽出期より 7 日遅れた (ASI は 7) のに対し、「ぱぴりか」の雄穂開花期は絹糸抽出期より 1 日早かった (Table 3-1). 2001 年および 2002 年には、「39B29」の雄穂開花期は絹糸抽出期と同日か 2 日遅かったのに対し、「ぱぴりか」の雄穂開花期は絹糸抽出期と同日か 1 日早かった. 「39B29」と「ぱぴりか」の ASI は、2003 年にのみ統計的に有意に異なっていた.



Figure 3-1. Tassel morphogenesis and ear fertility of cultivar 'Papirika' in a farm field in 2003. Photos were taken at 16 September 2003.

Table 3—1. Flowering characteristics in the test field of the Konsen Agricultural Experiment Station.

Year	Cultivar	Anthesis (DAS)	Silking (DAS)	ASI (d)	<i>p</i> -value
2001	39B29	100	98	2 ± 0.82	0.048
	Papirika	94	94	−1 ± 0.29	
2002	39B29	100	100	0 ± 0.25	0.391
	Papirika	95	95	0 ± 0.00	
2003	39B29	98	91	7 ± 0.41	<0.001
	Papirika	88	89	−1 ± 0.29	

DAS: days after sowing. ASI: anthesis-silking interval; culculated as (date of anthesis) − (date of silking). Values are the means ± S.E. of 4 replications. *P*-value was culculated for ASI by Welch two sample t-test (*n* = 4). The days may contain rounding errors.

Table 3—2. Effects of the low temperature treatment (13 °C for 15 or 21 days) on the flowering characteristics and tassel morphogenesis.

Chilling treatment	Cultivar	Anthesis (DAS)	Silking (DAS)	ASI (d)	Relative tassel length (%)	
Control	39B29	63.6 ± 2.9	64.7 ± 3.0	−1.1 ± 0.3	a	
	Papirika	58.1 ± 2.6	63.7 ± 2.5	−5.6 ± 0.3	b	
	Kwiss	61.6 ± 2.3	62.2 ± 2.4	−0.7 ± 0.2	a	
15 days	39B29	77.3 ± 4.0	73.4 ± 4.5	3.8 ± 0.6	a	20 ± 5.2 ab
	Papirika	68.1 ± 2.7	70.4 ± 2.2	−2.3 ± 0.5	b	71 ± 19.0 a
	Kwiss	65.8 ± 4.9	63.4 ± 4.8	2.9 ± 0.5	a	20 ± 5.8 b
21 days	39B29	79.6 ± 3.9	76.7 ± 4.1	2.9 ± 1.2	a	22 ± 13.3 b
	Papirika	70.8 ± 2.7	75.0 ± 3.2	−3.4 ± 0.5	b	83 ± 17.0 a
	Kwiss	71.4 ± 3.4	67.4 ± 3.7	4.2 ± 0.2	a	12 ± 2.7 b

Data for cultivar ‘39B29’ are same as Table 2—8. DAS: days after sowing. ASI is described in Table 3—1. Relative tassel length is determined as the ratio of tassel length to the average of that of control plants. Values are the means ± S.E. of 3 years. Different letters in the same column indicate significant difference at 5% confidence level by Tukey's HSD test (*n* = 3).

2) ポット試験

8 葉期に 13 °C で 15 日間または 21 日間処理した結果, 「39B29」では雄穂開花日が絹糸抽出日より 3—4 日遅れ, 雄穂長は無処理個体の 20%程度にまで短くなった (Table 3—2). 同じ処理で, 「ぱぴりか」では雄穂開花の遅れは観察されず (ASI は負の値), 雄穂長は無処理個

体の 70–80%程度を保っていた。「クウイス」では、処理により雄穂開花日が絹糸抽出日より 3–4 日遅れ、ASI は他の 2 品種より大きくなり、雄穂長は無処理個体の 10–20%にまで減少した。

(3) 考察

2003 年の農家圃場では、「39B29」では雄穂小穂の着生不良がみられ、また歯抜け状の子実不稔がみられたのに対し、「ぱびりか」では雄穂形態に異常はなく、子実稔実状況は良好であった (Figure 3–1)。根釧農試場内では、「39B29」で雄穂開花期が絹糸抽出期より大きく遅れたのに対し、「ぱびりか」ではそのような開花特性の変化は発生しなかった (Table 3–1)。2003 年当時におけるこれら 2 品種の調査データ数は限られているものの、「ぱびりか」は農家圃場、農試場内ともに雄穂の発達に関する異常（雄穂開花の遅れまたは小穂の着生不良）を示さなかったことから、「ぱびりか」は 2003 年の気象条件下でも雄穂発達に異常が起これにくい品種であると考えられた。

ポット条件で 2003 年の気象推移 (Figure 2–2) を模した処理 (13 °C で 15 日または 21 日) を 8 葉期に実施したところ、「ぱびりか」では雄穂開花期と絹糸抽出期のずれは発生せず、また雄穂長の減少もみられなかった。同じ処理を施した「39B29」および「クウイス」では ASI の増大および雄穂長の減少がみられたことから、「ぱびりか」は 8 葉期の低温に対し感受性が小さいといえた。「クウイス」は「39B29」と同じく、8 葉期の低温に対し感受性が大きいと考えられた。

ただし、ここで処理を実施したのは第 2 章で示した「39B29」における低温感受性が高い時期 (8 葉期) のみであった。「ぱびりか」の最大葉数は 12–13 枚で他の 2 品種の 14–15 枚と比べると少なく (データ未掲載)、また「ぱびりか」の雄穂開花期は他の 2 品種よりやや早かったことから、8 葉期における雄穂の発達段階は品種によって異なることが想定された。トウモロコシの雄穂は全ての葉が分化し終えてから分化する (Bonnett 1948, Irish and Nelson

1991) ため、品種ごとの最大葉数の差は、雄穂発達の遅速に結びつくと考えられる。つまり、「ぱぴりか」の低温感受性が最も高い時期は 8 葉期とは限らず、本節の試験だけをもって、「ぱぴりか」は「39B29」および「クウィス」より低温感受性が小さいとはいえない。この問題に対応するためには、8 葉期以外の時期を含む複数の時期に低温処理を行う必要がある。

将来、より多くの品種で雄穂発達期の低温感受性について調査を行う場合、1 時期だけに低温処理を施しても低温感受性の品種間差異は明らかにできないと考えられる。複数時期の低温処理が必要であるが、より多くの品種を用いた複数時期の低温処理を、15 日間あるいは 21 日間といった長期間行うことは低温室の規模その他の制約を受け、現実的ではない。このため、品種ごとの雄穂発達期の低温感受性をより短期間の処理で検出できる手法の開発が求められる。

第 2 節 品種間差異の検出法

前節では、低温感受性の品種間差異を正確に評価するためには複数の時期に低温処理を行う必要があるとした。2003 年には、6 月下旬から 7 月下旬にかけて日平均気温が 13 °C 前後にとどまる日が続いていたが、このような気象条件を人工的に再現しようとするれば、低温室のような施設を長期間稼働させる必要がある。低温室を多くの品種のために複数の時期、かつおのおの長期間にわたって稼働させることは、施設の規模や試験労力の点から問題が多い。トウモロコシは出穂後の稈長が 2–3 m になる大型の作物であるため、試験で用いるポットは 1/2000 a ワグネルポットかそれ以上の大きさとなる。低温処理期間を 15 日間とすると、このような大きさのポットを多数収容できる低温室を用意する必要がある。

イネでは小孢子初期に 12 °C で 4 日間低温処理を行うことで相当程度の不稔を発生させられることが明らかとなっており (Satake ら 1969)、この条件の試験により低温に最も感受性が高い時期を明らかにするなど (Hayase ら 1969, Satake and Hayase 1970)、穂ばらみ期の

耐冷性を効率的に評価する技術が確立している．アズキでは，開花期以降に 15/10 °C（昼/夜）で 10 日間処理し，開花数および処理終了後 10－13 日後に開花した花の着莢数を調査することで品種の「開花着莢障害耐冷性」を評価する手法が提案されている（青山・島田 2014）．

トウモロコシの雄穂発達期の低温感受性についても，模式的な低温処理により品種間差異を検定できる可能性がある．

本節では，15 日間または 21 日間より短い期間での処理でも 2003 年に圃場条件でみられた品種間の雄穂形態および開花特性の差異が検出できるのか検討した．

（1）材料と方法

試験は 2011－2014 年に行い，供試品種は「39B29」，「ぱびりか」および「クウイス」とした．1/2000 a ワグネルポットを用いたポット試験とし，根釧農試場内のガラス室および低温室で実施した．ポットの栽培条件は第 2 章第 2 節と同じとした．播種は 2011 年 5 月 27 日，2012 年 5 月 22 日（「39B29」のみ 6 月 1 日），2013 年 5 月 14 日（「クウイス」のみ 6 月 5 日），2014 年 5 月 28 日（「39B29」のみ 6 月 5 日）に行った．各ポットにつき 2－3 粒播きし，発芽後 14－18 日目に間引きして 1 本立てとした．ガラス室内の気温は外気温および日照時間に応じて変化したが，20 °C 以上になるように管理した．灌水は適時に適量行い，生育中の個体が干ばつ状態にならないように留意した．

低温処理は，Bechoux ら（2000）を参考に 10 °C で 7 日間とし，6－9 葉期（2011 年および 2012 年）または 6 葉期から開花直前（2013 年および 2014 年）に実施した．各年とも，6－9 葉期の間は 1 葉増加する都度，その葉期に処理することをあらかじめ割り付けておいた 3 個体を 10 °C（昼夜）に設定した低温室に移動させた．9 葉期以降は 2，3 日おきに，あらかじめ割り付けておいた 3 個体を 10 °C に設定した低温室に移動させた．低温室には寒冷紗を天井および壁面に設置し，寒冷紗のない場合に比べ日射強度を 30% 程度に減じた．葉期の数え方は第 2 章第 2 節と同じとした．低温室への搬入および搬出は午前 8 時から 10 時の間に行い，

移動の途中では植物体が急激な環境変化を受けないよう日陰の風通しのよい場所（施設間の通路）に 10 分以上置いた．処理後の個体は元のガラス室に戻して生育させた．対照の無処理個体（各品種 3 個体）は生育期間中を通してガラス室内にて生育させた．

雄穂形態および花粉量の調査方法は第 2 章第 2 節と同じとした．概略を述べると，開花終期に個体ごとに雄穂を採取し，雄穂長および小穂数を計測した．雄穂長の実数は品種によって異なったため，雄穂長比を算出した．花粉量の調査は 2013 年と 2014 年に行った．ただし，「ぱぴりか」では雄穂が抽出しきる前に（止葉の中になかば包まれた状態で）開花が始まったため，花粉を全量回収できなかった．しかし，「ぱぴりか」のこの開花の特徴は全処理でみられたほか「ぱぴりか」の花粉量は他品種に比べ多い傾向があったので，多少のロスがあったとしても処理の効果は評価できると考えられた．なお，「ぱぴりか」で雄穂が完全に抽出する前に開花するという現象は圃場条件ではみられず，ガラス室内特有の生育様式と考えられた．回収した花粉について，第 2 章第 2 節と同じ方法で花粉量指数および充実花粉粒率を測定した．

統計解析は，R（バージョン 2.14.2）を用いて行った．低温処理開始時葉期が各調査形質に及ぼす効果を検討するにあたり，分散分析を行った．分散分析にあたり，各年の低温処理開始時葉期間の検定では各低温処理開始時葉期に属する個体を分散源とし，4 カ年の平均値間の検定では試験年次を分散源とした．分散分析の結果，有意性が認められた場合には，TukeyHSD 法（危険率 5%）による多重比較を行った．対照（無処理個体）との対比を行う場合には，Dunnett の方法を用いて多重比較を行った．

(2) 結果

10 °C で 7 日間低温処理した結果，全ての品種で雄穂開花日および絹糸抽出日が無処理個体より遅くなったが，その遅れの程度は雄穂開花日の方が絹糸抽出日より大きい傾向であった．特に 8 葉期頃に低温処理された「39B29」および「クウィス」では，雄穂開花が絹糸抽出より

遅れる程度が大きく，ASI が大きくなりがちであった（Table 3-3）。「ぱぴりか」では，6-9 葉期のいずれの時期に低温処理を受けた個体であっても雄穂開花日は絹糸抽出日より早く，ASI は負の値となった．なお，供試 3 品種とも，無処理個体では雄穂開花日は絹糸抽出日より早かった（ASI は負の値であった）．

Table 3-3. Effects of the low temperature treatment (10 °C for 7 days) on the anthesis-silking interval (ASI) of the three cultivars in four year tests.

Cultivar	Treatment	Test year				Average
		2011	2012	2013	2014	
39B29	Control	-0.7 a	-1.7 ab	-1.0 a	0.7 abc	-0.7 a
	6-leaf stage	0.0 a	-4.5 b	-0.7 a	0.0 abc	-1.3 a
	7-leaf stage	0.0 a	-1.0 a	0.0 a	0.3 abc	-0.2 a
	8-leaf stage	0.0 a	0.0 a	1.0 a	2.0 b	0.8 a
	9-leaf stage	-0.3 a	1.3 a	1.3 a	-0.7 c	-1.2 a
Papirika	Control	-5.7 b	-6.0 b	-5.0 a	-4.0 a	-5.2 a
	6-leaf stage	-3.3 a	-4.0 a	-4.5 a	-5.0 a	-4.2 a
	7-leaf stage	-3.7 ab	-3.3 a	-4.8 a	-4.3 a	-4.0 a
	8-leaf stage	-3.0 a	-2.8 a	-3.7 a	-4.7 a	-3.6 a
	9-leaf stage	-3.8 ab	-4.5 ab	-5.0 a	-3.7 a	-4.3 a
Kwiss	Control	-0.3 a	-1.0 a	-0.7 b	-0.3 a	-0.6 b
	6-leaf stage	0.3 a	0.3 a	-0.5 b	0.0 a	0.0 ab
	7-leaf stage	0.5 a	0.0 a	1.6 b	0.8 a	0.7 ab
	8-leaf stage	1.0 a	1.0 a	5.5 a	0.8 a	2.1 a
	9-leaf stage	0.7 a	0.0 a	0.0 b	0.7 a	0.3 ab

Treatment indicates the leaf stage at the start of the treatment. ASI is calculated as: (date of anthesis) - (date of silking). Different letters in the same column indicate significant difference at 5% confidence level by Tukey's HSD test. Source of variances are individual plant for the analysis for each year and test year for the analysis for the average.

低温処理開始時の葉期が雄穂長に及ぼす影響を Figure 3-2 に示した．「39B29」では，6 葉期から 9 葉期の処理で無処理個体より雄穂長が短くなる傾向がみられ，7-8 葉期頃の処理で最低値を示した．「ぱぴりか」は 6 葉期から 9 葉期の処理で雄穂長が短くなる傾向を示したものの，特定の葉期の低温処理で雄穂長が特に短くなるということとはなかった．「クウィス」は「39B29」と同様の反応を示したが，8 葉期の処理で雄穂長が無処理個体の 20%以下となる

年が多かった。試験年次別にみると、2012 年の試験では低温処理開始時の葉期と雄穂長との関係がやや不明瞭であったが、2011 年、2013 年および 2014 年の試験では上述の傾向が共通してみられた。9 葉期以降の処理による雄穂長比は、ばらつきが大きかったものの、各年、各品種とも 100%前後に分布した。

そこで、6–9 葉期に低温処理された個体を対象に、雄穂長に関し低温処理開始時の葉期を処理水準とし年次を反復とした分散分析を行ったところ、「39B29」では 7 葉期および 8 葉期の低温処理で雄穂長は無処理個体より有意に短くなり、その他の葉期の処理では無処理個体との間に有意な差異は認められなかった (Table 3–4)。「ぱぴりか」ではいずれの葉期の低温処理でも雄穂長は無処理個体と有意に異ならなかった。「クウイス」では、8 葉期の低温処理で雄穂長は無処理個体に対し有意に短くなり、その他の葉期の処理では無処理個体との間に有意な差異は認められなかった。

Table 3–5 に、低温処理開始時葉期ごと・品種ごとの雄穂長比を比較した結果を示した。6 葉期の低温処理では、3 品種とも雄穂長比は 80–90%であった。7 葉期の低温処理では、「39B29」および「クウイス」の雄穂長比は 60%程度となったのに対し、「ぱぴりか」では 80%程度を維持した。8 葉期の低温処理では、「クウイス」の雄穂長比は 32%にまで低下し、「ぱぴりか」の 81%に対し有意に小さく、「39B29」は 54%と、「ぱぴりか」と「クウイス」の中間的な値となった。9 葉期の低温処理では、「39B29」および「クウイス」の雄穂長比は 70–80%程度となり、「ぱぴりか」では 100%程度となった。処理開始時葉期を問わず各品種の雄穂長比の最低値を検索したところ、「39B29」は 8 葉期の低温処理による 60%弱、「ぱぴりか」は 7 葉期の低温処理による 80%弱、「クウイス」は 8 葉期の低温処理による 30%強であった。品種ごとに雄穂長比の最低値について分散分析を行ったところ、「ぱぴりか」の雄穂長比の最低値は「クウイス」のそれより有意に大きく、「39B29」の雄穂長比最低値はいずれの品種とも有意差はみられなかった（「ぱぴりか」と「クウイス」の中間程度となった）。

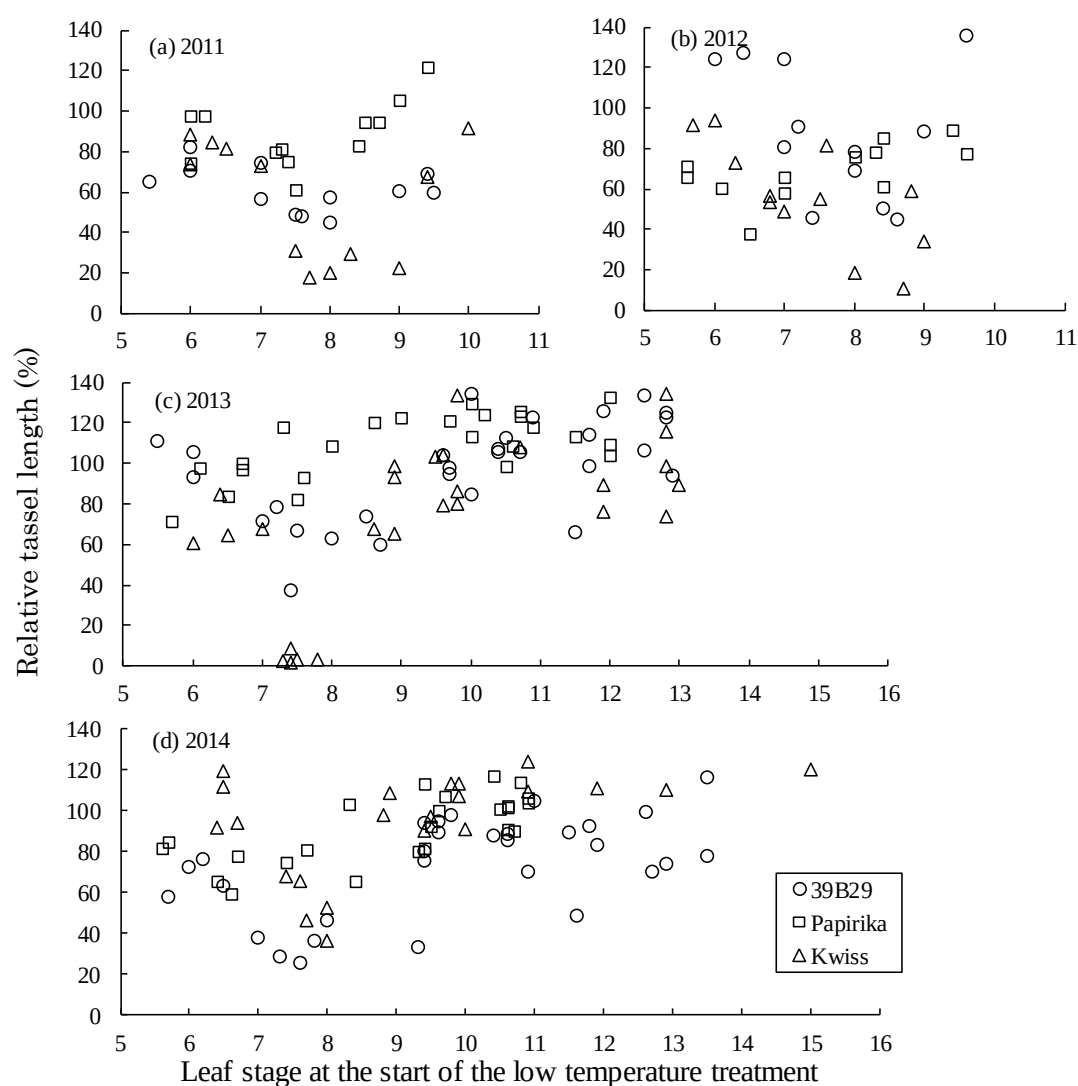


Figure 3—2. Effects of the leaf stage at the start of the low temperature treatment on relative tassel length (RTL). ○; '39B29', □; 'Papirika', △; 'Kwiss'. RTL was calculated by determining the ratio of the tassel length of treated plants to the mean tassel length in control plants. The mean lengths in the control plants in 2011, 2012, 2013 and 2014 were: 174.4, 118.3, 102.1 and 143.7 cm in '39B29', 220.7, 198.7, 271.4 and 228.9 cm in 'Papirika', and 140.8, 114.8, 100.2 and 110.7 cm in 'Kwiss'.

