

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「環境変動に対する植物の頑健性の解明
と応用に向けた基盤技術の創出」
研究課題「ROOTomics を利用した環境レジリエント
作物の創出」

研究終了報告書

研究期間 2017年10月～2024年03月

研究代表者：宇賀 優作
（農業・食品産業技術総合研究機構
作物研究部門作物デザイン研究領域
グループ長）

§ 1 研究実施の概要

(1)実施概要

本研究では、X 線 CT を用いた根系非破壊解析技術の開発を通し、根系を含めた植物全体の表現型解析および遺伝子発現解析からオミクスデータ (ROOTomics) を取得する。これらデータから環境ストレス (干ばつや高温ストレスなど) に頑健な根系モデルやストレスバイオマーカーを開発する。本目標を達成するため、本研究期間ではイネを単子葉作物のモデルとして、以下 4 つの課題を実施し、成果を得た。X 線 CT を活用した新たな根圏領域の可視化技術の開発を目標として、1 年間研究期間を延長し、畑の土壌を模したポット栽培条件下でのダイズ根系の可視化プログラムの開発ならびに、X 線 CT と二次元酸素オプトードを用いたイネ根系の土壌酸化能非破壊可視化技術の開発を実施した。

課題1) 根系の 3 次元非破壊計測プラットフォームの開発

1. 自然環境の干ばつを再現した自動灌水制御システムの開発

底面灌水による土壌水分の制御機構やX線CT撮影に強靱な土壌水分センサなどを設計・開発した(七タグループ)。つぎに、開発した装置の頑健性を検証し、栽培プラットフォームとしてのパイプラインを完成させた(宇賀グループ)。

2. X 線 CT でポット植え作物の根を非破壊で可視化できる計測プラットフォームの構築

X線CT撮影のための栽培および撮影条件を決定した(宇賀グループ)。つぎに、撮影したCT画像から根系を三次元再構築するパイプラインを構築した。また、再構築画像から根系を抽出し、根系パラメータを自動計測するソフトウェアを開発した(七タグループ)。上記の成果を活用し、ダイズなどの双子葉作物向けの根系可視化技術を開発した(宇賀&七タグループ)。

3. 畑の土壌を模したポット栽培条件下でのダイズ根系の可視化プログラムの開発

ダイズをモデルに、X 線 CT を用いて畑栽培した作物の根系可視化技術を開発した。また、イネ根系を例として、複雑な画像背景から関心領域を抽出できるセマンティクスセグメンテーションのモデルを構築した(宇賀グループ)。

4. X 線 CT と二次元酸素オプトードを用いたイネ根系の土壌酸化能非破壊可視化技術の開発

土中の根系構造を可視化する X 線 CT と、土壌溶存酸素濃度を可視化する二次元酸素オプトードから得られたそれぞれの画像を融合することで、イネ根系による土壌酸化を非破壊で評価する技術を開発した。**メタン排出能の異なるイネ品種間で土壌酸化能に差があることを見出した。**(宇賀グループ)。

課題2) 多環境での ROOTomics の取得とデータベース化

作物根系モデル構築に必要なデータを取得するため、栽培・計測プラットフォームを用いて環境ストレス(干ばつ、高温、干ばつと高温の複合ストレス)下で生育したイネ遺伝解析集団の地上部・地下部の表現型データを経時的に取得した(宇賀グループ)。同時に、各組織における遺伝子発現データを取得した(川勝グループ)。得られたデータを活用するためのデータベースを設計し、実装のためのプログラムを現在開発中である(七タグループ)。

課題3) ROOTomics をベースとした根系モデルの構築

1. 環境ストレスに適応した根系モデルの提案

課題 2 で得られたオミクスデータをもとに、各環境ストレスに最適な根系モデルの構築を試みた。

・干ばつストレス・・・地表面に根量が多いイネ系統は干ばつに対し可塑的に深根化し、地上部の生育が抑制された。本結果から、干ばつに弱い植物は浅根から深根への急激な可塑的变化が起こらないような根系形態に改良することを提案する(宇賀グループ)。

・高温ストレス・・・本研究で用いた解析集団は根系形態の違いが地上部の生長に与える影響を明確に示せなかった。他の解析集団や品種群を用いることを今後検討する(宇賀グループ)。

2. ストレスバイオマーカーの開発

環境ストレスの有無と地上部の遺伝子発現量の変化の関連性を解析し、イネのストレス状態を判別するストレスバイオマーカーを選定した。

干ばつストレス・・・これまでに乾燥応答遺伝子として報告されていない新奇な遺伝子 21 個をバイオマーカーとして選定し、有用性を検証した(川勝グループ)。本研究で選定した遺伝子は乾燥応答に対する頑健性の評価に利用できると期待できる。