Table 3—4. Total tassel length (cm) among the leaf stage at the start of the low temperature treatment.

Cultivar	Treatment	Tassel length (cm)	<i>p</i> -value for comparison to the control
39B29	Control	135	
	6-leaf stage	120	0.762
	7-leaf stage	85	0.024
	8-leaf stage	71	0.004
	9-leaf stage	99	0.128
Papirika	Control	217	
	6-leaf stage	173	0.242
	7-leaf stage	166	0.146
	8-leaf stage	177	0.306
	9-leaf stage	224	0.995
Kwiss	Control	117	
	6-leaf stage	97	0.690
	7-leaf stage	77	0.154
	8-leaf stage	38	0.003
	9-leaf stage	79	0.189

Data are the average of 4 test years. *P*-value for comparison to control is adjusted by Dunnett's test ($n = 4$).

Table 3—5. Relative tassel length (RTL) in the plants treated at 10 °C for 7d starting at different leaf stages (LS).

Treatment	Cultivar	Relative tassel length (%)		1)
6-leaf stage	39B29	93	a	
	Papirika	79	a	
	Kwiss	83	a	
7-leaf stage	39B29	64	a	
	Papirika	76	a	a
	Kwiss	64	a	
8-leaf stage	39B29	54	ab	ab
	Papirika	81	a	
	Kwiss	32	b	b
9-leaf stage	39B29	76	a	
	Papirika	103	a	
	Kwiss	69	a	

The same letter in the same column indicates not significantly different ($p > 0.05$) with Tukey's HSD test ($n = 4$). ¹⁾: comparison between the lowest values of each cultivar.

Table 3-6 に、7 葉期および 8 葉期に調査した雄穂主軸長を示した。雄穂主軸長は試験年によるばらつきがみられたが、「39B29」および「クウィス」では 7 葉期に 5-10 mm 程度、8 葉期には 30-40 mm 程度であった。「ぱびりか」では 7 葉期に 40 mm 程度、8 葉期には 130 mm 程度であった。「39B29」および「クウィス」の 8 葉期の雄穂主軸長は、「ぱびりか」の 7 葉期の雄穂主軸長と統計的に有意に異ならなかった。

Figure 3-3 に、低温処理が花粉産生に及ぼす影響を示した。小穂あたりの花粉量指数は、「39B29」では 2 カ年の調査のうち 1 カ年には特段の傾向はみられなかったが、他の 1 カ年には、8 葉期に低温処理が開始された個体で他の葉期に低温処理が開始された個体に比べて値が小さくなる傾向がみられた。「ぱびりか」では、9 葉期に低温処理が開始された個体で他の葉期に低温処理が開始された個体に比べて小穂あたりの花粉量指数が小さくなる傾向がみられたが、低温処理開始時葉期間に有意差は認められなかった。「クウィス」では、8 葉期に低温処理が開始された個体で他の時期に低温処理が開始された個体に比べて小穂当たりの花粉量指数は小さくなったが、低温処理開始時葉期間に有意差は認められなかった。充実花粉粒率は、供試した 3 品種ともに 8-10 葉期に低温処理が開始された個体で無処理個体または他の時期に低温処理された個体より値が小さくなる傾向で、特に 9 葉期に低温処理が開始された個体で他の葉期に低温処理が開始された個体より値が小さくなる場合があった。

Table 3-6. The length of the tassel central axis (mm) at 7- and 8-leaf stage (LS).

Cultivar	Leaf stage	Test year				mean	
		2010	2011	2012	2014		
39B29	7	5	15	9	6	9	c
	8	22	28	54	14	29	bc
Papirika	7	20	52	49	22	36	bc
	8	123	162	120	98	126	a
Kwiss	7	3	7	9	6	6	c
	8	44	43	48	43	44	b

Two to three plants were dissected at each LS and test year. Different letters indicate significantly different ($p < 0.05$) with Tukey's HSD test ($n = 4$).

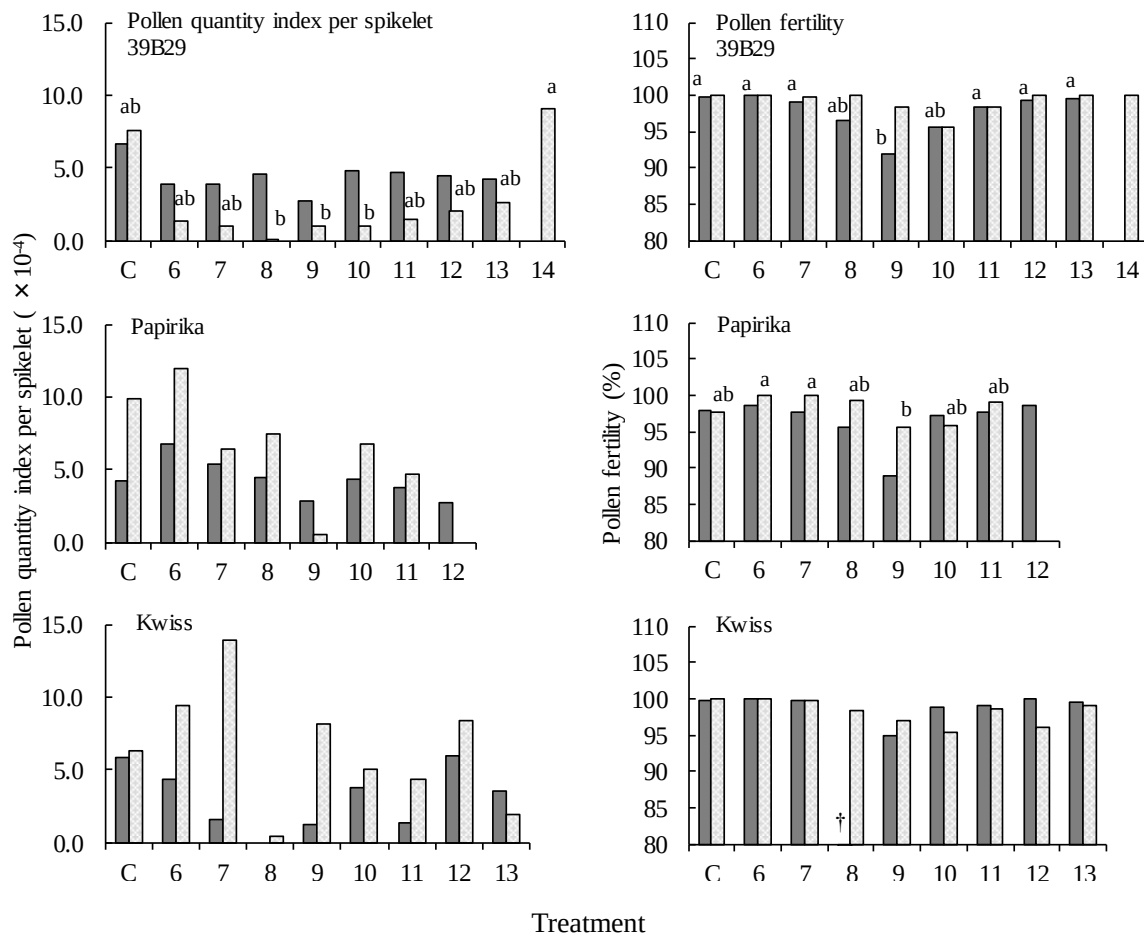


Figure 3-3. Effect of low temperature treatment on the pollen quantity index per spikelet and pollen fertility among cultivars. Color of bars indicates the test year (dark, 2013, pale, 2014). Treatment means the leaf stage (LS) at the start of the low temperature treatment (C: control). Number of observations varies among observed traits and treatment, because the actual LS at the start of the treatment differs, or pollen collection is insufficient, or pollen fertility cannot be recorded due to insufficient pollen collection (†). Same letters above bars for each year are not different at the 5% confidence level by Tukey's HSD test. Bars without letters above did not differ significantly among the treatments.

(3) 考察

1) 短期間の低温処理による品種間差異の検出

10 °Cで7日間の低温処理の結果、「39B29」では8葉期に処理された場合に雄穂開花日が絹糸抽出日より遅れる傾向がみられ、「ぱぴりか」ではいずれの葉期に処理されても雄穂開花日は絹糸抽出日より早かった。こうした品種ごとの反応は、前節で示した2003年の圃場条件下における品種ごとの開花特性 (Table 3-1) と合致していた。また、雄穂長は、「39B29」で

は 8 葉期頃に処理された場合に無処理個体や他の時期に処理された場合より短くなる傾向がみられ、「ぱぴりか」ではいずれの時期に処理された場合でも無処理個体に比べて特に短くなることはなかった (Figure 3-2, Table 3-4). これも, 2003 年の圃場条件下における品種ごとの雄穂形態の特徴と合致していた. これらのことから, 10 °C で 7 日間処理することによって, 自然発生時の品種ごとの特徴を再現できるものと考えられた.

2) 低温感受性の品種間差異

前節で, 「ぱぴりか」の低温感受性が最も大きい時期は, 8 葉期以外である可能性が高いとした. 本試験で 7 葉期および 8 葉期にトウモロコシを解剖して雄穂主軸長を計測したところ, 「ぱぴりか」の 7 葉期の雄穂主軸長は「39B29」および「クウイス」の 8 葉期の雄穂主軸長と同程度で, 分散分析では互いに有意に異なることが示された (Table 3-6). 雄穂の発達は雄穂主軸長の増大とあいまって進むとされていることから (Bonnett 1948), 「ぱぴりか」は 7 葉期に「39B29」または「クウイス」の 8 葉期と同様の雄穂発達段階にあったと推察した. また, 「ぱぴりか」の 7 葉期は, 雄穂開花日前の積算気温で表すと約 570 °C であり (データ省略), 前節で示した「39B29」の低温感受性が高い時期 (500–600 °C) の範囲内にあった.

しかし, 「ぱぴりか」は 7 葉期を含むいずれの葉期の低温処理によっても雄穂開花日は絹糸抽出日より遅れず, 雄穂長は無処理個体とは有意に異ならなかった. よって, 「ぱぴりか」は雄穂発達期の低温感受性が小さい品種であると推定された. また, 「ぱぴりか」の感受性の小ささは, 雄穂発達期の低温に対し回避的にふるまう (生殖生長のステージが他の品種と大きく異なる) ことで発揮されるのではなく, 遺伝的, 生理的に発揮されているものと考えられた.

「39B29」は, 第 2 章で示したとおり雄穂発達期の低温感受性は大きい. 「クウイス」は 2003 年には栽培されておらず, 2003 年の気象条件下での開花特性または雄穂形態は不明であるが, 8 葉期における 13 °C での 15 日間ないし 21 日間の処理 (前節参照) および同時期における

10℃での7日間の処理により雄穂開花日は絹糸抽出日より遅れる傾向があり、また、これらの処理によって雄穂長が無処理個体に比べ顕著に短くなったことから、雄穂発達期の低温感受性は「39B29」と同様に大きいものと推察した。

小穂あたりの花粉量指数および充実花粉粒率は、供試3品種ともに8-10葉期頃の低温処理により低下する傾向がみられた(Figure 3-3)。雄穂発達期の低温感受性が小さいと考えられる「ぱぴりか」でも充実花粉粒数が減るおそれがあることになるが、「ぱぴりか」は低温条件に遭遇しても小穂数が減らず、花粉産生量が非常に多い(小穂あたりの花粉量指数が他の2品種より大きい)品種であるため、2003年のような気象推移の年であっても花粉飛散量が十分に確保され、不稔が発生しなかったものと推察した。

3) 品種ごとの低温感受性の推定法

品種ごとの雄穂発達期の低温感受性の違いは、6-9葉期に10℃で7日間処理した際の雄穂長の変化によく表れた。すなわち、2003年に子実不稔、雄穂形態の異常および開花特性の異常が観察されなかった「ぱぴりか」は、この間のいずれの葉期の低温処理によっても雄穂長は無処理個体の80%以上を概ね維持したのに対し、2003年に雄穂形態の異常、開花特性の異常および子実不稔が多発した「39B29」では、8葉期の処理により雄穂長が無処理個体の60%程度となった(Table 3-5)。また、8葉期における13℃で15日間または21日間の処理でASIが「39B29」以上に増大し、かつ雄穂長が無処理個体の10-20%程度にまで減少した「クウィス」では、同時期における10℃で7日間の処理により雄穂長は無処理個体の30%程度となった。

これらのことから、品種ごとの雄穂発達期の低温感受性の推定にあたっては、6-9葉期にかけて1葉期ごとに10℃で7日間処理し、その結果、いずれの葉期の低温処理でも雄穂長が無処理個体平均の80%以下とならない品種は雄穂発達期の低温に対する感受性が小さいとみなせ、同60%かそれ以下になる品種は感受性が大きい品種とみなせると考えた。

ただし、今後供試する品種が全て、6-9 葉期の間に低温感受性が最も高い時期を迎えるとは限らない。本試験で供試したのは、総葉数が 12-15 枚で熟期が RM73-75 日クラスの品種である。総葉数がより多い品種や、熟期がより遅い品種の低温感受性を推定する場合には、雄穂主軸長（40 mm 前後）または処理開始日から開花までの積算気温（500-600 °C）から、処理を行うべき時期を決定すべきと考えられる。

なお、2012 年のように処理の効果が不明瞭となる年には、ポット栽培個体の生育が攪乱される何らかの環境条件（例えば外気温が極端に低下または上昇してガラス室内の気温が 20 °C を下回るまたは 32 °C を上回るなど）が発生していたことが疑われる。今後こうした攪乱の発生要因が特定され、抑止できるようになるまでは、低温感受性の推定試験は複数年行うべきと考えられる。

本試験では「ぱぴりか」の無処理個体の絹糸抽出日が雄穂開花日に比べ相当遅れた（ASI が -5 前後となった）。「ぱぴりか」は圃場条件では絹糸抽出期は雄穂開花期より数日遅いに留まる（例年の ASI は -2 日）（根釧農業試験場 2015）。ポット条件で絹糸抽出期が異常に遅れた原因は明確ではないものの、「ぱぴりか」は本試験の環境条件に内在する何らかのストレスにより雌穂の発達に影響を受けやすい品種であった可能性がある。想定される要因の 1 つとして、ガラス室内の気温は晴天の日中には 35 °C を超える場合があったこと（データ未掲載）があげられる。Cicchino ら（2010）は、絹糸抽出期直前に 35 °C 程度の高温ストレスにさらされると、遺伝子型によっては絹糸抽出期が遅れることを報告している。Duvick（2005）は、古い品種は新しい品種に比べて高密度播種または干ばつなどの環境ストレスにより絹糸抽出期が遅れやすいと述べている。「ぱぴりか」は、片親に用いられている自殖系統が古い北海道在来種に由来しているため（濃沼ら 2007c）、遺伝的にはやや古い品種だった可能性がある。これらのことから、本試験の供試品種中「ぱぴりか」で絹糸抽出期が大きく遅れたのは、高温ストレスに対する反応の品種間差の表れである可能性が高い。その他、ポット栽培ならではの生育阻害要因（例えば根張りの制限または徒長のしやすさ）が原因となった可能性は

残されている．今後同様の試験を行う際にはガラス室の室温が 20 °Cを下回らない，または 35 °C以上に上昇しないようにするなど，処理外の環境ストレスが発生しないよう生育環境条件に注意をはらうことが重要と考えられる．

第4章 雄穂発達期の低温感受性に関する遺伝的改良

第1節 寒冷地向け既存品種の比較

第3章で雄穂発達期の低温感受性には品種間差異があることを示したが、これまでの試験では、低温感受性が小さいと推定された品種は「ぱびりか」のみであった。トウモロコシでは育種による収量性および耐病性等の向上が著しく、普及品種の置き換わりが頻繁に起こる。特に、近年栽培が広まっている寒冷地向けの品種群では、早生性の改良が優先されたためか、すす紋病 (*Setosphaeria turcica* (Luttrell) Leonard et Suggs) や根腐病 (*Pythium graminicola* Subramanian) に対する抵抗性が不十分な場合があり、抵抗性品種の開発などにより普及品種の置き換わりが速い。「ぱびりか」は収量性その他の特性に優れたことから2005年に北海道優良品種に登録されたが、その後赤かび病 (*Gibberella zeae* (Schweinitz) Petch) に罹病しやすいという栽培上重大な欠点が明らかとなり、2010年に北海道優良品種の登録を廃止された (北海道農政部生産振興局畜産振興課 2015)。

寒冷地でのトウモロコシ栽培を安定的に継続させるためには、雄穂発達期の低温感受性が小さい品種を数多く開発し、利用していくことが重要と考えられる。そのため、本節では既存品種の雄穂発達期の低温感受性を推定し、低温感受性の小ささはどのような遺伝的背景に基づくのか考察した。

(1) 材料と方法

供試品種はいずれも RM75–80 日クラスの「ぱびりか」、「39B29」、「クウィス」、「デュカス」、「たちびりか」、「LG3215」および「ソリード (Anjou227)」とした。試験は2010、2011、2012および2014年に行った (年によって供試品種は異なる)。「デュカス」はドイツのKWS社育成のRM80日クラスの品種である (吉田ら 2006)。「たちびりか」は北農研センターが育成したRM75–80日クラスの品種である (濃沼ら 2012a)。「LG3215」および「ソリード (Anjou227)」

はフランスのリマグレイン社が育成した RM75 日クラスの品種である（佐藤ら 2007, 戸荻ら 2013）。雄穂発達期の低温感受性を第 2 章第 2 節の方法により推定した。概略を記述すると、1/2000 a ワグネルポットを用い、20 °C 以上になるよう設定したガラス室で生育させ、6–9 葉期にかけて 1 葉期進むごとにあらかじめその時期に処理を開始するよう割り付けておいた 3 個体を 10 °C に設定した低温室に移動した。低温処理は 7 日間とし、処理後の個体は元のガラス室で生育させた。

各品種 2 カ年以上試験し（「デュカス」および「ソリード (Anjou227)」は 1 カ年のみ試験）、第 3 章第 2 節の基準（雄穂長の無処理個体平均比が 80% 以上の品種を感受性小、60% 以下となる品種を感受性大と評価）に従って雄穂発達期の低温感受性を推定した。各供試品種の構成親の遺伝的特徴は、各品種に付した引用文献から収集した。統計処理は、R (バージョン 2.14.2) を用いて行った。

(2) 結果

Table 4–1 に、低温処理個体の雄穂長および雄穂長比を示した。「ぱぴりか」、「39B29」および「クウイス」は、第 3 章第 2 節と同様の結果となった。「デュカス」は 1 カ年のみの供試であるが 7 葉期および 8 葉期の低温処理で雄穂長は無処理個体より顕著に短くなり、雄穂長比は「クウイス」並かそれ以下の値にまで小さくなった。「たちぴりか」および「LG3215」は 7 葉期または 8 葉期の低温処理で雄穂長は無処理個体に比べやや短くなる場合があったが、雄穂長比の最低値は「ぱぴりか」よりやや小さい程度 (70% 弱) であった。「ソリード (Anjou227)」は 1 カ年のみの供試であるが 8 葉期の低温処理で雄穂長は無処理個体の 50% 台にまで減少した。これらの結果から、「39B29」、「クウイス」、「デュカス」および「ソリード (Anjou227)」は雄穂発達期の低温感受性が大きく、「ぱぴりか」、「たちぴりか」および「LG3215」は雄穂発達期の低温感受性が小さいと考えられた (Table 4–2)。

低温感受性が大きいと推定された 4 品種では、構成親にデント種の自殖系統が使われている

た (Table 4-2). 一方, 低温感受性が小さいと推定された「ぱぴりか」, 「たちぴりか」および「LG3215」はフリント種自殖系統同士の交雑品種であった.

Table 4-1. Tassel length (TL, cm) and relative tassel length (RTL, %) of commercial cultivars treated at 10 °C for 7 days at various leaf stages.

Test year	Treatment group	Cultivar							
		39B29		Papirika		Kwiss		Ducas	
		TL	RTL	TL	RTL	TL	RTL	TL	RTL
2010	Control	110		237		122		120	
	6-LS	100 ns	91	182 ns	77	70 ns	57	90 ns	75
	7-LS	118 ns	107	203 ns	86	60 ns	49	35 ***	30
	8-LS	65 +	59	243 ns	103	69 **	57	36 ***	30
	9-LS	82 ns	74	243 ns	102	47 **	39	104 ns	87
2011	Control	174		221		141		nt	
	6-LS	126 *	72	198 ns	90	115 ns	82	nt	
	7-LS	114 **	65	174 ns	79	108 ns	77	nt	
	8-LS	87 ***	50	159 +	72	34 ***	24	nt	
	9-LS	110 **	63	230 ns	104	85 *	60	nt	
2012	Control	118		199		115		nt	
	6-LS	149 ns	126	131 **	66	99 ns	86	nt	
	7-LS	101 ns	85	107 ***	54	61 +	53	nt	
	8-LS	78 ns	66	149 *	75	59 *	52	nt	
	9-LS	106 ns	90	165 ns	83	40 **	35	nt	
2014	Control	144		229		111		nt	
	6-LS	99 ns	69	177 ns	77	101 ns	91	nt	
	7-LS	62 *	43	162 +	71	109 ns	98	nt	
	8-LS	52 **	36	190 ns	83	55 **	50	nt	
	9-LS	97 ns	67	234 ns	102	105 ns	95	nt	
Average	Control	137		221		122		120	
	6-LS	118 ns	87	172 ns	78	96 ns	79	90 ns	75
	7-LS	99 +	72	161 ns	73	85 ns	69	35 ***	30
	8-LS	70 **	51	185 ns	84	55 ns	45	36 ***	30
	9-LS	99 +	72	218 ns	98	69 ns	57	104 ns	87

Continue to the next page.

Table 4—1. (Continued).

Test year	Treatment group	Tachipirika		LG3215		Anjou227	
		TL	RTL	TL	RTL	TL	RTL
2010	Control	153		133		nt	
	6-LS	125 ns	82	121 ns	92	nt	
	7-LS	108 +	71	87 *	65	nt	
	8-LS	108 +	71	102 ns	77	nt	
	9-LS	136 ns	89	142 ns	107	nt	
2011	Control	137		200		nt	
	6-LS	138 ns	100	171 ns	86	nt	
	7-LS	118 ns	86	142 ns	71	nt	
	8-LS	103 ns	75	156 ns	78	nt	
	9-LS	126 ns	92	163 ns	82	nt	
2012	Control	115		nt		nt	
	6-LS	105 ns	92	nt		nt	
	7-LS	107 ns	93	nt		nt	
	8-LS	53 **	46	nt		nt	
	9-LS	92 ns	80	nt		nt	
2014	Control	nt		nt		154	
	6-LS	nt		nt		125 ns	81
	7-LS	nt		nt		121 ns	78
	8-LS	nt		nt		85 *	55
	9-LS	nt		nt		126 ns	81
Average	Control	135		166		154	
	6-LS	123 ns	91	146 ns	88	125 ns	81
	7-LS	111 ns	82	114 ns	69	121 ns	78
	8-LS	88 ns	65	129 ns	78	85 *	55
	9-LS	118 ns	87	153 ns	92	126 ns	81

Treatment group indicates the leaf stage (LS) at the starting of low temperature treatment. RTL is the ratio of TL to that of control. ns: not significant, +, *, and ***: significant at 10%, 5%, 1% confidence level, respectively. nt: not tested. Source of variances are individual plant for the analysis for each year and test year for the analysis for the average. Italic values in the average rows means that the cultivar was tested only for one year.

Table 4-2. List of the lowest values of the relative tassel length (RTL), sensitivity to low temperature at the tassel development stage and the cross combination of the hybrids.

	Cultivar						
	39B29	Papirika	Kwiss	Ducas	Tachipirika	LG3215	Anjou227
RTL (%)							
6-LS	87	78	79	75	91	88	81
7-LS	72	73	69	30	82	69	78
8-LS	51	84	45	30	65	78	55
9-LS	72	98	57	87	87	92	81
Sensitivity	1	3	1	1	3	3	1
Cross combination	D×F	F×F	F×D	(F×D)×D	F×F	(F×F)×F	D×F

The lowest value is highlighted. Sensitivity means the sensitivity to low temperature at the tassel development stage. 1: sensitive, 3: less sensitive (according to the results of Chapter 3). D and F in the 'cross combination' row mean dent inbred and flint inbred, respectively. Sensitivities of 'Ducas' and 'Anjou227' are estimations based on a single year experiment.

(3) 考察

1 カ年しか供試していない品種もあることから、ここでの結果をもって全ての供試品種の雄穂発達期の低温感受性を確定させるものではないが、結果の解析にあたり各供試品種の低温感受性を次のように評価した。「39B29」、「クウィス」、「デュカス」および「ソリード (Anjou227)」は低温処理による雄穂長比の最低値が 60%を下回ることから雄穂発達期の低温感受性は大と推定した。「たちぴりか」および「LG3215」は雄穂長比の最低値が「ぱぴりか」に近かったことから雄穂発達期の低温感受性は小と推定した (Table 4-2)。

なお、本節の試験では前章までの結果から低温感受性が小さいと考えられる「ぱぴりか」でも雄穂長比 (供試 4 カ年の平均値) の最低値が 73%となり、低温感受性小の基準 (80 以上) より小さくなった。これは、試験年によっては「ぱぴりか」でも雄穂長比が 60-70%程度にまで低下する場合があったためである (Table 4-1)。しかし、試験年ごとにみると、1 カ年 (2012 年) を除き雄穂長比の最低値は 70-80%前後を維持していた。一方、前章までの結果から雄穂発達期の低温感受性が大きいと考えられた品種「39B29」および「クウィス」では、

ほぼ毎年の試験で雄穂長比の最低値は 60%以下となった。結果として、本節の試験でも「ぱぴりか」の雄穂長比の最低値は供試品種中最大であったことから、「ぱぴりか」は引き続き低温感受性小の品種とみなせると考えた。

雄穂発達期の低温感受性が大と推定された品種は全て、デント種とフリント種の自殖系統による交雑品種であった (Table 4-2)。一方、雄穂発達期の低温感受性が小と推定された品種はいずれもフリント種自殖系統同士の交雑品種であった。フリント種はデント種に比べ概して早熟で低温伸育性に優れるなど、冷涼地によく適応した種である (Frei 2000, Troyer 2004)。フリント種とデント種との遺伝的な距離は、これら 2 種の自殖系統同士の交雑品種の雑種強勢が安定して優れ、寒冷地向けの品種のほとんどはこの組み合わせ様式によって作出されていること (Barrière ら 2006)、あるいはこの組み合わせで作出すべきとされていること (Moreno-González ら 2000) に表れている。以上から、限られた供試材料による考察ではあるが、雄穂発達期の低温感受性の小ささはフリント種自殖系統がもつ遺伝的特性に起因すると考えられた。また、低温感受性が小さいと考えられた品種の中には育成者および育成場所が異なる品種が含まれていたことから、低温感受性が小さい品種は育成者が保有する遺伝資源に依存して現れるというよりフリント種自殖系統同士の交雑品種として現れると考えられた。なお、本試験の枠組みでは、フリント種の持つどのような遺伝的特徴が雄穂発達期の低温感受性に作用するのか、またはデント種の自殖系統が用いられることによりなぜ雄穂発達期の低温感受性が上昇してしまうのかは明確にできない。この点を解明するためには、今後の植物生理学的、あるいは遺伝子解析等の精密な手法に基づく検討が求められる。

第 2 節 親自殖系統が明らかな交雑系統の比較

前節で、雄穂発達期の低温感受性の小ささは例えば「ぱぴりか」が特異的に持つものではないと考えられること、また、こうした品種はフリント種同士の交雑品種であったことを示

した。今後、雄穂発達期の低温感受性が小さい品種を効率的に開発していくためには、交雑系統の低温感受性について親自殖系統がもつ能力・効果を明らかにすることが有意義であると考えられる。

雄穂発達期の低温感受性のような量的形質の遺伝様式を解析するためには、自殖系統およびその後代といった多数の材料を用いた試験を行う必要がある（藤巻 2003）。また、対象とする形質の計測値は連続数であることが望まれる。しかし、トウモロコシを開花終期まで栽培するためには容積が大きいポットが必要で、施設規模の制約から 1 回の試験で多数の材料を供試することは困難である。一方、雄穂発達期の低温感受性の計測値を連続数にするためには雄穂長比を利用することが有効と考えられるが、雄穂長比の測定精度を高めるためには処理ごとの個体数を増やす必要がある。本節では、限られた供試材料数・個体数での試験であるため遺伝様式の解明には至らないものの、交雑品種・系統の低温感受性に対する親自殖系統の影響についての基礎的な検討を行った。

(1) 材料と方法

供試材料は北農研センターで手交配された交雑系統 15 系統とした（品種「ぱびりか」および「たちびりか」を含む）。供試系統とその親自殖系統を Table 4-3 に示した。いずれの系統も、片親または両親に「ぱびりか」または「たちびりか」の構成親自殖系統が用いられていた。「ぱびりか」および「たちびりか」の親自殖系統 3 系統の来歴を概説すると、「Ho87」はフランスのリマグレイン社育成の F_1 品種由来、「To85」は北海道在来種由来、そして「Ho90」はフランスのパイオニア社育成の F_1 品種と北海道在来種との交雑後代由来である（濃沼ら 2007b, 2007c, 2012b）。

親自殖系統の遺伝的背景については、それぞれの来歴から推定した（Table 4-4）。各自殖系統をフリント種、デント種のどちらとみなすかについては、本来であれば圃場検定（濃沼ら 2007a）または遺伝子解析手法を用いて（Enoki ら 2005）判定する必要がある。しかし、

本試験では自殖系統の圃場検定等を行っていないため、遺伝的背景からみてフリント種の割合が 50%以上の自殖系統は「フリント系」、そうでない自殖系統は「デント系」と機械的に分類した。その結果、自殖系統「A」, 「B」, 「C」および「D」（これら 4 系統は品種登録されていないので略号で表記した）はデント系と分類され、その他の自殖系統はフリント系と分類された。

Table 4－3. List of the test hybrids and their parental inbreds.

Hybrid No.	Parental inbred		Remarks
	Female	Male	
1	A	Ho87	Test cross
2	Ho87	B	Test cross
3	C	Ho87	Test cross
4	Ho87	D	Test cross
5	A	To85	Test cross
6	To85	B	Test cross
7	C	To85	Test cross
8	To85	D	Test cross
9	A	Ho90	Test cross
10	B	Ho90	Test cross
11	C	Ho90	Test cross
12	D	Ho90	Test cross
13	To85	Ho90	Test cross
14	Ho87	To85	Papirika
15	Ho87	Ho90	Tachipirika

Names of four inbreds (A, B, C and D) are masked because they are not registered genotypes.

Table 4—4. Genotypic background of the parental inbreds used in the test.

Inbreds	Genotypic background (%)			
	Corn belt Dent	Dent (earlier)	European Flint	Northern Flint
To85				100.00
Ho87		50.00	50.00	
Ho90		50.00		50.00
A		75.00	25.00	
B	25.00	62.50	12.50	
C	18.00	74.00	8.00	
D	31.25	43.75	25.00	

Names of four inbreds are masked as they are not registered genotypes. Genotypic background was estimated by their original cultivar or crossing. Dent (earlier) means a dent genotype with improved earliness by crossing Corn Belt dent and northern flint genotypes.

各系統の雄穂発達期の低温感受性を推定するために、第3章第2節の方法によりポット試験を行った。概略を記述すると、1/2000 a ワグネルポットを用い、20 °C以上になるよう設定したガラス室で生育させ、6—9 葉期にかけて1 葉期進むごとにあらかじめその時期に処理を開始するよう割り付けておいた3 個体を10 °Cに設定した低温室に移動した。低温処理は7日間とし処理後の個体は元のガラス室で生育させた。開花終期に雄穂を根元で切除して回収し、雄穂長を測定した。雄穂長比（RTL）は、雄穂長の無処理個体平均比として算出した。

試験は2015年の1カ年のみ実施したため、雄穂発達期の低温感受性は暫定的に推定した。また、低温感受性は大小の2区分ではなく3区分に分類した。すなわち、雄穂長比の最低値が80%以上に留まった系統は低温感受性「小」、雄穂長比の最低値が61%以上80%未満だった系統は「中」、同じく60%以下だった系統は「大」と評価した。なお、雄穂長比の最低値は低温処理開始時葉期ごとの平均値を用いたが、個体間のばらつきが大きいと考えられた系統では、個体ごとの低温処理開始時葉期と雄穂長比との散布図を参考に補正を行う場合があった。

(2) 結果

供試した 15 系統中 8 系統は雄穂長比の最低値が約 80%となり低温感受性は小と判定された。同様に、4 系統は低温感受性中、3 系統は低温感受性大と判定された (Figure 4-1)。

Table 4-5 に、「ぱぴりか」および「たちぴりか」に用いられた親自殖系統 (「Ho87」, 「To85」および「Ho90」の 3 系統) ごとに整理した雄穂長比を示した。フリント系とみなした自殖系統間の交雑系統は、いずれも低温感受性が小さかった。フリント系×デント系の交雑系統の中で、「To85」を交雑親に用いた系統では 3 系統 (「A」, 「B」, 「D」が相手片親) で低温感受性が大きく、1 系統 (「C」が相手片親) で低温感受性が小さかった。「Ho87」および「Ho90」を交雑親に用いた系統では低温感受性が総じて小さくなったが、「Ho90」を交雑親に用いた系統では低温感受性が小さくなる系統が多かった。

(3) 考察

デント系とみなした自殖系統が用いられた交雑系統では、フリント系とみなした自殖系統同士の交雑系統より低温感受性が大きい傾向であった (Table 4-5)。このことは、前節の考察結果、すなわちフリント種同士の交雑系統はデント種を用いた交雑系統より雄穂発達期の低温感受性が小さいということを追認するものであった。

「ぱぴりか」および「たちぴりか」の親自殖系統 (「To85」, 「Ho87」および「Ho90」) に着目して後代系統の低温感受性をみたところ、まず、「To85」は組合せる自殖系統によって後代の交雑系統の低温感受性は大きくばらついた (Table 4-5)。このことから、「To85」は組合せる相手によって初めて低温感受性の小ささを発現する遺伝子をもっていることが示唆された。他方、「Ho90」を用いた交雑系統は、供試した全ての自殖系統との交配組み合わせで総じて低温感受性が小さくなった (Table 4-5)。このことから、「Ho90」は雄穂発達期の低温感受性に関して小さい方向に作用する一般組合せ能力をもつ可能性が示唆された。「Ho87」が用いられた交雑系統は「Ho90」に似た低温感受性の小ささを発揮した。

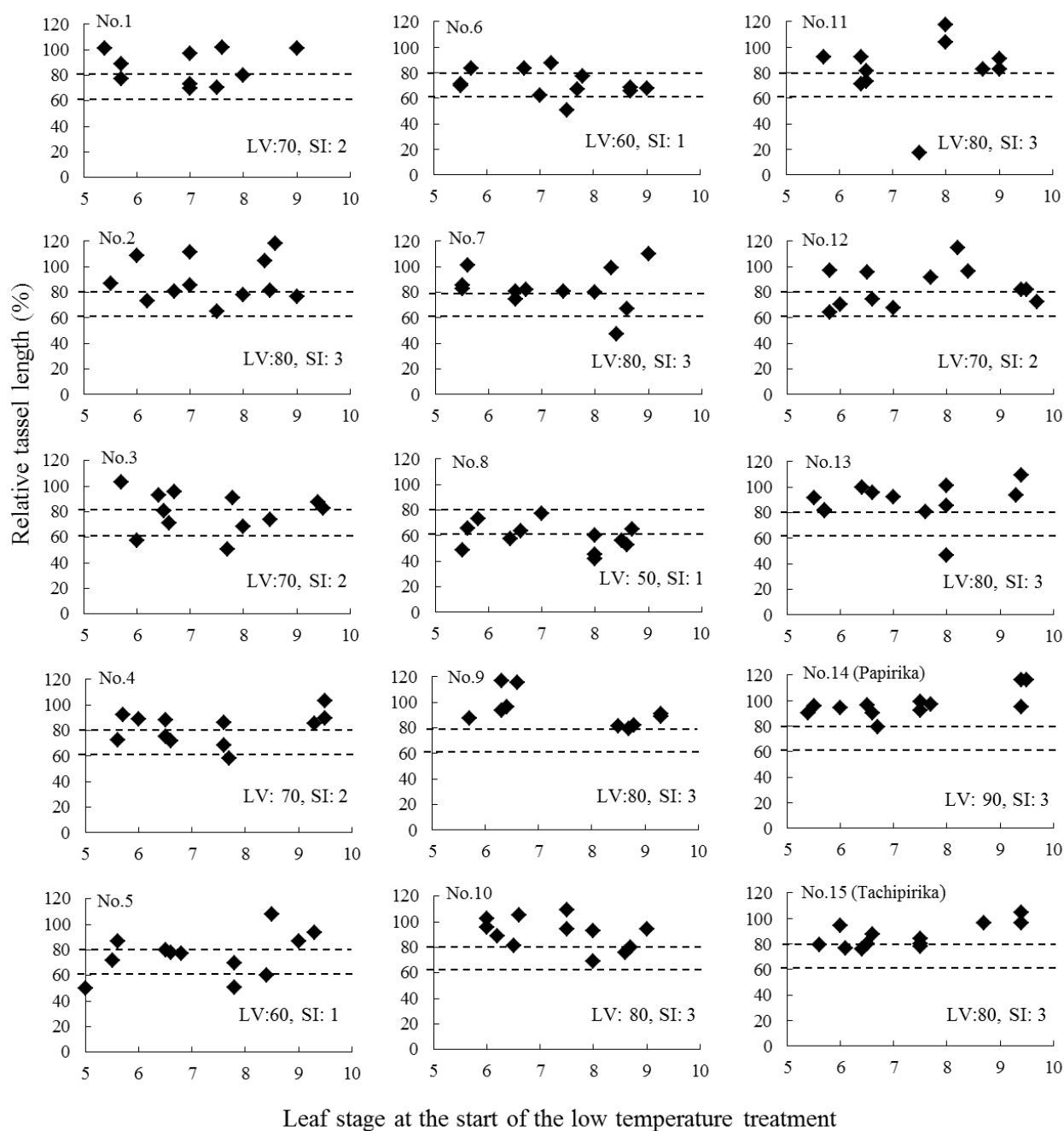


Figure 4—1. Relationship between leaf stage at the start of the low temperature treatment and the relative tassel length (RTL) for the test hybrids. SI: Sensitivity Index (1: sensitive, 2: intermediately sensitive, 3: less sensitive).