高温ストレス・・・本材料では、高温ストレスに明確に反応する遺伝子グループは見いだせなかった(川勝グループ)

課題4) 根系モデルの実証とキー遺伝子の同定によるモデルの精度向上

1. フィールドにおける検証

課題3で提案した根系モデルについて、現在、フィールドにて検証を進めている(宇賀グループ)。また、乾燥ストレスバイオマーカーのフィールドでの検証のために、宇賀グループの試験個体からサンプルを採取し、現在解析を進めている(川勝グループ)。

2. 干ばつ耐性に関与するキー遺伝子の同定

干ばつに弱いイネ品種は根が細くなることから、根が細くならないような系統の開発をめざした。冠根直径を正に制御する OsSPL 転写因子の乾燥ストレスによる発現抑制がエピゲノム変化と密接に関連していることが分かった。現在、その制御機構の解明を進めている(川勝グループ)。

(2) 顕著な成果

＜優れた基礎研究としての成果＞

1. 干ばつに適応した根系モデルの提案

概要: 開発した栽培計測プラットフォームを用いて、干ばつに頑健な根系モデルを新たに提案した。従来、破壊的観察により干ばつに対して深根性が有利であると言われてきた。本研究では X 線 CT を用いた 3 次元画像解析から、地表面に根量が多いイネ系統は干ばつに対し可塑的に深根化するため、地上部の生育が抑制されるということが分かった。本成果から干ばつに弱い植物は浅根から深根への急激な可塑的变化をしないような根系分布に改良することが重要と考えられる。これら知見は干ばつに頑健な作物をデザインするうえで貴重な情報となる。

2. 干ばつに対するストレスバイオマーカーの開発

概要: イネの干ばつ応答に対するストレスバイオマーカーを選定した。栽培制御ユニットにより再現した自然に近い干ばつ条件でイネ葉の経時的な発現解析を行った結果、これまでに乾燥応答遺伝子として報告されていない新奇な遺伝子 21 個をバイオマーカーとして選定した。世界のイネ品種でこれらマーカーの有用性を検証したところ、品種群に関係なく乾燥に応答することが分かった。一方、既知の乾燥応答遺伝子は顕著な発現変動は見られなかった。本研究で選定した遺伝子は乾燥応答に対する頑健性の評価に利用できると期待できる。

3. X 線 CT と PET を用いた地下部転流動態の可視化技術

概要: 土中の根系形態を X 線 CT により、光合成産物の転流機能を PET により、それぞれ 3 次元画像取得し 2 つの画像を融合することで、根系中の転流様式を可視化する技術の開発に成功した。本成果を基に、干ばつ条件におけるイネ根系での転流動態について研究を進めており、干ばつ処理とその後の灌水による回復期間で転流様式に変化がある結果が得られつつある。今後、干ばつ下における根系可塑性のメカニズム解明に向けた有力な技術が確立した。

＜科学技術イノベーションに大きく寄与する成果＞

1. X 線 CT でポット植え作物の根を非破壊で可視化

概要: 土中の作物の根を非破壊で迅速・簡便に 3 次元的に可視化する技術を開発した。X 線 CT 撮影条件と画像処理技術を最適化することにより、ポットに植えたイネの根を十数分で 3 次元可視化することに成功した。つぎに、全時系列のイネ根系のベクトルデータを自動で取得できるソフトウェアを開発した。さらに、単子葉植物版の根系可視化技術を双子葉植物へ転用するためのソフトウェアを開発した。これら成果は、あらゆる作物種の根系可視化を可能とする。

2. 自然環境の干ばつを再現した自動灌水制御システムの開発

概要: ポット底面からの給水により 1 ポットごとに土壤水分を任意に制御する世界初の自動灌水システムを開発した。本システムでは自然界で起こる干ばつ状態を屋内環境にて再現でき、さらに、各ポットの温湿度、照度、土壤水分や地温の状態を常時監視できる。本システムを用いれば、今後

予想される干ばつなどの不良環境を具現化し、将来の地球環境を見越した作物開発が可能になると期待できる。また、精密農業のためのデータ収集など、多様な活用法が考えられる。

3. 地中の植物根をリアルタイムで可視化する装置の開発

概要: 地中の植物根の動きを非破壊でリアルタイムに観察できる装置を開発した。根が土を押す際に起こるひずみを測定できる分布型光ファイバを土中に埋設し、その数値から根の状態を逆算し、根を可視化できる仕様である。本装置はポット栽培でプロトタイプを開発したことから、今後フィールドでの作物根のリアルタイム計測が可能になるように、装置の改良を進めている。今後、地中の状態をデジタル情報として再現し、スマート農業への利用が期待できる。