Table 4—5. Lowest values of relative tassel length (RTL) of the hybrids re-ordered to evaluate the effect of inbreds.

Picked-up inbred	Hybrid No.	Cross combination		RTL	Average (CV%)
		Female	Male		
To85	5	A	To85	60	62.5 (17.4)
	6	To85	B	60	
	7	C	To85	80	
	8	To85	D	50	
	13	To85	Ho90	80	
	14	Ho87	To85	90	
Ho87	1	A	Ho87	70	72.5 (6.0)
	2	Ho87	B	80	
	3	C	Ho87	70	
	4	Ho87	D	70	
	14	Ho87	To85	90	
	15	Ho87	Ho90	80	
Ho90	9	A	Ho90	80	77.5 (5.6)
	10	B	Ho90	80	
	11	C	Ho90	80	
	12	D	Ho90	70	
	13	To85	Ho90	80	
	15	Ho87	Ho90	80	

Hybrid number is as same as in Table 4—3. Inbreds A, B, C and D are the same as in Table 4—4. Picked-up inbreds are the inbreds used in Papirika and Tachipirika. RTL indicates the lowest value of the relative tassel length. Average is the average of hybrids using inbreds A, B, C and D.

高宮・千藤（2000）は，トウモロコシのすす紋病圃場抵抗性には遺伝子の相加効果のほか
に優性効果が関与していると考えられること，および一般組合せ能力，特定組合せ能力とも
に検出されることを報告した．濃沼・望月（1986）は，トウモロコシのごま葉枯病抵抗性
について遺伝様式を調査した結果，相加的あるいは優性効果の存在を認め，抵抗性に優れる
自殖系統を積極的に用いた交配を行うことで抵抗性に優れた交雑系統の育成が可能とした．櫛
引（1979b）は，トウモロコシの耐倒伏性は相加的な遺伝様式を持つとし，耐倒伏性に優れた
自殖系統の育成が重要であるとしている．雄穂発達期の低温感受性についても上述のような
事実の解明が求められる．

本試験は低温感受性のスコア値の分類が3段階と少なく，特定の自殖系統に対しダイアレ
ル交配を行ったものでもなく，さらに親自殖系統が供試されていないため，遺伝様式は正確

には評価できない。しかし、雄穂発達期の低温感受性に関する遺伝様式には特定組合せ能力および一般組合せ能力ともに存在する可能性があることが示唆された。なお、本試験では、交配組合せにおける親自殖系統の正逆（種子親と花粉親の別）は交雑系統の低温感受性に影響を与えないとみなしている。交配の正逆が雄穂発達期の低温感受性に及ぼす影響（細胞質の影響）については、本試験の枠組みでは明らかにできないため、今後の検討が必要である。ただし、長大作物であるトウモロコシでは、ポット試験 1 回あたりの供試個体数をさほど多くはできないため、今後の研究の積み重ねが望まれる。

第 5 章 総合考察

第 1 節 トウモロコシにおける低温に起因する不稔の発生

(1) 2003 年の不稔発生要因

2003 年に子実不稔が発生した圃場では、栽植密度は適正な水準にあり、水分条件に問題はなく、さらに虫害その他子実不稔に影響を及ぼす事象の発生はなかった。また、子実不稔は根釧地域全域で発生していたため、特定の圃場または肥培管理方法が原因であるとは考えられなかった。一方、子実不稔が発生した圃場では雄穂開花期が絹糸抽出期より受粉障害が発生しうる程度（7 日間）に遅れ、同時に花粉産生部位である雄穂小穂が発達不全（小穂数の減少）を起こしていた。2003 年の根釧地域では、7 月に日平均気温が 13 °C 前後となる低温条件が数週間続き、また日照時間も短かったことが特徴的であった。

雄性器官は Thakur ら（2010）にみられるように低温ストレスの影響を受けやすい器官である。特に、小孢子初期や花粉母細胞の減数分裂期といったストレスへの感受性が特に高い時期の低温には、たとえそれが数日程度であっても大きな影響を受ける（Satake ら 1969, Brooking 1976, Satake 1991）。また、雄穂開花期と絹糸抽出期の大きなずれや花粉飛散量の減少は、子実不稔の原因となりうる（Bassetti and Westgate 1994, Uribe Larrea ら 2002, Westgate ら 2003）。以上のことから、2003 年の子実不稔は、7 月の著しい低温・低日照が引き金となって雄穂の発達に異常が発生し、結果として受精適期に花粉飛散量が減少したためと推察される。

従来、寒冷地のトウモロコシ栽培における低温障害は、発芽直後（春先）の低温による生育停滞または枯死、あるいは登熟期の秋冷による登熟不良に関するものが知られており、子実不稔に関連する報告は見当たらない。しかし、2003 年の 7 月に根釧地域でみられたような低温・低日照条件は過去 30 年程度の気象データを解析してもほとんどみられず、過去に例がないほど厳しいものだったといえた。過去に低温が関係する子実不稔害の報告例がなかった

のは、世界的にみてもこれほどまでに厳しい低温・低日照条件下での栽培事例が少なかったためと考えられる。

本研究では7葉期に低温処理された個体で他の時期に処理された個体より子実稔実率が低下する傾向がみられたが、その度合いは小さく、また個体間のばらつきが大きかったことからいずれの年次も無処理個体との間には有意差はみられなかった。イネでは充実花粉粒数が子実不稔を起こすほどに減少するような低温処理を受けた個体でも、低温処理されていない個体の花粉を受粉させると子実稔実率の低下はほとんど起こらないとされている (Hayase ら 1969)。また、ソルガムでも花粉産生に影響が出るような低温処理条件において、雌性の稔性には問題が生じないとされている (Brooking 1976)。さらに、2003年の根釧地域では雄穂開花期の遅れや雄穂小穂の退化といった雄穂の問題が明瞭に発現していた。これらのことから、2003年の子実不稔が雌穂の問題によって発生していた可能性は小さいと考えられる。

(2) 開花特性の異常（雄穂開花期が絹糸抽出期より遅れたこと）の発生要因

雄穂開花期が絹糸抽出期より大幅に遅れたということは、雄性不稔が発生して葯の抽出が滞っていたことを示唆する。本研究における雄穂開花期の定義は、50%以上の個体が1小穂でも開葯した日としたが、実態として、その後も雄穂全体にわたる開葯がみられない試験区があった。雄性不稔は特定の時期の低温ストレスによって発生することが知られているが (Satake ら 1969, Brooking 1976)、本研究のポット試験では8葉期に低温処理された個体で雄穂開花日が絹糸抽出日より遅れる傾向が示されたことから、2003年に雄性不稔が発生していたとすると、8葉期の低温ストレスがその引き金となった可能性が考えられた。しかし、2003年の7月に根釧地域のトウモロコシがどの生育ステージにあったのかは、特段の調査がなされていなかったため正確には分からない。ここではまず、2003年の7月にトウモロコシは8葉期だったといえるのか考察し、次いで8葉期が他の作物で知られている低温への感受性が高い時期とみられるのか考察した。

根釧農試定期作況報告（根釧農業試験場 2003）によると、品種「エマ」（マルチ栽培ではない）は6月下旬には6葉期には達しておらず7月下旬には10葉期を過ぎていたことが記録されている。生産現場では当時、ビニールマルチを用いる栽培が多く行われていたため（この栽培法では7、8葉期前後にはマルチなしに比べ葉数が1-2枚多くなる〈根釧農試場内における2006年の調査結果、未発表〉）、2003年の7月上旬には多くの圃場で8葉期になっていたと推定された。

Tranel ら（2008）は、総葉数が17枚のトウモロコシ自殖系統では葯の分化はV8からV9（Ritchie ら 1993）にかけて始まり、花粉母細胞の減数分裂はV10からV12にかけて始まるとしている。これを元に単純な計算をすると、総葉数17枚の系統のV10とは総葉数の59%が展開した時期と推定できる。本試験で供試した「39B29」の総葉数は14枚前後であるため、その59%の葉数は8-9葉期となる。よって、「39B29」は8葉期前後に減数分裂期かその前後の雄穂発達段階にあった可能性がある。Warrington and Kanemasu（1983）は、トウモロコシの雄穂分化期は播種から雄穂開花までの期間の約1/3の時期であると報告している。2003年の根釧地域におけるトウモロコシの播種期は5月下旬であり、雄穂開花期は概ね8月中下旬であったことから、トウモロコシは6月下旬以降に雄穂が分化していたと推定できる。なお、雄穂分化開始から花粉母細胞の減数分裂期までの日数は、RM110 日前後の自殖系統では約2-3週間とされている（この日数は、対象とした遺伝子型によって変わりうるためあくまで参考である）（Tranel ら 2008）ことから、仮に6月下旬に雄穂の分化が始まっていたとすれば、7月中旬までに減数分裂期を迎えていたと推定できる。これらの推定から、品種「39B29」では8葉期前後に花粉母細胞の減数分裂期かその前後の時期を迎えていたものと推察される。

ポット試験では、8-10葉期の低温処理により充実花粉粒率が低下する場合があった。また、8-10葉期頃の低温処理により小穂あたりの花粉量（本研究では目視による最多個体を1とした指数で表した）が無処理個体または他の時期に低温処理された個体より減少する傾向がみられた。ポット条件におけるこれらの結果は、2003年の圃場条件における雄穂開花期の

遅れは雄性不稔によるものであったとする本項冒頭の仮説を支持している．なお、ポット試験において充実花粉粒率および小穂あたりの花粉量が減少した時期が 8—10 葉期と幅があったのは、雄穂の小穂は全体が同時に発達するのではなく主軸中央部のやや下部から発達してその後順次枝梗で発達する (Tranel ら 2008) ことや、小穂が分化しその後葯が分化発達する (Bonnett 1948, Tranel ら 2008) ことによると考えられる．

本研究のポット試験では雄性不稔そのものは観察されなかった．この理由としては、例えばポット条件では低温処理期間以外は十分に暖かなガラス室で栽培されること、またはポット条件での生育特性があることが考えられる．Tranel ら (2009) は、トウモロコシはポット条件で栽培すると栽培環境を様々に工夫しても圃場条件とは異なる生育をする (徒長する) と述べているが、本研究でも同様の状況がみられた．ポット栽培特有の生育条件を除外するのは困難と考えられるが、トウモロコシにおいて雄性不稔を人工的に再現できる試験条件の解明が待たれる．

なお、雄性不稔の発生要因の 1 つとして、一代雑種であるトウモロコシ栽培品種では種子生産のため種子親系統では雄性不稔系統が用いられる (Skibbe and Schnable 2005) ことがあげられる．コムギにおいて、数種の細胞質雄性不稔性とそれぞれに作用する稔性回復遺伝子とを組合せた試験の結果、細胞質と稔性回復遺伝子型の組合せによっては不稔または部分不稔が認められたことが報告されている (松原ら 1986)．トウモロコシの市販種子には稔性回復遺伝子が導入されているが、仮に、当時の「39B29」で稔性回復遺伝子の発現が不完全であったとすると、これが 2003 年における花粉飛散量不足の原因となっていた可能性がある．しかし、2003 年に「39B29」を栽培していた根釧農試以外の試験地では子実不稔が発生したとの報告はなかった (平成 15 年度北海道農業試験会議飼料作物分科会資料 2003 <内部資料>)．前述のコムギにおける試験では、稔性の回復程度には試験実施場所による違いがあったことが報告されており (松原ら 1986)、仮に 2003 年の花粉飛散量不足の原因が稔性回復の不安定さにあったとしても、2003 年の根釧地域のような厳しい低温条件があつて初めてそれが

顕在化したものと考えられる。

以上より、2003 年に品種「39B29」で雄穂開花期が絹糸抽出期より大きく遅れたのは、花粉母細胞の減数分裂期かその前後の時期と考えられる 8 葉期に著しい低温ストレスを受け、雄性不稔が発生したことによると推察した。

(3) 雄穂発達不全（小穂の着生不全）の発生要因

雄穂小穂の発達不全は、その態様が各枝梗の先端に近い部分ほど小穂の着生が不良となる形であったことからみて、分化途中だった小穂が分化を停止したことによると考えられた。実際、「39B29」の 8 葉期の雄穂は主軸では小穂が形態的にはほぼ完成しており、枝梗では特に先端に近い部位で小穂の形態的な形成が始まったところであった。雄穂の分化が途中で停止したということは、雄穂への同化産物の供給が滞ったことを示唆する。

トウモロコシは 15 °C 以下の低温ストレスを受けると光合成能力が低下することが知られている (Fracheboud ら 1999, Foyer ら 2002, Sowiński ら 2005)。トウモロコシは光合成反応における二酸化炭素の最初の固定産物が C_3 化合物ではなく C_4 化合物であることから C_4 植物と呼ばれている。 C_4 植物ではカルビン回路が進行する維管束鞘細胞内で二酸化炭素濃度が大気条件より高まるため、一般の C_3 植物の光合成反応で起こりがちな光呼吸が少なく光合成効率が高いが、炭素化合物を葉肉細胞と維管束鞘細胞との間で互いに輸送するため光合成反応には C_3 植物より高いエネルギーを必要とする。これらの特徴から、 C_4 植物は C_3 植物に比べてより高温な環境に適するとされている (テイツ・ザイガー 2004)。低温条件下では C_4 植物の光合成能力は C_3 植物より劣ることが知られているが、その原因としてルビスコ酵素の濃度の違いなどが報告されている (Kubien and Sage 2004)。 C_4 植物の中でも低温条件下での光合成能力には差異があるとされ、例えばジャイアントミスカンサス (*Miscanthus × giganteus*) とトウモロコシとを比較すると、トウモロコシの方が光合成能力の低下程度が大きいとされている (Naidu ら 2003)。

以上より、雄穂で小穂着生不良が発生した原因は、著しい低温により雄穂発達期に植物体内で同化産物生産量が不足し、雄穂への同化産物の供給が滞ったためと推察した。

(4) 低温感受性が高い時期の推定

本研究では低温が雄穂発達に影響を及ぼす時期は8葉期前後としたが、対象とする品種が本研究で扱ったものと異なる場合（特に総葉数や熟期が異なる場合）には、8葉期以外の時期が低温感受性の高い時期となることが想定される。

イネでは低温への感受性が高い時期（小孢子初期）を葉耳間長で表すことができる（Satake and Hayase 1970）が、トウモロコシでは品種を問わず、かつ解剖によらず雄穂の発達段階を知る手法は開発されていない。すなわち、Mock and Frey（1970）は、葉数を指標にすることでトウモロコシの減数分裂期を精度良く推定できるとしているが、葉数何枚目が減数分裂期かは品種および環境条件によって異なると述べている。一方、トウモロコシの生育進展は積算気温でよく説明できるとされているほか（櫛引 1979c, 1980）、雄穂の分化または出穂期も積算気温で説明ができるため（Tollenaar ら 1979, Warrington and Kanemasu 1983, Dwyer and Stewart 1986, Ellis ら 1992, Padilla and Otegui 2005）、低温への感受性が高い時期は雄穂開花期前の積算気温で表せると考えられる。

本研究のポット試験の結果、雄穂開花期前の積算気温が 500–600 °C となる時期に低温感受性が最も高まると考えられた。これを 2003 年の根釧農試の品種検定圃場（マルチなし栽培）に対し当てはめてみると（2003 年に雄穂開花は異常に遅れたため絹糸抽出期を基準として計算）、厳しい低温条件にあった 7 月 12–20 日頃に該当した。マルチ栽培が多かった生産現場では根釧農試の品種検定圃場より生育は早かったと想定されるが、仮に上記試算より 1 週間早い 7 月 5–13 日頃が生産現場で低温感受性の高い時期だったとしても、これは 2003 年に厳しい低温条件となっていた時期の範囲内である。

特定の生育ステージを表すために、その時点の葉数をその品種の総葉数で除して相対化す

ることがある。しかし、トウモロコシの総葉数は、根釧農業試験場定期作況報告での平年値と毎年の実測値とのずれにみられるように（根釧農業試験場 2015）、生育環境によって1枚程度異なる場合がある。その点、雄穂分化から雄穂開花期までの期間は通常の生育条件下では一定であると想定できるため（小穂は一連の分化過程をへて、遅滞なく順次開葯すると考えるのが自然である）、雄穂発達段階の低温感受性が高い時期を表す指標としては雄穂開花期までの積算気温が適すると考えられる。一方、「39B29」の8葉期の雄穂主軸長は40 mm前後であった。雄穂の発達は雄穂主軸長の伸長と相まって進むと考えられることから（Bonnett 1948）、これも雄穂発達期の低温感受性が高い時期を表す指標となりうる。

以上より、2003年の根釧地域でみられた子実不稔害は、トウモロコシの8葉期頃あるいは雄穂開花前の積算気温が500–600 °Cで雄穂主軸長が40 mm前後となる時期の著しい低温ストレスにより雄穂開花期が絹糸抽出期より大きく遅れ、さらに花粉産生部位である雄穂小穂そのものが減少したためと推察した。

世界的にみても寒冷地でのトウモロコシ栽培の歴史は浅いと考えられるため、栽培地域が拡大するにつれて従来知られていなかった低温被害、または寒冷地ならではの生育障害が発生する可能性がある。寒冷地でのトウモロコシ栽培では、未熟害（遅延型冷害）のみならず子実不稔を引き起こすような低温障害（障害型冷害）にも注意をしていく必要があるといえる。

第2節 品種間差異の存在およびその検出法

(1) 雄穂発達期の低温感受性に関する品種間差異の存在

2003年の圃場条件において、品種「ぱぴりか」では子実不稔は観察されず、また、雄性不稔と考えられる現象（雄穂開花期の絹糸抽出期に対する遅れ）および雄穂小穂の着生不良は観察されなかった。ポット試験における雄穂主軸長の解析から、「ぱぴりか」の7葉期の雄穂

発達段階は「39B29」および「クウィス」の8葉期のそれと異ならないと考えられた。また「ぱぴりか」の7葉期は雄穂開花前の積算気温で表すと約 570 °Cであり、これは「39B29」で明らかとなった低温感受性が高い時期の範囲内にあった。その上で、「ぱぴりか」では7葉期を含む複数の葉期に低温処理された場合でも雄穂開花日は絹糸抽出日より遅れず、雄穂小穂の着生不良も発生しなかった。以上のことから、「39B29」は前節で示したとおり雄穂発達期の低温感受性が大きいのに対し、「ぱぴりか」は小さいといえた。また、「ぱぴりか」は、雄穂発達期の低温に対し回避的にふるまう（生殖生長のステージが他の品種と大きく異なる）のではなく、生理的（遺伝的）に感受性が小さいものと考えられた。

トウモロコシでは、低温条件下で展開した葉の光合成能力は通常の条件で展開した葉に比べ低い（Foyer ら 2002）、その低下程度には遺伝子型間で差異があることが知られている（Fracheboud ら 1999）。また、低温条件下での光合成能力、例えばクロロシスの発生や光阻害作用の影響の大小について遺伝的変異があることが知られている（Dolstra ら 1988, 1994）。さらに、低温条件下における発芽能力および実生の初期生育には自殖系統間で差異があることが知られている（Maryam and Jones 1983, Revilla ら 2000, 2003）。

低温ストレスに遭遇すると植物体内ではアブシジン酸（ABA）が増加、あるいはジベレリンが不足することで、正常な花粉産生が阻害されるといわれている（Saini ら 1984, Thakur ら 2010, Sakata ら 2014）。また、低温ストレスにより花粉稔性が低下する遺伝子型では、低温条件下ではタペート細胞壁でのインベルターゼ酵素の活性（遺伝子の発現）が高まらず、タペート細胞へのデンプン蓄積が進まないことが知られている（Oliver ら 2005）。これらの低温ストレスによる植物ホルモンまたは酵素活性の変動の程度には遺伝子型間に差異があることが知られている（Oliver ら 2005, Sanghera ら 2011）。トウモロコシにおける雄穂発達期の低温感受性の品種間差異も、低温に際しての光合成能力または植物ホルモンの維持能力に基づくと推察されるが、詳細を明らかにするためには、光合成能力または植物ホルモンの動向に着目した研究が必要である。

以上から、雄穂発達期の低温感受性については、品種間差異が存在するといえる。なお、本研究における品種間差異の検討は、人工的な一定の条件下での試験の結果に依存している。品種ごとの雄穂発達期の低温感受性については主に雄穂形態を指標として論じているため、今後は、実際の子実不稔まで再現した研究が求められる。

(2) 品種間差異検出法の提案

2003 年にみられた品種ごとの低温感受性の違いは、6–9 葉期における 10 °C で 7 日間の低温処理による雄穂長の変化に表れた。他の温度環境では試験を実施していないため、10 °C での 7 日間という低温処理が最適とはいえないものの、Bechoux ら (2000) がこの処理を用いてトウモロコシ自殖系統の雄穂形態の変化について報告したことから、この処理法により少なくとも低温感受性が高い遺伝子型で雄穂小穂数が減少する状況を作出できると考えられる。

本研究において、10 °C で 7 日間処理した際の雄穂小穂数の減少程度は、試験年によって若干ばらついたが、減少程度の品種間の序列は各年ともほぼ変わらなかった。低温処理による雄穂長比の最低値は、2003 年に雄穂形態の異常、開花特性の異常および子実不稔が観察されなかった「ぱぴりか」では 80% 前後となり、2003 年に子実不稔および雄穂開花異常等が発生した「39B29」では 60% 程度となった。また、2003 年当時には圃場栽培実績はなかったものの、8 葉期に 13 °C で 15 日または 21 日間処理された際に雄穂開花期が絹糸抽出期より「39B29」以上に遅れ、かつ雄穂長比が 10% 程度にまで減少した「クウィス」では、8 葉期に 10 °C で 7 日間低温処理された場合に雄穂長は無処理個体の 30% 程度となった。

ただし、本研究で供試した品種 (RM73–75 日クラスで、総葉数が 12–15 程度の範囲にある品種) より遅い熟期、または総葉数がより多い品種について雄穂発達期の低温感受性を調査するには、低温処理を実施する時期を再検討する必要があると考えられる。具体的には、第 1 節で示した指標を参考に、評価処理開始日から開花までの積算気温が 500–600 °C 程度

となるような時期を処理の中心となる時期としつつ、その前後 1 葉期以上の複数時期に処理を行うべきと考えられる。別の指標からいうと、雄穂主軸長が 40 mm 前後の時期を中心にしつつ、その前後 1 葉期以上の時期に処理を行うべきと考えられる。いずれの指標を用いるにしても、処理時に予備個体をいくつか解剖し、雄穂の発達状況を記録しておくことが望ましい。

なお、試験を行う際の処理時期の指標としては葉期を用いて差し支えないと考えられる。というのも、処理開始時の生育ステージは、個体ごとの処理時の状況を記録する非破壊的な指標または同時に処理される個体群の呼称に過ぎず、その後に必要に応じ個体ごとの処理開始日から雄穂開花までの積算気温といった指標に変換できるからである。結果の解析にあたっては品種間で雄穂長比の最低値を比較できればよく、仮に品種ごとに低温感受性が高い葉期が異なっても、その時期が低温処理の実施範囲に入っていればよい。

2012 年のように処理の効果が判然としない（低温処理個体の雄穂長が無処理個体平均を超えることがある）年があるため、試験は複数年行うことが望ましい。2012 年に低温処理の効果が判然としなかったのは、処理外の環境ストレスが供試個体にかかったためと推定される。そのため、処理外の環境ストレスが供試個体にかからぬよう、ガラス室の温度管理、施肥または水分管理には十分注意する必要がある。

以上をまとめ、雄穂発達期の低温感受性の検定方法を次のとおり策定した。（ア）6－9 葉期（雄穂開花期までの単純積算気温が 500－600 °C の時期または雄穂主軸長が 40 mm 前後の時期を含む複数の葉期）にかけて 1 葉期ごとに 10 °C の低温低日照条件で 7 日間処理する、（イ）いずれの葉期の低温処理でも雄穂長が無処理個体平均の 80% 以下とならない品種は雄穂発達期の低温感受性が小さいと推定し、雄穂長が無処理個体平均の 60% かそれ以下になる品種は雄穂発達期の低温感受性が大きい品種と推定する、（ウ）処理外のストレスが個体にかからないよう注意しつつ試験は複数年行う。

第3節 雄穂発達期における低温障害の回避法

(1) 品種からの対応の重要性

イネでは、花粉産生にとって重要な時期に深水灌漑を行うことで生長点を低温から守る技術が確立している (Satake ら 1988)。しかしトウモロコシは長大型の作物であるため、生育途中に植物体を低温から保護するような対処法をとることは困難である。そこで、まず考えられる対処法はトウモロコシの低温感受性が高い時期に低温に遭遇する可能性が低くなるよう作期を移動させることである。しかし、寒冷地では低温に遭遇する時期をあらかじめ想定することは難しい。仮に、厳しい低温条件になりがちな時期をあらかじめ想定できたとしても、寒冷地では耕作可能な期間を最大限活用して生育および登熟に必要な積算気温を確保しているため、播種期を通常より遅くすることは未熟リスクを増大させることになり、生産現場では適用できない。トウモロコシの生育を促進させるためビニールマルチを使用すると、低温感受性が高い時期が晩春へと早まることになり、かえって厳しい低温条件に遭遇する可能性が高まると考えられる。ビニールマルチを用いて遅播きした場合でも、登熟期間を確保するため雄穂開花期は通常の栽培と同じ時期までに迎えるように栽培することになるため、結局、低温感受性の高い時期は通常栽培とは異ならないと考えられる。

第2の方法として、植物ホルモンの葉面散布が考えられる。低温または高温による雄性機能の異常には、様々な植物ホルモンの過不足が関わっていることが知られている (Cheikh and Jones 1994, Thakur ら 2010)。例えば、イネではジベレリンが花粉へのデンプン蓄積に関与していることが知られており、子実不稔が発生するような低温処理の期間中にジベレリンを外的添加した個体では、子実稔実率が一定程度回復することが報告されている (Sakata ら 2014)。東谷 (2013) は、高温ストレス条件下での雄性不稔の発現に関し、感受性が高い時期の植物体内でオーキシンを生産する遺伝子の働きが抑制されていることに注目し、その時期のオオムギ (*Hordeum vulgare* (L.) emend. Lam.) 個体にオーキシンを葉面散布することで正常な授精能を確保できたとしている。しかし、広大な面積を低コストで管理する必要があ

るトウモロコシの飼料向け栽培現場においては、感受性が最も高い時期を逃さず低コストに薬剤を散布することは困難と考えられる。

第3の方法、かつ最も有効と考えられる方法として、低温感受性の小さな品種を用いることがあげられる。例えば、すす紋病に対しては、抵抗性品種の利用が第1の手段として推奨されている (Lipps and Mills 2002)。雄穂発達期の低温感受性に対しても、感受性の小さな品種を利用すれば、その他の方法をとる必要性はなくなると考えられる。

(2) 雄穂発達期の低温感受性が小さな品種の開発と流通可能性

交雑品種の雄穂発達期の低温感受性は、親自殖系統の遺伝背景によって大別された。すなわち、フリント種自殖系統同士の交雑品種は総じて雄穂発達期の低温感受性が小さかったのに対し、構成親にデント種の自殖系統が含まれる交雑品種では低温感受性が大きかった。フリント種自殖系統の持つどのような遺伝的特徴が雄穂発達期の低温感受性の小ささをもたらしたのかは本研究では検討していないため、フリント種同士の交雑品種であれば常に低温感受性が小さいとは断言できない。しかし、フリント種はデント種に比べ低温条件下での初期生育が優れるほか光合成能力が高いなど (Sowiński ら 2005, Bhosale ら 2007) 寒冷地または作期が短い地域に適する特性を持っていることから、その表れの1つとして、雄穂発達期の低温感受性が小さいものと考えられる。

以上のことから、雄穂発達期の低温感受性を品種選定の面から抑止するためには、フリント種自殖系統のみを用いた交雑品種を積極的に選定することが有効と考えられる。なお、2015年に北海道優良品種に登録されている品種のうち熟期が「早生の早」(RM80 日クラスより早生の品種)とされている6品種のうち2品種がフリント種自殖系統同士の交雑品種(1品種は北海道内育成品種、もう1品種は海外からの導入品種)であった(北海道農政部生産振興局畜産振興課 2015)。現状入手可能なフリント種同士の交雑品種が複数の育成元で育成されていることは、こうした品種は今後も一定の割合で開発・普及される見込みがあることを示

唆している。

とはいえ、雄穂発達期の低温感受性の小さな品種を積極的に育成していくことも必要と考えられる。本研究では、雄穂発達期の低温感受性が小さな品種の開発にあたっての参考とするため、低温感受性の遺伝様式について初動的な検討を行った。7つの自殖系統が用いられた15交雑系統を調査対象としたに過ぎないため、遺伝様式そのものを推定することはできないが、今後の品種開発に向けて参考となる以下のような結果を得ることができた。まず、由来からみてフリント種の遺伝的割合が高い自殖系統同士の交雑系統は、低温感受性が小さいことが確認できた。さらに、組合せる相手によって交雑系統の低温感受性が異なる自殖系統がみられた。このことは、低温感受性の小ささには特定の組合せによって初めて効果が発現する遺伝様式が関与していることを示唆する。また、後代の低温感受性を総じて小さくする自殖系統も見られた。この自殖系統は優性の主働遺伝子を持つ、あるいは低温感受性を小さくする方向の量的遺伝子を多数、累積的に保持しているという2つの可能性が考えられる。これらの点を明らかにするためには、 F_1 系統の自殖後代である F_2 や F_3 集団を育成し、低温感受性の大小に関する分離状況を調査する必要がある。以上より、雄穂発達期の低温感受性に関する遺伝様式には、特定組合せ能力および一般組合せ能力ともに存在する可能性があることが示唆された。

西村（1995）は、イネの穂ばらみ期耐冷性に関与する遺伝子は主に2つの遺伝子座によって支配されており、いずれも優性または不完全優性遺伝子だと報告している。トウモロコシ交雑品種では、すす紋病抵抗性または耐倒伏性といった量的形質においては親自殖系統の能力による相加的な効果があることが示唆されている（高宮・千藤 2000, 櫛引 1979b）。雄穂発達期の低温感受性についても遺伝様式が明らかとなり、より効率的な育種が進められることが望まれる。

なお、フリント種は一般に雌穂の登熟がデント種に比べ遅いことや、収量性がデント種に比べ劣るため（Frei 2000）、フリント種主体の交雑品種を育成するにあたっては、こうした

不利な点が改善されたフリント種自殖系統の育成が求められる。なお、低温処理の影響の大きさには、デント種が用いられた交雑品種の間でも差異がみられた（「クウィス」>「39B92」）。これは、デント種自殖系統の中でも低温感受性に違いがあるか、または交雑相手であるフリント種自殖系統の特性に違いがあることによると考えられる。デント種自殖系統の中に低温感受性に関する遺伝的特性に違いあるかについては、デント種同士の交雑品種を用いた低温処理試験により明らかにする必要がある。

第 4 節 将来展望

近年、トウモロコシでは雄性の優先性を減じる方向への育種が進んでいる。具体的には、熱帯のトウモロコシ系統について雄穂枝梗数を減じる方向に選抜を繰り返した結果、元の系統より適正栽植密度および光利用効率が向上して多収となったことが報告されている（Fischer ら 1987）。また、同じく熱帯のトウモロコシ系統で、トウモロコシの雄穂開花期と絹糸抽出期のずれ（元来、雄穂開花期は絹糸抽出期より大幅に早い）を小さくする方向に選抜を繰り返したところ、子実稔実率が高まったことが報告されている（Bolaños and Edmeades 1993）。Cárcova ら（2000）は、絹糸抽出期を雄穂開花期にできるだけ近づけることが、遅く出現する絹糸の受精を助けるため望ましいと報告した。

こうした育種戦略の結果、近年のトウモロコシ品種は雄穂開花期が絹糸抽出期と同日かやや遅れるようになっている（根釧農業試験場 未発表）。雄性の優先性を減じる方向の遺伝的改良は、現代品種の子実多収性に大きな役割を果たしていると考えられるものの、雄穂発達期の低温感受性の大きさにもつながることが懸念される。

近年、地球規模で温暖化する傾向にあるといわれている（IPCC 2014）。温暖化が進めば冷害は減ると考えることもできるが、下野（2008）は、日本国内で過去 70 年間の月別平均気温の変化傾向を解析した結果、7-8 月の気温上昇傾向は他の月に比べて小さく、特に北日本で

は明確な上昇傾向が認められなかったことを報告している。また、Kurihara ら (2005) は、IPCC が作成したモデルに基づき 2081–2100 年の気象予測を行ったところ、北日本の気温は、現在(1981–2000 年)と比べて 1–5 月と 10–12 月には 3 °C 程度上昇すると見込まれる一方、6–9 月には他の月より低い 2 °C 程度の上昇にとどまると報告している。つまり、7 月頃の低温が関与するトウモロコシの雄穂発達期の低温感受性については、将来にわたり注意が必要といえる。

寒冷地においてトウモロコシを生産しようとする農家は、栽培する品種を熟期や収量性のみで選ぶのではなく、耐病性や耐倒伏性など不良条件への耐性をも重視して選んでいる。今後は、雄穂発達期の低温感受性が品種選定にあたって参考とすべき特性の 1 つに追加されることが望まれる。そのために、寒冷地向けの新品種は、一般への流通の前に第 2 節で示した方法により低温感受性が推定されるべきと考える。また、寒冷地に適応した品種を効率的に選抜・育成するため、気象条件が良好な品種育成地（北農研センター等）での検定と並行して、夏季寒冷になりがちな地域（根釧地域等）において育成の初期段階から選抜・検定が行われることが望ましい。雄穂発達期の低温感受性が小さな品種「ぱぴりか」および「たちぴりか」は、北農研センターの試験交配系統を根釧農試の圃場で選抜し、育成された品種である（濃沼ら 2007a, 2012a）。

なお、本研究で示した低温処理試験では 1 材料あたり多くのポットを使用するため、1 回の試験で検定できる材料数は少ない。今後は品種ごとの雄穂発達期の低温感受性と相関があり、かつ調査のため施設等での栽培管理ができるだけ不要な形質（例：圃場での初期生育量や光合成活性など）が見出されることが望まれる。また、今後、トウモロコシの雄穂発達期の低温感受性に関係する量的形質遺伝子座 (QTL) が明らかになれば、遺伝子マーカーを用いた効率的な遺伝的改良が可能となると考えられる。イネでは、穂ばらみ期耐冷性に関する QTL の解明が進んでおり、それらの集積効果によるさらなる耐冷性の向上が期待されている（黒木 2011）。トウモロコシにおいても、低温による雄穂開花の遅れや雄穂小穂数の減少に関す

る QTL の同定が待たれる．また，フリント種が持つ低温感受性の低さに関するゲノム領域を特定できれば，それをデント種自殖系統に遺伝子移入することで，低温感受性が小さいデント×フリント交雑品種を作出することができるかもしれない．

近年のトウモロコシ栽培面積の増加は，これまで栽培が少なかった涼しい地域が支えているという報告（USDA ERS 2015）がある．世界的に食料需給が逼迫していく状況下では，今後ともトウモロコシの栽培地域は環境条件が厳しい地域へと拡大していくと考えられる．寒冷地でのトウモロコシ栽培を，雄穂発達期の低温に起因する子実不稔害に見舞われることなく継続できるようにするため，雄穂発達期の低温感受性が小さく，かつ多収性その他農業特性に優れた品種が多数育成され，生産現場に普及されていくことを期待して結びとする．

引用文献

- Adams, J.E. and Thompson, D.O. 1973. Soil temperature reduction during pollination and grain formation of corn and grain sorghum. *Agron. J.* 65: 60-63.
- Andrade, F.H., Otegui, M.E., and Vega, C. 2000. Intercepted radiation at flowering and kernel number in maize. *Agron. J.* 92: 92-97.
- 青山聡・島田尚典 2014. アズキ極晩生遺伝資源の開花着莢障害耐冷性評価法の開発. 日作紀 83: 326-332.
- Bano, S., Aslam, M., Saleem, M., Basra, S.M.A. and Aziz, K. 2015. Evaluation of maize accessions under low temperature stress at early growth stages. *J. Anim. Plant Sci.* 25: 392-400.
- Barrière, Y., Alber, D., Dolstra, O., Lapierre, C., Motto, M., Ordas, A., Van Waes, J., Vlaswinkel, L., Welcker, C. and Monod, J.P. 2006. Past and prospects of forage maize breeding in Europe. II. History, germplasm evolution and correlative agronomic changes. *Maydica* 51: 435-449.
- Basseti, P. and Westgate, M.E. 1994. Floral asynchrony and kernel set in maize quantified by image analysis. *Agron. J.* 86: 699-703.
- Bechoux, N., Bernier, G. and Lejeune, P. 2000. Environmental effects on the early stages of tassel morphogenesis in maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Environ.* 23: 91-98.
- Beck, D.L. 2004. Hybrid corn seed production. In C.W. Smith, J. Betrán and E.C.A. Runge eds., Corn: origin, history, technology, and production. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA. 565-630.
- Below, F.E., Duncan, K.A., Uribeharrea, M. and Ruyle, T.B. 2009. Occurrence and proposed cause of hollow husk in maize. *Agron. J.* 101: 237-242.