4. 水田土壌中のイネ根系構造の非破壊可視化プログラムの開発

概要: X 線 CT を用いて、水田で栽培したイネの根系を非破壊で可視化・計測できる技術を開発した。本プログラムでは線状の画像のみを抽出するリング状カーネルフィルタを用いて、水田より回収した土壌ブロックの CT 画像から根の長さ・太さの分布を全自動で計測することができる。従来、水田で栽培したイネの根系を計測するためには、土から根を洗い出す作業が必要であった。本技術により、水田土壌からのイネの根系定量が簡便・迅速になった。今後、本技術は育種における系統選抜への利用も期待できる(1年追加支援時の成果)。

< 代表的な論文 >

1. High-throughput three-dimensional visualization of root system architecture of rice using X-ray computed tomography

概要: 従来、大型のポットで栽培した作物の根系を非破壊で迅速・簡便に 3 次元可視化することは困難であった。本研究では、X 線 CT を用いて、CT 撮影条件と画像処理技術を最適化することにより、直径 20cm のポットに植えたイネの根を短時間(撮影時間 10 分、画像処理数分)で、3 次元再構築するパイプラインを構築した。

2. iPOTs: Internet of Things-based pot system controlling optional treatment of soil water condition for plant phenotyping under drought stress

概要: 人工気象室などの人工環境における干ばつ試験では、土壌水分は一般的にポット上面からの灌水により制御される。しかし、自然界の干ばつは土壌表面より乾燥するため、上面灌水は不自然である。本研究では、ポット底面からの給水により 1 ポットごとに土壌水分を任意に制御する自動灌水システムを開発した。本システムでは底面からの排水により乾燥処理を実施でき、屋外での干ばつを再現した。さらに、各ポットの温湿度、照度、土壌水分や地温の状態を常時監視できる。

3. Root angle modifications by the *DRO1* homolog improve rice yields in saline paddy fields

概要: 本研究では、根系モデルを構築するために、様々な根系形態の異なる準同質遺伝子系統(NIL)をリファレンスとして整備している。本論文では、一般的な品種では形成されない地表根を形成する品種から根伸長角度に関与する QTL(*qSOR1*)を同定した。本遺伝子が非機能型になることで地表根が形成されることが分かった。*qSOR1*と既知の QTL(*DRO1*)を組み合わせることで、超浅根から深根までの4つの系統が整備できた。また、地表根を形成する系統は通常の品種よりも水田における塩害耐性が付与されることが分かった。

§2 研究実施体制

(1)研究チームの体制について

①「宇賀」グループ

研究代表者: 宇賀 優作 (農研機構作物研究部門 グループ長)

研究項目: 根系フェノーム解析ならびに根系モデルの構築とその実証

・イネ解析集団およびイネ・コアコレクションのマルチオミクス解析

・環境ストレスに適応した根系モデルの構築とその検証

②「七夕」グループ

主たる共同研究者:七夕 高也 (かずさ DNA 研究所・先端研究開発部、研究員)

研究項目:根系の三次元非破壊計測プラットフォームの開発およびデータベース構築

- ・栽培制御ユニットの開発
- ・計測プラットフォームの開発
- ・モデル構築をサポートするデータベース開発

(3)「川勝」グループ

主たる共同研究者:川勝 泰二 (農研機構・生物機能利用研究部門、上級研究員)

研究項目:ストレスバイオマーカーの開発および環境レジリエント・キー遺伝子の同定

- ・干ばつおよび高温ストレスバイオマーカーの同定とその検証
- ・環境レジリエント・キー遺伝子の同定

④「宇賀」グループ(1年追加支援時の体制)

研究代表者:宇賀 優作 (農研機構作物研究部門 グループ長)

研究項目:作物根の非破壊計測技術の高度化

- ・フィールドの多様な土壌環境にもロバストな作物根系可視化技術の開発
- ・X 線 CT と二次元酸素オプトードを用いたイネ根系の土壌酸化能非破壊可視化技術の開発

(2)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

・イギリスとアメリカの研究グループと、X 線 CT による根系可視化に関するワークショップを開催し、国際連携の強化を進めてきた。2022 年度、当研究グループが担当となり、11 月につくばに関係者が集まり、国際ワークショップを開催した。また、2023 年度に、アメリカの研究者グループの研究所を訪問し、X 線顕微鏡など最新の根非破壊可視化技術を視察するとともに、宇賀がセミナー講演を行った。

・民間企業と本研究により整備した栽培計測プラットフォームを使った資金提供型の共同研究を開始した。今後は、コンソーシアムなどを検討し、広く民間企業に利用してもらい枠組み作りを検討する。