- Betrán, F.J., Ribaut, J.M., Beck, D. and Gonzales de León, D. 2003. Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonstress environments. *Crop Sci.* 43: 797-806.
- Bhosale, S.U., Rymen, B., Beemster, G.T.S., Melchinger, A.E. and Reif, J.C. 2007. Chilling tolerance of central European maize lines and their factorial crosses. *Ann. Bot.* 100: 1315-1321.
- Bolaños, J. and Edmeades, G.O. 1993. Eight cycles of selection for drought tolerance in lowland tropical maize. II. Responses in reproductive behavior. *Field Crops Res.* 31: 253-268.
- Bonnett O.T. 1948. Ear and tassel development in maize. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 35: 269-287.
- Brooking I.R. 1976. Male sterility in *Sorghum bicolor* (L.) Moench induced by low night temperature. I Timing of the stage of sensitivity. *Aust. J. Plant physiol.* 3: 589-596.
- Brooking I.R. 1979. Male sterility in *Sorghum bicolor* (L.) Moench induced by low night temperature. II Genotypic differences in sensitivity. *Aust. J. Plant Physiol.* 6: 143-147.
- Camus-Kulandaivelu, L., Veyrieras, JB., Madur, D., Combes, V., Fourmann, M., Barraud, S., Dubreuil, P., Gouesnard, B., Manicacci, D. and Charcosset, A. 2006. Maize adaptation to temperate climate: relationship between population structure and polymorphism in the *Dwarf8* gene. *Genetics* 172: 2449-2463.
- Cárcova, J., Uribe-larrea, M., Borrás, L., Otegui, M.E. and Westgate, M.E. 2000. Synchronous pollination within and between ears improves kernel set in maize. *Crop Sci.* 40: 1056-1061.
- Cheikh, N. and Jones, R.J. 1994. Disruption of maize kernel growth and development by heat stress. Role of cytokinin/abscisic acid balance. *Plant Physiol.* 106: 45-51.

- Chimenti, C.A. and Hall, A.J. 2001. Grain number responses to temperature during floret differentiation in sunflower. *Field Crops Res.* 72: 177-184.
- Cicchino, M., Edreira, J.I.R., Uribelarrea, M. and Otegui, M.E. 2010. Heat stress in field-grown maize: response of physiological determinants of grain yield. *Crop Sci.* 50: 1438-1448.
- Dolstra, O., Jongmans, M.A. and de Jong, K. 1988. Improvement and significance of resistance to low-temperature damage in maize (*Zea mays* L.). I. Chlorosis resistance. *Euphytica* 5: 117-123.
- Dolstra, O., Haalstra, S.R., van der Putten, P.E.L. and Schapendonk, A.H.C.M. 1994. Genetic variation for resistance to low-temperature photoinhibition of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 80: 85-93.
- Dubreuil, P., Warburton, M., Chastanet, M., Hoisington, D. and Charcosset, A. 2006. More on the introduction of temperate maize into Europe: large-scale bulk SSR genotyping and new historical elements. *Maydica* 51: 281-291.
- Duvick, D.N. 2005. Genetic progress in yield of United States maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 50: 193-202.
- Dwyer, L.M. and Stewart, D.W. 1986. Leaf area development in field-grown maize. *Agron. J.* 78: 334-343.
- Early, E.B., McIlrath, W.O., Seif, R.D. and Hageman, R.H. 1967. Effects of shade applied at different stages of plant development on corn (*Zea mays* L.) production. *Crop Sci.* 7: 151-156.
- Edreira, J.I.R., Carpici, E.B., Sammarro, D. and Otegui, M.E. 2011. Heat stress effects around flowering on kernel set of temperate and tropical maize hybrids. *Field Crops Res.* 123: 62-73.

- Ellis, R.H., Summerfield, R.J., Edmeades, G.O. and Roberts, E.H. 1992. Photoperiod, temperature, and the interval from sowing to tassel initiation in diverse cultivars of maize. *Crop Sci.* 32: 1225-1232.
- Enoki, H., Miki, K. and Koinuma, K. 2005. Selection of SSR sets in assignment to dent and flint groups of maize inbred lines derived from European hybrids. *Breed. Sci.* 55: 135-140.
- Fischer, K.S., Edmeades, G.O. and Johnson, E.C. 1987. Recurrent selection for reduced tassel branch number and reduced leaf area density above the ear in tropical maize populations. *Crop Sci.* 27: 1150-1156.
- Foyer, C.H., Vanacker, H., Gómez, L.D. and Harbinson, J. 2002. Regulation of photosynthesis and antioxidant metabolism in maize leaves at optimal and chilling temperatures: review. *Plant Physiol. Biochem.* 40: 659-668.
- Fracheboud, Y., Haldimann, P., Leipner, J. and Stamp, P. 1999. Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot.* 50: 1533-1540.
- Frei, O.M. 2000. Changes in yield physiology of corn as a result of breeding in northern Europe. *Maydica* 45: 173-183.
- 藤巻宏 2003. 植物育種原理. 養賢堂, 東京. 112-131.
- Gallais, A. and Coque, M. 2005. Genetic variation and selection for nitrogen use efficiency in maize: a synthesis. *Maydica* 50: 531-547.
- Gouesnard, B., Dallard, J., Bertin, P., Boyat, A. and Charcosset, A. 2005. European maize landraces: genetic diversity, core collection definition and methodology of use. *Maydica* 50: 225-234.
- Greaves, J.A. 1996. Improving suboptimal temperature tolerance in maize —the search

- for variation. *J. Exp. Bot.* 47: 307-323.
- Hall, A. J., Vilella, F., Trapani, N. and Chimenti, C. 1982. The effects of water stress and genotype on the dynamics of pollen-shedding and silking in maize. *Field Crops Res.* 5: 349-363.
- Hayase, H., Satake, T., Nishiyama, I. and Ito, N. 1969. Male sterility caused by cooling treatment at the meiotic stage in rice plants II. The most sensitive stage to cooling and the fertilizing ability of pistils. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* 38: 706-711.
- Herrero, M.P. and Johnson, R.R. 1980. High temperature stress and pollen viability of maize. *Crop Sci.* 20: 796-800.
- Herrero, M.P. and Johnson, R.R. 1981. Drought stress and its effects on maize reproductive systems. *Crop Sci.* 21: 105-110.
- Hicks, D.R., and Thomison, P.R. 2004. Corn management. In C.W. Smith, J. Betrán and E.C.A. Runge eds., Corn: origin, history, technology, and production. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA. 481-522.
- 東谷篤志 2013. 植物の高温障害にみられる雄性不稔の発生メカニズムとオーキシン. 植調 46: 525-533.
- 北海道米麦改良協会 2011. 北海道の米づくり 2011 年版. 北海道米麦改良協会, 札幌. 16-34.
- 北海道農政部 2015. 5 月の営農技術対策. 27 営農技術対策 (3) <http://www.pref.hokkaido.lg.jp/ns/gjf/gijyutu/27/003.pdf> [2013 年 9 月 22 日参照]
- 北海道農政部 2005. 北海道農業生産技術体系 (第 3 版). 北海道農業改良普及協会, 札幌. 348-349.
- 北海道 2011. 北海道酪農・肉用牛生産近代化計画. 15-17.
- 北海道農政部生産振興局畜産振興課 2015. 北海道牧草・飼料作物優良品種一覧. <http://www.pref.hokkaido.lg.jp/ns/tss/feed/siryou.htm> [2015 年 9 月 3 日参照]

- 星川清親 1984. 新編食用作物. 養賢堂, 東京. 126-127.
- Hothorn, T., Bretz, F. and Westfall, P. 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biom. J.* 50: 346-363.
- Intergovernmental panel on climate change (IPCC) 2014. Climate change 2014: synthesis report. Contribution of working groups I, II and III to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [core writing team, Pachauri, R. K. and Meyer, L. A. (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland. 1-151.
- Irish, E. E. and Nelson, T. M. 1991. Identification of multiple stages in the conversion of maize meristems from vegetative to floral development. *Development* 112: 891-898.
- 岩田文男・大久保隆弘 1969. トウモロコシの生育に関する生理生態的研究. 第1報 生育期間の有効積算気温の一定性. 日作紀 38: 91-94.
- 岩田文男 1973. トウモロコシの栽培理論とその実証に関する作物学的研究. 東北農業試験場研究報告 46: 63-129.
- Kiniry, J. R. and Ritchie, J. T. 1985. Shade-sensitive interval of kernel number of maize. *Agron. J.* 77: 711-715.
- 気象庁 (Japan Meteorological Agency) 2015. 過去の気象データ検索.
<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php> [2015年9月3日参照]
- 濃沼圭一・望月昇 1986. ダイアレル分析によるトウモロコシのごま葉枯病抵抗性の遺伝解析. 草地試研報 35: 35-41.
- 濃沼圭一・三浦康男・三木一嘉・榎宏征・佐藤尚・佐藤尚親・山川政明・牧野司・林拓・藤井弘毅・澤田嘉昭 2007a. サイレージ用トウモロコシの根釧地域向け高雌穂重割合品種「ぱぴりか」の育成. 北海道農研研報 186: 1-15.
- 濃沼圭一・三浦康男・佐藤尚・三木一嘉・榎宏征・重盛勲・高宮泰宏 2007b. トウモロコシのプリント種自殖系統「Ho87」の育成とその特性. 北海道農研研報 187: 43-54.

- 濃沼圭一・三木一嘉・榎宏征・佐藤尚・千藤茂行・長谷川寿保・門馬榮秀・高宮泰宏・三好智明・鈴木和織・戸澤英男 2007c. トウモロコシのフrint種自殖系統「To85」の育成とその特性. 北海道農研研報 187: 55-68.
- 濃沼圭一・三木一嘉・榎宏征・斎藤修平・佐藤尚親・出口健三郎・林拓・牧野司 2012a. サイレージ用トウモロコシの根釧・道北地域向き耐倒伏性品種「たちぴりか」の育成. 北海道農研研報 196: 1-16.
- 濃沼圭一・佐藤尚・三木一嘉・榎宏征・斎藤修平・千藤茂行・高宮泰宏・三好智明・鈴木和織 2012b. トウモロコシのフrint種自殖系統「Ho90」の育成とその特性. 北海道農研研報 196: 17-29.
- 根釧農業試験場 1984. 昭和 58 年の異常気象と根釧地方の農作物. 北海道立根釧農業試験場資料第 3 号.
- 根釧農業試験場 2003. 平成 15 年定期作況報告. <http://www.hro.or.jp/list/agricultural/research/konsen/sakyo/15sakyo/konsen-sakyoH15.html> [2015 年 9 月 5 日参照]
- 根釧農業試験場 2008. 平成 20 年普及奨励ならびに指導参考事項, 北海道農政部, 28-29.
- 根釧農業試験場 2013. 平成 25 年普及奨励ならびに指導参考事項, 北海道農政部, 96-98.
- 根釧農業試験場 2015. 平成 27 年定期作況報告. <https://www.hro.or.jp/list/agricultural/research/konsen/sakyo/konsen-sakyo.html> [2015 年 9 月 5 日参照]
- Kubien, D.S. and Sage, R.F. 2004. Low-temperature photosynthetic performance of C_4 grass and a co-occurring C_3 grass native to high latitudes. *Plant Cell Environ.* 27: 907-916.
- Kurihara, K., Ishihara, K., Sasaki, H., Fukuyama, Y., Saitou, H., Takayabu, I., Murazaki, K., Sato, Y., Yukimoto, S. and Noda, A. 2005. Projection of climatic change over Japan due to global warming by high-resolution regional climate model in MRI. *SOLA*

- 1: 97-100.
- 黒木慎 2011. イネ穂ばらみ期耐冷性に関する量的形質遺伝子座の解析. 北海道農研研報 195: 23-55.
- Kurosaki, H., Yumoto, S. and Matsukawa, I. 2003. Pod setting pattern during and after low temperature and the mechanism of cold-weather tolerance at the flowering stage in soybeans. *Plant Prod. Sci.* 6: 247-254.
- 櫛引英男 1979a. サイレージ用トウモロコシ新品種「ワセホマレ」の育成について. 北海道立農試集報 41: 91-103.
- 櫛引英男 1979b. トウモロコシ耐倒伏性の簡易検定法. 北海道立農試集報 42: 21-27.
- 櫛引英男 1979c. 寒冷地におけるサイレージ用トウモロコシの原料生産特性と早晩性品種群の配合に関する研究 III. 各種積算気温の一定性並びに品種群の必要温度. 日草誌 25: 144-149.
- 櫛引英男 1980. 寒冷地におけるサイレージ用トウモロコシの原料生産特性と早晩性品種群の配合に関する研究 V. 単純積算温度有効性の根拠. 日草誌 26: 14-18.
- Lee, S.S. and Estes, G.O. 1982. Corn physiology in short season and low temperature environments. *Agron. J.* 74: 325-331.
- Lejeune, P. and Bernier, G. 1996. Effect of environment on the early steps of ear initiation in maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Environ.* 19: 217-224.
- Lipps, P.E. and Mills, D. 2002. Northern Corn Leaf Blight. Extension Factsheet AC-20-02. The Ohio State University. Columbus, Ohio.
- Luna, S.V., Figueroa, J.M., Baltazar, B.M., Gomez, R.L., Townsend, R. and Schoper, J.B. 2001. Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Sci.* 41: 1551-1557.
- Marocco, A., Lorenzoni, C. and Fracheboud, Y. 2005. Chilling stress in maize. *Maydica*

50: 571-580.

- Marton, C.L. 2005. Improvement of maize chilling tolerance by breeding. *In* D. Jarvis, I. Mar and L. Sears eds., Enhancing the use of crop genetic diversity to manage abiotic stress in agricultural production systems. Proceedings of a workshop. Budapest, Hungary, 23-27 May, 2005. 63-67.
- Maryam, B. and Jones, D.A. 1983. The genetics of maize (*Zea mays* L.) growing at low temperatures. I. Germination of inbred lines and their F₁s. *Euphytica* 32: 535-542.
- 松原重厚・大塚一郎・木下俊郎 1986. コムギの細胞質雄性不稔性と稔性回復における環境変異性. 北大農邦文紀要 15: 84-92.
- Maulana, F. and Tesso, T.T. 2013. Cold temperature episode at seedling and flowering stages reduces growth and yield components in sorghum. *Crop Sci.* 53: 564-574.
- Mock, J.J. and Frey, K.J. 1970. Leaf number —An index of meiosis in corn (*Zea mays* L.). *Crop Sci.* 10: 659-661.
- Mock, J.J. and McNeill, M.J. 1979. Cold tolerance of maize inbred lines adapted to various latitudes in North America. *Crop Sci.* 19: 239-242.
- Moreno-González, J., Martínez, I., Brichette, I., López, A. and Castro, P. 2000. Breeding potential of European flint and U.S. Corn Belt dent maize populations for forage use. *Crop Sci.* 40: 1588-1595.
- Moss, G.I. and Heslop-Harrison, J. 1968. Photoperiod and pollen sterility in maize. *Ann. Bot.* 32: 833-846.
- Naidu, S.L., Moose, S.P., AL-Shoaibi, A.K., Raines, C.A. and Long, S.P. 2003. Cold tolerance of C₄ photosynthesis in *Miscanthus* × *giganteus*: adaptation in amounts and sequence of C₄ photosynthetic enzymes. *Plant Physiol.* 132: 1688-1697.
- 中澤港 2009. Dunnett の多重比較を R で実行する方法. <http://minato.sip21c.org/>

- medstat/how-to-multcomp.pdf [2015 年 11 月 17 日参照]
- 名久井忠・野中和久・原槇一郎・篠田満 1995. 寒地における水崩壊性マルチ資材利用が飼料用トウモロコシの生育並びに TDN 収量に及ぼす影響. 北農試研報 161: 73-80.
- 西村実 1995. 北海道イネ品種の穂ばらみ期耐冷性の遺伝. 育雑 45: 479-485.
- 農林水産省 2015a. 世界の穀物需給及び価格の推移. http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/jki/j_zyukyu_kakaku/ [2015 年 12 月 25 日参照]
- 農林水産省 2015b. 作物統計 飼料作物の収穫量（全国農業地域別・都道府県別）－青刈りとうもろこし. <http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/menseki/index.html> [2015 年 12 月 26 日参照]
- Ohnishi, S., Miyoshi, T. and Shirai, S. 2010. Low temperature stress at different flower developmental stages affects pollen development, pollination, and pod set in soybean. *Environ. Exp. Bot.* 69: 56-62.
- Oliver, S.N., Van Dongen, J.T., Alfred, S.C., Mamun, E.M., Zhao, X., Saini, H.S., Fernandes, S.F., Blanchard, C.L., Sutton, B.G., Geigenberger, P., Dennis, E.S. and Dolferus, R. 2005. Cold-induced repression of the rice anther-specific cell wall invertase gene *OSINV4* is correlated with sucrose accumulation and pollen sterility. *Plant Cell Environ.* 28: 1534-1551.
- Padilla, J.M. and Otegui, M.E. 2005. Co-ordination between leaf initiation and leaf appearance in field-grown maize (*Zea mays*): genotypic differences in response of rates to temperature. *Ann. Bot.* 96: 997-1007.
- Qian, C.M., Xu, A. and Liang, G.H. 1986. Effects of low temperatures and genotypes on pollen development in wheat. *Crop Sci.* 26: 43-46.
- Ranum, P., Peña-Rosas, J.P., Garcia-Casal, M.N. 2014. Global maize production, utilization and consumption. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1312: 105-112.

- Revilla, P., Malvar, R.A., Cartea, M.E., Butron, A. and Ordas, A. 2000. Inheritance of cold tolerance at emergence and during early season growth in maize. *Crop Sci.* 40: 1579-1585.
- Revilla, P., Hotchkiss, J.R. and Tracy, W.F. 2003. Cold tolerance evaluation in a diallel among open-pollinated sweet corn cultivars. *HortScience* 38: 88-91.
- Ritchie, S.W., Hanway, J.J., Benson, G.O. 1993. How a corn plant develops. Iowa State University of Science and Technology—Cooperative extension service, Ames, Iowa.
- Saini, H.S., Sedgley, M. and Aspinall, D. 1984. Developmental anatomy in wheat of male sterility induced by heat stress, water deficit or abscisic acid. *Aust. J. Plant Physiol.* 11: 243-253.
- Saito, M., Yamamoto, T., Goto, K. and Hashimoto, K. 1970. The influence of cool temperature before and after anthesis, on pod-setting and nutrients in soybean plants. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* 39: 511-519.
- Sakata, T., Oda, S. Tsunaga, Y., Shomura, H., Kawagishi-Kobayashi, M., Aya, K., Saeki, K., Endo, T., Nagano, K., Kojima, M., Sakakibara, H., Watanabe, M., Matsuoka, M. and Higashitani, A. 2014. Reduction of gibberellin by low temperature disrupts pollen development in rice. *Plant Physiol.* 164: 2011-2019.
- Sanghera, G.S., Wani, S.H., Hussain, W. and Singh, N.B. 2011. Engineering cold stress tolerance in crop plants. *Curr. Genomics* 12: 30-43.
- 佐々木一男・和田定 1975. イネの障害型耐冷性検定方法に関する一改善案について. 育雑 25: 13-16.
- Sass, J.E. and Loeffel, F.A. 1959. Development of axillary buds in maize in relation to barrenness. *Agron. J.* 51: 484-486.
- Satake, T., Nishiyama, I., Ito, N. and Hayase, H. 1969. Male sterility caused by cooling

- treatment at the meiotic stage in rice plants. I. Methods of growing rice plants and inducing sterility in the phytotron. *Proc. J. Crop Sci. Japan* 38: 603-609.
- Satake, T. and Hayase, H. 1970. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. V. Estimations of pollen developmental stage and the most sensitive stage to coolness. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* 39: 468-473.
- Satake, T. and Koike, S. 1983. Sterility caused by cooling treatment at the flowering stage in rice plants. I. The stage and organ susceptible to cool temperature. *Jpn. J. Crop Sci.* 52: 207-214.
- Satake, T., Lee, S.Y., Koike, S. and Kariya, K. 1988. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXVIII. Prevention of cool injury with the newly devised water management practices—effects of the temperature and depth of water before the critical stage. *Jpn. J. Crop Sci.* 57: 234-241.
- Satake, T. 1991. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. XXX. Relation between fertilization and the number of engorged pollen grains among spikelets cooled at different pollen developmental stages. *Jpn. J. Crop Sci.* 60: 523-528.
- 佐藤尚・濃沼圭一・榎宏征 2001. 1999 年の札幌でみられたトウモロコシの不稔発生程度の品種・系統間差異. 北草研報 35: 14-21.
- 佐藤公一・玉置宏之・足利和紀・田中常喜 2007. とうもろこし(サイレージ用)新品種「LG3215」. 北農 74: 146.
- Săulescu, N.N. and Braun, H. J. 2001. Cold tolerance. *In* M. P. Reynolds, J. I. Ortiz-Monasterio and A. McNab eds., Application of physiology in wheat breeding, CIMMYT, Mexico, D.F. 111-123.
- Schmid, J. and Keller, E. R. 1980. The behavior of three cold-tolerant and a standard

- soybean variety in relation to the level and the duration of a cold stress. *Can. J. Plant Sci.* 60: 821-829.
- Schooper, J.B., Lambert, R.J. and Vasilas, B.L. 1986. Maize pollen viability and ear receptivity under water and high temperature stress. *Crop Sci.* 26: 1029-1033.
- 千藤茂行・鈴木和織・三好智明 1995. トウモロコシの雌穂の生育と収量に及ぼすアブラムシの影響とその品種間差異. 北草研報 29: 51-54.
- 島田尚典 1997. アズキの障害型耐冷性の品種間差異. 東北農業研究 50: 83-84.
- Shaw, R.H. 1988. Climate requirement. In G.F. Sprague and J.W. Dudley eds., Corn and corn improvement, third edition. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 609-638.
- 下野裕之 2008. 地球温暖化が北日本のイネの収量変動に及ぼす影響. 日作紀 77: 489-497.
- Skibbe, D.S. and Schnable, P.S. 2005. Male sterility in maize. *Maydica* 50: 367-376.
- Sowiński, P., Rudzińska-Langwald, A., Adamczyk, J., Kubica, I. and Fronk, J. 2005. Recovery of maize seedling growth, development and photosynthetic efficiency after initial growth at low temperature. *J. Plant Physiol.* 162: 67-80.
- Stewart, D.W. and Dwyer, L.M. 1994. Appearance time, expansion rate and expansion duration for leaves of field-grown maize (*Zea mays* L.). *Can. J. Plant Sci.* 74: 31-36.
- Stinson, H.T. and Moss, D.N. 1960. Some effects of shade upon corn hybrids tolerant and intolerant of dense planting. *Agron. J.* 52: 482-484.
- 高田寛之・山川政明 2009. トウモロコシ栽培の北限はどのあたりか？－育種による限界地帯の北上－. 畜産の研究 63: 1069-1071.
- 高宮泰宏・千藤茂行 2000. トウモロコシすす紋病圃場抵抗性の自殖系統間差異と遺伝解析. 北海道立農試集報 78: 59-67.
- 田村良文・竹澤邦夫・金野隆光・小野祐幸・清野裕・門馬栄秀 1989. ノンパラメトリック法を用いた温度影響評価によるトウモロコシの絹糸抽出期予測. 日作紀 58: 48-54.

- 丹野久・木下雅文・木内均・平山裕治・菊地治己 2000. 北海道水稻品種における開花期耐冷性の評価およびその穂ばらみ期耐冷性との関係について. 日作紀 69: 493-499.
- テイツ, L.・ザイガー, E. 2004. 植物生理学 第3版. 西谷和彦・島崎研一郎監訳. 培風館, 東京, 154-158.
- Thakur, P., Kumar, S., Malik, J.A., Berger, J.D. and Nayyar, H. 2010. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: an overview. *Environ. Exp. Bot.* 67: 429-443.
- 戸蒔哲郎・山川政明・出口健三郎・寺見裕 2013. とうもろこし(サイレージ用)新品種「ソリード Anjou227 (HE91003)」。北農 80: 169.
- 十勝農業試験場 1982. とうもろこし. 昭和56年の異常気象と十勝の畑作物. 北海道立十勝農業試験場資料 7: 14-21.
- Tollenaar, M., Daynard, T.B. and Hunter, R.B. 1979. Effect of temperature on rate of leaf appearance and flowering date in maize. *Crop Sci.* 19: 363-366.
- 戸澤英男・長谷川寿保 1983. 異常低温年におけるトウモロコシの積算温度の一定性. 北海道立農試集報 50: 25-33.
- 戸澤英男 2005. トウモロコシ—歴史・文化, 特性・栽培, 加工・利用—. 農山漁村文化協会, 東京. 1-396.
- Tranel, D., Perdomo, A. and Knapp, A. 2008. Tassel development events leading to pollen production: a timeline. *Maydica* 53: 207-216.
- Tranel, D., Knapp, A. and Perdomo, A. 2009. Chilling effects during maize tassel development and the lack of compensational plasticity. *Crop Sci.* 49: 1852-1858.
- Troyer, A.F. 2004. Persistent and popular germplasm in seventy centuries of corn evolution. In C.W.Smith, J.Betrán and E.C.A.Runge eds., Corn: origin, history, technology, and production. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA.

133-231.

Uribeharrea, M., Cárcova, J., Otegui, M.E. and Westgate, M.E. 2002. Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. *Crop Sci.* 42: 1910-1918.

USDA (United States Department of Agriculture) ERS (Economic Research Service) 2015. Corn: Background. <http://www.ers.usda.gov/topics/crops/corn/background.aspx> [2015 年 9 月 20 日参照].

USDA (United States Department of Agriculture) FAS (Foreign Agricultural Service) 2015. Production, supply and distribution online. <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/> [2015 年 11 月 28 日参照].

Warrington I.J. and Kanemasu, E.T. 1983. Corn growth response to temperature and photoperiod I. Seedling emergence, tassel initiation, and anthesis. *Agron. J.* 75: 749-766.

Watson, S.A. 1988. Corn marketing, processing, and utilization. In G.F. Sprague and J.W. Dudley eds., Corn and corn improvement, third edition. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 881-940.

Westgate, M.E., Lizaso, J. and Batchelor, W. 2003. Quantitative relationships between pollen shed density and grain yield in maize. *Crop Sci.* 43: 934-942.

Westgate, M.E., Otegui, M.E. and Andrade, F.H. 2004. Physiology of the corn plant. In C.W. Smith, J. Betrán and E.C.A. Runge eds., Corn: origin, history, technology, and production. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA. 235-271.

Wilkes, G. 2004. Corn, strange and marvelous: but is a definitive origin known? In C.W. Smith, J. Betrán and E.C.A. Runge eds., Corn: origin, history, technology, and production. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA. 3-63.

Woolley, D.G., Baracco, N.P. and Russell, W.A. 1962. Performance of four corn inbreds

in single-cross hybrids as influenced by plant density and spacing patterns. *Crop Sci.* 2: 441-444.

吉田昌幸・井内浩幸・飯田憲司 2006. とうもろこし（サイレージ用）新品種「デュカス」.
北農 73: 169

Zinn, K.E., Tunc-Ozdemir, M. and Harper, J.F. 2010. Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. *J. Exp. Bot.* 61: 1959-1968.

謝 辞

本稿を取りまとめるにあたり，終始親身なご指導とご校閲をいただいた北海道大学大学院農学研究院特任教授の岩間和人農学博士に深謝する．また，ご校閲の労をいただいた北海道大学大学院農学研究院教授の貴島祐治農学博士，北海道大学北方生物圏フィールド科学センター教授の山田敏彦農学博士，および北海道大学大学院農学研究院助教の中島大賢農学博士に深謝する．

本研究での供試材料を快く分譲いただいた，独立行政法人農業・食品産業総合研究機構北海道農業研究センター上席研究員（当時）の濃沼圭一農学博士に感謝申し上げます．また，供試材料の遺伝背景情報を詳細に調べていただくとともに，本稿のトウモロコシの低温感受性に関する遺伝様式に関し懇切なコメントをいただいた国立研究開発法人農業・食品産業総合研究機構北海道農業研究センター上席研究員の佐藤尚氏に感謝申し上げます．

2003年に根釧地域でトウモロコシの開花異常に気付いた際，圃場調査に便宜を図ってくださった北海道根室農業改良普及センターおよび北海道釧路農業改良普及センターの職員のみなさまに，深く感謝する．あわせて，2003年当時，調査の必要性をご理解いただき，普及センターとの調整にご尽力いただいた北海道立根釧農業試験場技術普及部次長（当時）の山川政明農学博士に感謝申し上げます．また，本研究のきっかけを与えていただいた北海道立総合研究機構根釧農業試験場（根釧農試）研究部飼料環境グループ研究主幹の佐藤尚親氏，および私に論文執筆のきっかけを与えていただいた北海道立総合研究機構畜産試験場基盤研究部飼料環境グループ主査の出口健三郎氏に感謝申し上げます．

本研究の取りまとめ前に激励をいただき，その後も随時真摯なご指導をいただいた，元拓殖大学北海道短期大学教授の佐竹徹夫農学博士に深謝する．

本研究の大部分は，農林水産省委託プロジェクト「えさプロ」および「国産飼料プロ」にて実施した．研究の推進を支えていただいたプロジェクトの関係諸氏に，厚くお礼申し上げます．

る.

2003 年から直近まで根釧農試研究部歴代の作物科長・主査であった方々には、研究の円滑な遂行を支えていただくとともに、懇切なご指導とご校閲をいただいた。根釧農試研究部作物科（現飼料環境グループ）の長年の同僚である研究主任牧野司氏には、随時相談にのっていただき、その都度的確なご意見をいただいた。根釧農試研究部飼料環境グループ主任の鼻和美明氏には、ポット試験で用いる土の調製に多大なご協力をいただいた。根釧農試研究部作物科（現飼料環境グループ）の契約職員のみなさまには、ポットへの土詰めや試験後の片付けのため大変な労力をおかけした。以上の関係された各位に、篤くお礼申し上げる。

最後に、私の仕事を理解し、試験開始当時から休日や早朝の作業を毎回のように手伝ってくれた妻に、感謝の気持ちをささげる。

摘 要

夏季寒冷によりトウモロコシの栽培限界地帯である北海道の根釧地域において、冷害年だった 2003 年に著しい子実不稔害が発生した。しかし、トウモロコシにおいては低温に関連づけられる不稔害の報告例は見あたらない。本研究では、低温に起因するトウモロコシ子実不稔害の発生を避けるため、2003 年の北海道根釧地域における子実不稔害についてその原因および品種間差異を明らかにするとともに、品種間差異の検出法および遺伝的背景を考察した。

1. 2003 年に北海道根釧地域で発生した子実不稔の発生要因

2003 年に子実不稔が起きたトウモロコシ圃場では、雄穂に小穂が付かないという雄穂形態異常がみられたほか、雄穂開花期が絹糸抽出期より大幅に遅れるという開花特性異常がみられた。2003 年の根釧地域では、トウモロコシの 6-9 葉期頃にあたる 7 月に 13 °C 以下の日が 3 週間程度続いていたため、この厳しい低温条件が不稔の原因であったと考えた。

2003 年に不稔が多発した品種「39B29」を用い、ポット条件にて低温処理試験（6-9 葉期の各葉期に 10 °C で 7 日間処理）を行ったところ、8 葉期頃に処理された個体で雄穂長の無処理個体平均比（以下、雄穂長比とする）が小さくなり、また雄穂開花期と絹糸抽出期との差が大きくなる傾向がみられた。同品種にて 8 葉期に 13 °C で 15 日間または 21 日間処理したところ、2003 年に圃場でみられたのと同程度の雄穂形態異常および開花特性異常が再現された。雄穂小穂が着生しないということは花粉飛散量の低下を意味し、雄穂開花が絹糸抽出より大きく遅れるということは受粉不良の発生を意味するとともに雄性不稔現象が発生していたことを意味すると考えられた。8 葉期の雄穂は、主軸上で小穂が形態的な分化を完了しており、枝梗では形態的な分化の途中という状態であった。

以上から、2003 年に北海道根釧地域で発生した子実不稔は、トウモロコシが雄穂発達期である 8 葉期頃に厳しい低温条件に遭遇したことにより雄穂が発達不全を起こしたことが原因であると結論づけた。本研究では、この現象を雄穂発達期の低温感受性と呼ぶ。

2. 雄穂発達期の低温感受性に関する品種間差異

2003 年に根釧地域で観察された子実不稔、雄穂形態異常および開花特性異常の発生状況には品種による違いがあった。すなわち、「39B29」では前述のとおり不稔その他の異常が発生したのに対し、「ぱびりか」では不稔は発生せず、雄穂形態または開花特性の異常も観察されなかった。

7 葉期および 8 葉期に個体を解剖したところ、「39B29」の 8 葉期の雄穂主軸長は「ぱびりか」の 7 葉期の雄穂主軸長と同程度（40 mm 前後）であり、両品種はこれらの生育ステージに同一の雄穂発達段階にあったと考えられた。なお、「ぱびりか」の 7 葉期および「39B29」の 8 葉期は、雄穂開花前の単純積算気温で表すと 500–600 °C の時期であった。

ポット条件にて 6–9 葉期の各葉期に 10 °C で 7 日間低温処理を行ったところ、「ぱびりか」ではいずれの時期の処理によっても雄穂形態および開花特性に異常が発生しなかったことから、雄穂発達期の低温感受性には品種間差異があると結論づけた。

雄穂発達期における低温感受性の品種間差異は、6–9 葉期にかけて 1 葉期ごとに 10 °C で 7 日間低温処理した際の雄穂長比によく表れた。雄穂長比の最低値（供試 3 カ年の平均値）は「39B29」では 8 葉期の処理で得られた 54% となったが、「ぱびりか」では 7 葉期を含むいずれの低温処理によっても雄穂長比はほとんど低下せず、雄穂長比の最低値（3 カ年平均値）は 76% であった。なお、ポット試験では処理外の環境要因が雄穂長比に作用すると考えられる場合があったため、試験は複数年行うべきと考えられた。

本試験の結果から、ポット条件にて品種ごとの雄穂発達期の低温感受性を推定する方法を次のとおり策定した：（ア）10 °C 7 日間の低温処理を、雄穂開花までの単純積算気温が 500

－600℃前後，あるいは雄穂主軸長が 40 mm 前後の複数時期に施し，その結果の雄穂長比を比較検討する，（イ）この処理の結果，雄穂長比の最低値が 80%程度にとどまる品種は 2003 年のような低温に対する感受性が小さく，同じく 60%程度にまで減少する品種は低温に対する感受性が大きいものと推定する，（ウ）試験は複数年行う．

3. 雄穂発達期の低温感受性が小さな品種の開発

既存の RM73－80 日クラスの品種を用い，上述の方法で雄穂発達期の低温感受性を推定したところ，供試品種のうち感受性が小さいと推定された品種が海外からの導入品種を含め複数見出された．低温感受性が小さいと推定された品種は，いずれもフリント種自殖系統同士の交雑品種であった．フリント種はデント種に比べて概して早生で先の低温条件下での初期生育が良好であることなどから，フリント種の持つ寒冷地への適応性の高さが交雑品種における雄穂発達期の低温感受性を小さくしたものと推察した．

北海道内育成の交雑系統 15 系統（7 自殖系統に由来）を用いて雄穂発達期の低温感受性を推定したところ（ただし試験は 1 カ年のみ），ここでもフリント種同士の交雑系統で低温感受性が小さいことが示された．親自殖系統ごとに交雑系統の低温感受性を比較検討したところ，その遺伝様式には特定組合せ能力および一般組合せ能力ともに関係している可能性が示唆された．なお，本試験では交雑系統のみを供試したこと，また対象とした形質の評価値が階級数の少ない離散型変数であることから，組合せ能力の推定は可能性の示唆にとどまった．

寒冷地におけるトウモロコシ栽培では，雄穂発達期の低温感受性の大きさに起因する子実不稔害に注意が必要であることが明らかとなった．こうした地域では，限られた作期を最大限活用する必要があるため，低温になりやすい時期を避けるような栽培法は選択できない．そのため品種選定面からの対策が重要となるが，本研究では雄穂発達期の低温感受性には遺伝子型間で差異があることを明らかにした．ゆえに，子実不稔害は低温感受性が小さな品種

を選定し利用することで回避できると考えられる。雄穂発達期の低温感受性が小さな品種は、本試験で示した手法により選別できる。低温感受性が小さな品種はフリント種自殖系統同士の交雑系統として育成可能と考えられた。また、低温感受性に関する遺伝様式には特定組合せ能力および一般組合せ能力がともに関係している可能性が示唆された。以上の研究成果は、雄穂発達期の低温感受性が小さな品種の必要性を示すとともに、低温感受性が小さな品種の効率的な育成に向けた知見を提供するものとする。

Studies on the Sensitivity to the Low Temperature Stress during the Tassel Development Stage in Hybrid Maize

Taku HAYASHI

Summary

Maize (*Zea mays* L.) is widely grown in the Konsen region in Hokkaido, one of the coldest areas in Japan, despite climatic conditions characterized by cool summers and a short growing season. In 2003, a year with a very cool summer, severe barrenness of maize occurred in farmers' fields in the Konsen region. However, no barrenness associated with low temperatures was reported in hybrid maize. This study attempted to clarify the causes of barrenness in maize in the Konsen region in 2003 and to highlight the effects of genotypic differences on the occurrence of barrenness.

1. The cause of barrenness in the Konsen region in 2003

The occurrence of barrenness in 2003 appeared to be caused by a failure of pollination. It was significant that, in 2003, anthesis delayed from silking and that tassel length reduced (number of spikelets decreased). The climatic conditions in the summer of 2003 in the Konsen region were characterized by continued cool and cloudy days in July (with temperatures around 13 °C for nearly 3 weeks), when maize plants were at or near the 8-leaf stage (LS).

Greenhouse experiments were conducted to examine the effects of low air temperature and low solar radiation from the 6- to 9-LS on tassel development using the most common cultivar in the Konsen region in 2003 ('39B29': a dent × flint hybrid with a relative maturity

of 75 days). A low-temperature treatment of 10 °C for 7 d, begun at the 8-LS, resulted in a reduction in tassel length and an increase in the anthesis–silking interval. When the plants at the 8-LS were subjected to 13 °C treatment for 15 d or 21 d, the reduction in tassel length and the delay of anthesis relative to silking were nearly equal to those observed in the field in 2003.

The long anthesis–silking interval leads to the failure of pollination. The delay of anthesis relative to silking suggests the occurrence of male sterility. In addition, the reduction of spikelets directly affects the amount of pollen shed. The tassels of ‘39B29’ at the 8-LS were under developing as most of the spikelets on the main axis appeared to be developed and those on the tassel branches did not. Based on the above, the cause of barrenness in the Konsen region in 2003 considered as the failure of tassel development due to the severe low temperature and low solar radiation during the tassel development stage (around the 8-LS of maize plants).

2. Varietal differences in low-temperature sensitivity during the tassel development stage

In the cultivar ‘39B29’, severe barrenness, delay of anthesis from silking, and reduced tassel length were observed in the field in the Konsen region in 2003. In contrast, in the cultivar ‘Papirika’ (a flint × flint hybrid with a relative maturity of 75 days), such abnormalities were not observed in the field in 2003, nor the low-temperature treatment that simulated the field conditions of 2003 (13 °C for 15 or 21 d starting at the 8-LS). However, the 8-LS in ‘Papirika’ might not be the most sensitive stage. The maximum leaf number was smaller in ‘Papirika’ than in ‘39B29’, suggesting that ‘Papirika’ reaches the sensitive stage earlier than cultivar ‘39B29’.

The length of the central axis of the tassel in ‘Papirika’ at the 7-LS was similar to that of ‘39B29’ at the 8-LS. Thus, ‘Papirika’ was assumed to be at the same developmental stage at the 7-LS as was the ‘39B29’ at the 8-LS. This stage was represented by the accumulated temperature of 500–600 °C from the beginning date of the low-temperature treatment to the anthesis date.

Since the effects on all cultivars of the first treatment described above (10 °C for 7 d between the 6-LS and 9-LS) coincided with the varietal differences in the field in 2003, this treatment is considered suitable for estimating the varietal differences in low-temperature sensitivity. The results showed that, on average over three test years, the lowest value of relative tassel length (RTL, the ratio of total tassel length of the treated plants to that of the control plants) was approximately 54 in the plants treated at the 8-LS in ‘39B29’ and 76 in the plants treated between the 7- and 8-LS in ‘Papirika’. However, it was considered that the low-temperature treatment needed to be conducted over several years because it was suggested that unexpected environmental conditions could affect the final tassel length of pot-raised plants.

The present study showed that there is a varietal difference in the sensitivity to low-temperature stress during the tassel development stage, and that this sensitivity can be estimated by the following procedure. First, subject cultivars to a low-temperature treatment of 10 °C for 7 d starting (a) at 6- to 9-LS, (b) when accumulated temperature to the anthesis period is 500–600 °C, or (c) when the length of the central axis of the tassel is approximately 40 mm. Next, repeat the procedure for more than two years. Finally, assume that cultivars with tassel lengths more than 80% of the lengths of untreated control plants are less sensitive, while cultivars with tassel lengths less than 60% of the lengths of untreated control plants are sensitive.

3. Developing a variety with low sensitivity to low-temperature stress during the tassel development stage

Sensitivity to low-temperature stress during the tassel development stage varied among currently distributed cultivars. The cultivars with low sensitivity were the hybrids between flint inbreds in common. The flint genotype generally shows better adaptability to regions with cool summers compared to the dent genotype (i.e., earlier maturity and better seedling growth). Thus, it is considered that a favorable genetic background in flint genotypes, providing characteristics such as adaptability to regions with cool summers, may be the cause of the lower sensitivity to low-temperature stress during the tassel development stage in the hybrids between flint inbreds.

During estimation of the sensitivity to low-temperature stress of the test-cross hybrids whose parental inbreds were known, the hybrids of flint inbreds were classified as having low-sensitivity to the low-temperature stress during the tassel development stage. In addition, our results suggested that both general combining ability and specific combining ability are involved in low-temperature sensitivity in maize inbreds. However, this could not be explored in depth because only a small number of hybrids were tested.

The present study revealed that low-temperature stress during the tassel development stage led to barrenness in maize hybrids. To prevent the occurrence of barrenness in the regions with cool summers, using less-sensitive cultivars is the best approach because other tactics are not applicable in the field. The results suggested that varietal differences exist in the sensitivity to low-temperature stress during the tassel development stage. Thus, it can be said that farmers in regions with cool summers should use less-sensitive cultivars. Less-sensitive

cultivars may be obtained by performing crosses between flint inbreds. In addition, for low-temperature sensitivity, it is suggested that both general combining ability and specific combining ability will be involved in occurrence of low-temperature sensitivity in maize inbreds. It is expected that a large number of less-sensitive cultivars will be developed and distributed to regions with cool summers.

付図 (Appendix)

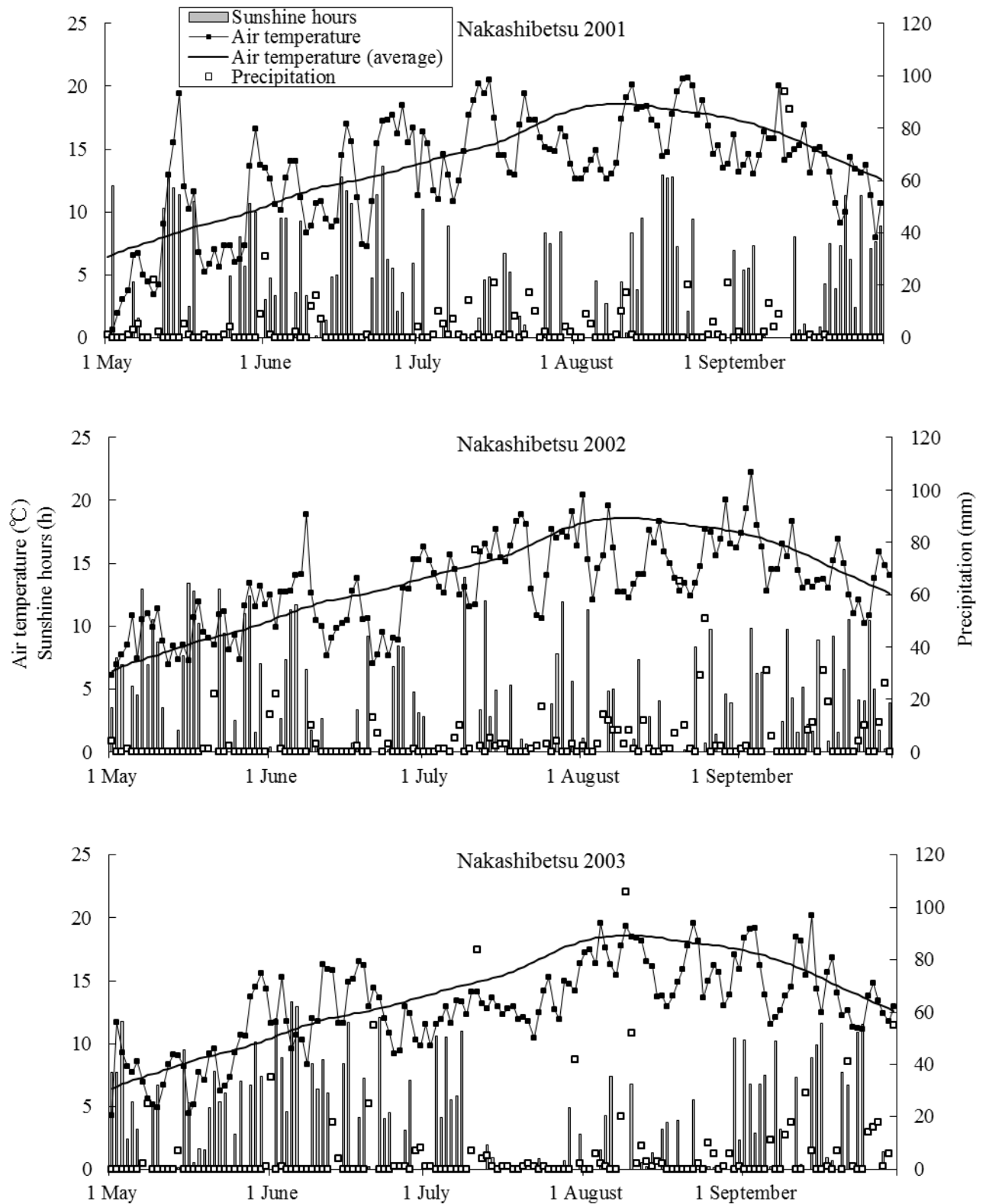


Figure A-1. Daily mean air temperature, sunshine hours and precipitation from 1 May to 30 September in Nakashibetsu in 2001-2003. Average data are the averages of 1980-2010.

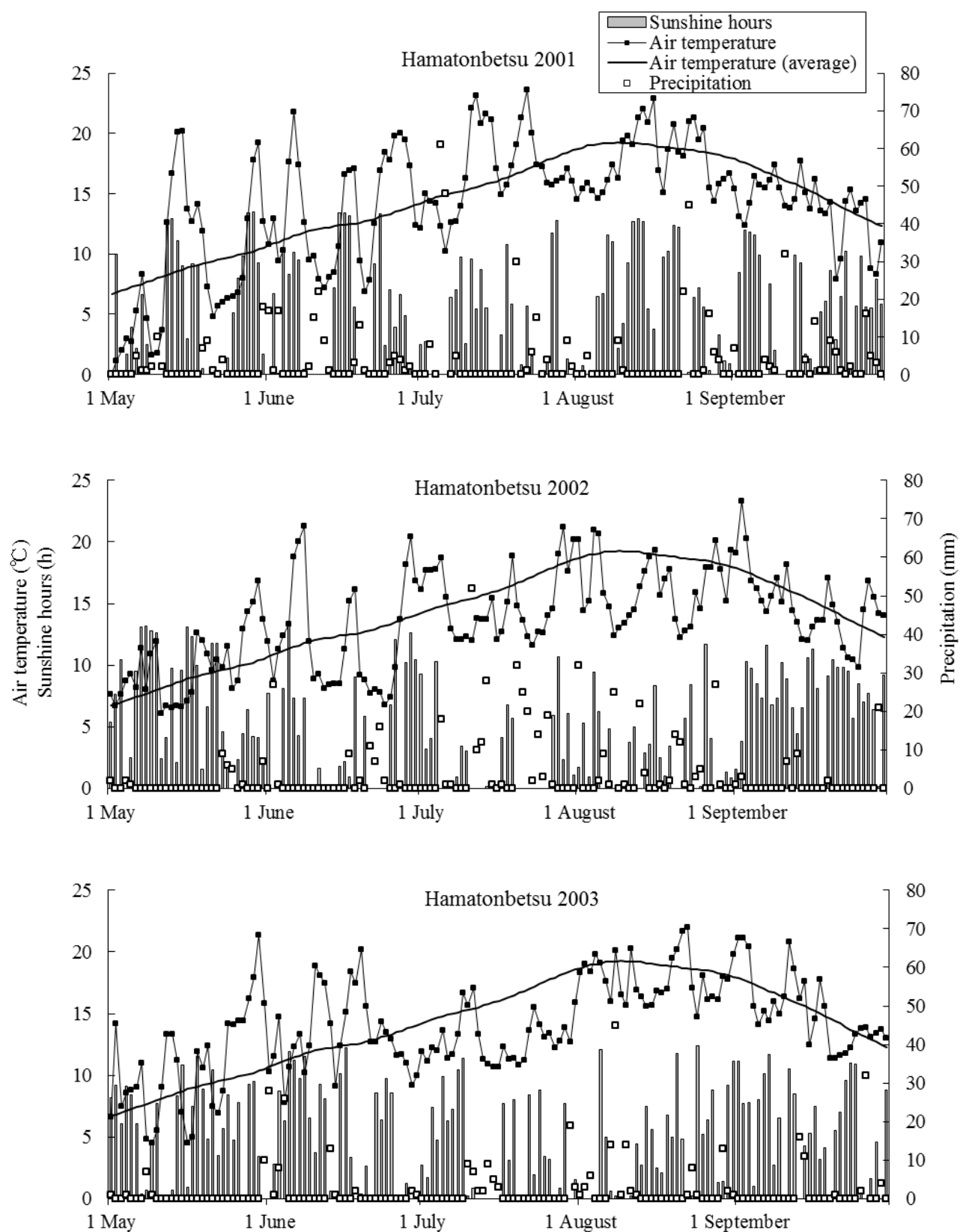


Figure A—2. Daily mean air temperature, sunshine hours and precipitation from 1 May to 30 September in Hamatonbetsu in 2001-2003. Average data are the averages of 1980-2010.

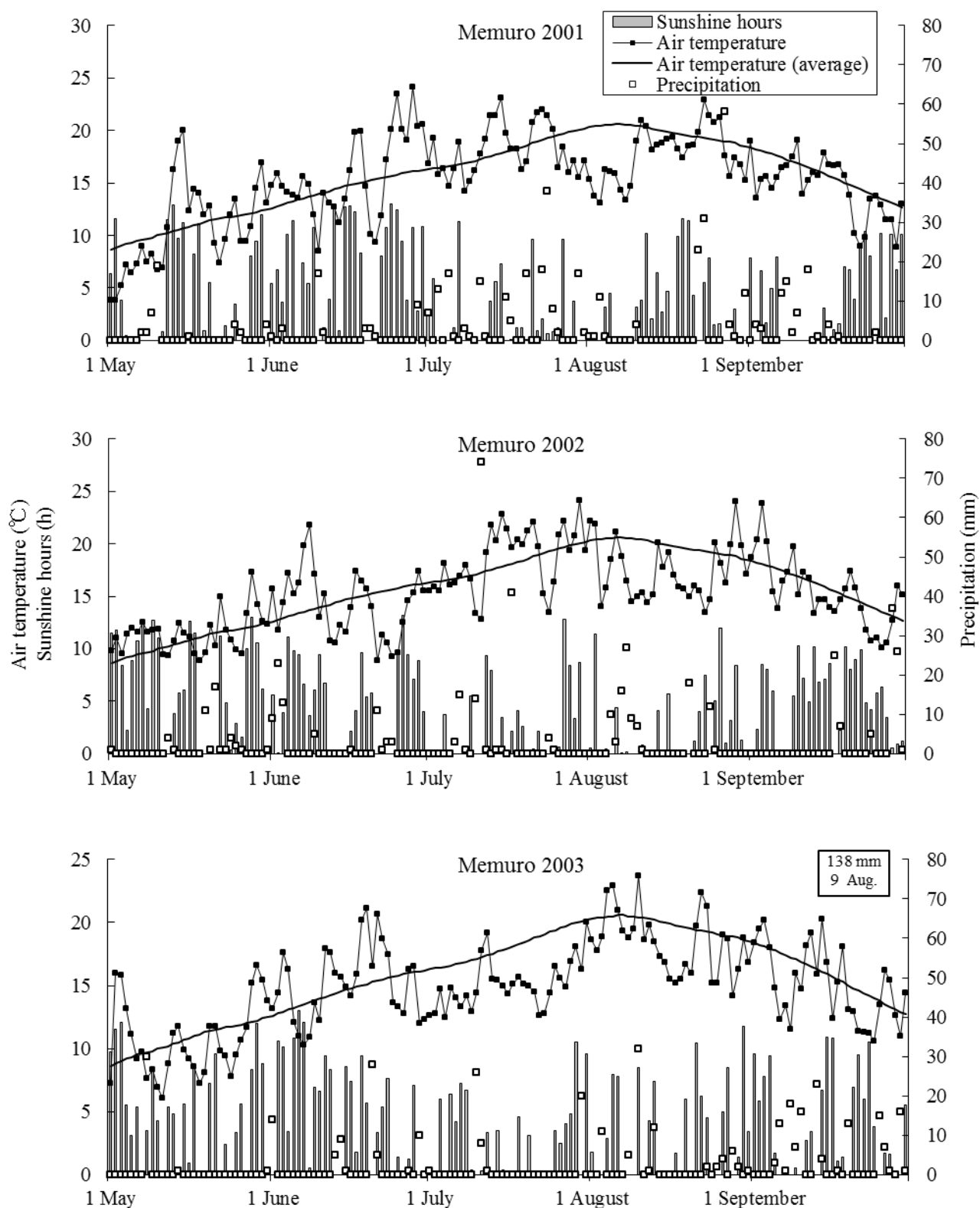


Figure A—3. Daily mean air temperature, sunshine hours and precipitation from 1 May to 30 September in Memuro in 2001-2003. Average data are the averages of 1980-2010.

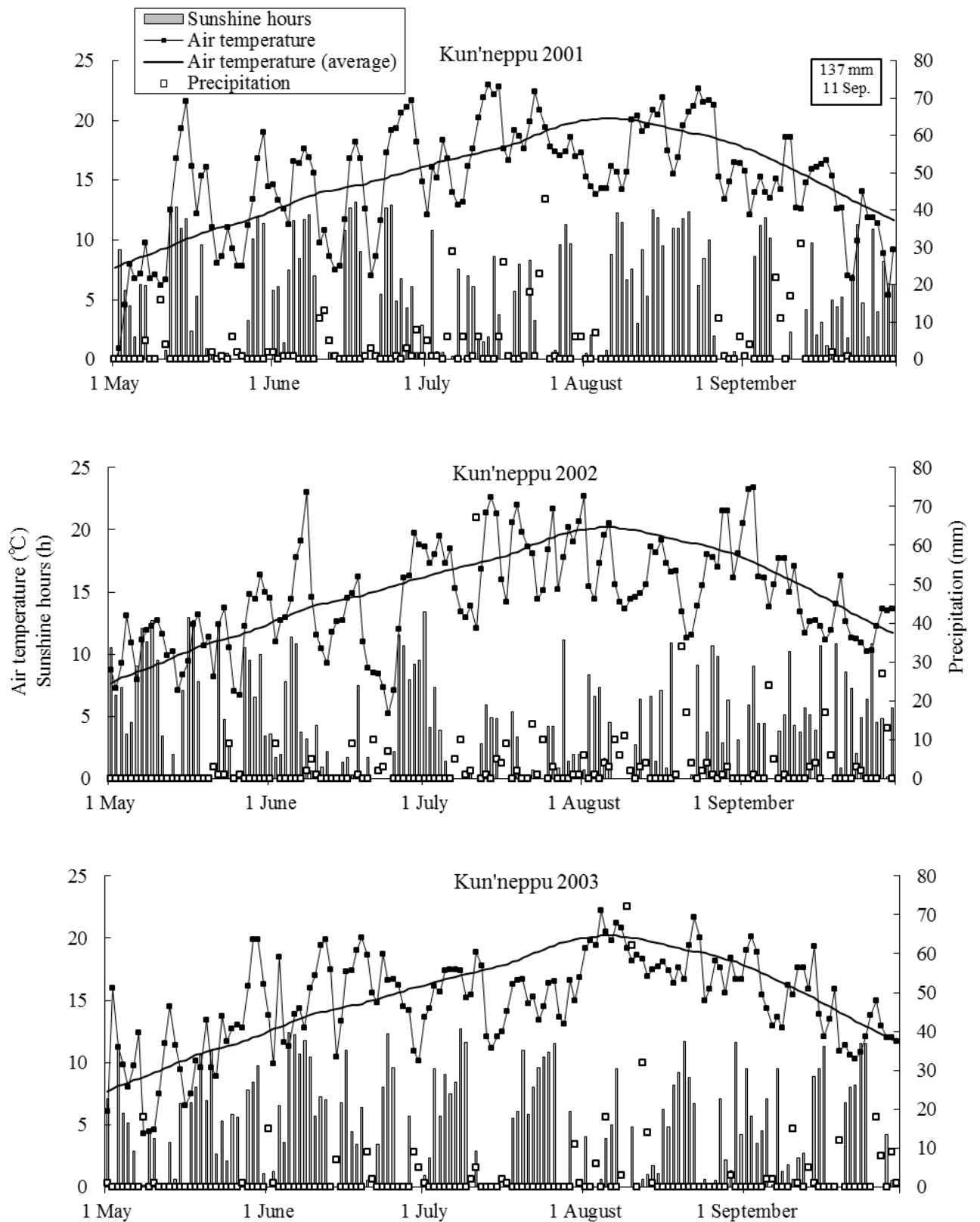


Figure A-4. Daily mean air temperature, sunshine hours and precipitation from 1 May to 30 September in Kun'neppu (observed at Sakaino AMeDAS station) in 2001-2003. Average data are the averages of 1980-2010.