

研究終了報告書

「気候変動への適応を支える根の形質可塑性の分子基盤の解明」

研究期間： 2017 年 10 月～2021 年 3 月

(新型コロナウイルス感染症の影響を受け 2021 年 9 月まで延長)

研究者： 山内 卓樹

1. 研究のねらい

気候変動による干ばつや冠水の増加により、将来既存の耕地においても農作物の生産性が著しく低下することが懸念される。根は土壤に直接触れる器官であり、植物の環境適応に極めて重要である。根の形態学的形質に着目した研究は国内外で精力的に進められているが、多くは乾燥や冠水など一定の環境に対する有効性を焦点にしている。一方、フィールド(圃場環境)における土壤水分環境は断続的に変化している。そのため、気候変動に耐性をもつ作物品種の育成を実現するためには、干ばつや冠水を総合的に捉えたアプローチの導入が求められる。

フィールド(自然生育地)におけるイネ科野生植物種の調査において、乾燥から湿潤(冠水)までの幅広い土壤水分環境への適応と相関をもつ根の解剖学的特徴として皮層/中心柱の面積比(CSR); 通気組織/皮層の面積比(ACR)を見出した。さらに、イネ科畑作物ソルガムを用いて CSR と ACR に関する QTL を同定した。本研究課題では、これらの QTL を土台として根の解剖学的形質を規定する遺伝的なしくみや環境依存的な可塑性のしくみを理解することを目指す。さらに、干ばつや冠水を想定した栽培条件で CSR や ACR が作物の乾燥および冠水耐性に貢献することを検証する。これらの研究を通して、気候変動によるフィールド(圃場環境)での土壤水分環境の変動に対して優れた耐性をもつ作物を育成するための基盤を築く。

2. 研究成果

(1) 概要

植物の根は内側に導管(xylem)を含む中心柱(stele)をもち、その外側に通気組織(aerenchyma)を形成する場である皮層(cortex)をもつ。導管は土壤中から地上部への養水分の輸送を担い、通気組織は地上部から根端部への酸素の供給を担う(図1)。冠水した水田で栽培されるイネでは皮層と通気組織が大きく、根端部に効率よく酸素を供給することができる(図1)。ソルガムなどの畑作物では中心柱と導管が大きく、地上部への水分の供給に優れる(図1)。本研究課題では、根の解剖学的特徴(形質)を制

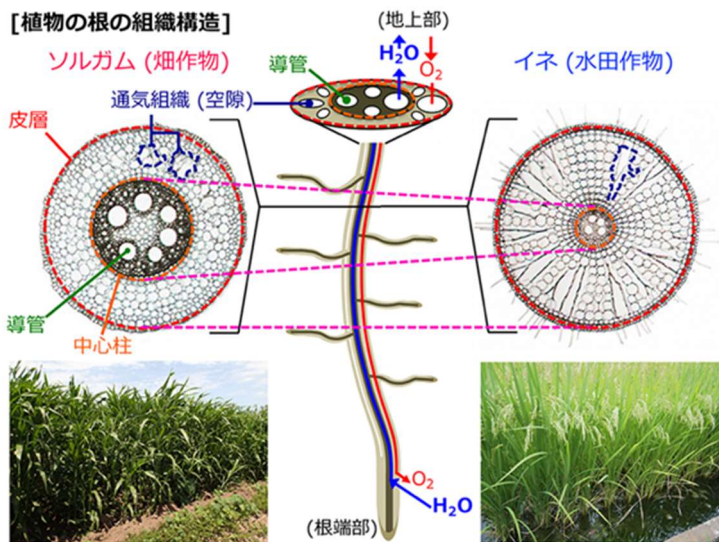


図1. 植物の異なる土壤水分環境への適応と相関をもつ根の解剖学的特徴

御するしくみを理解して、干ばつや冠水に耐性をもつ作物を育成するための基盤を築くことを目指した。

イネ科野生植物種のフィールド調査から、土壌水分と相関をもつ根の皮層/中心柱の面積比(Cortex to stele ratio; CSR)、通気組織/皮層の面積比(Aerenchyma to cortex ratio; ACR)および導管/中心柱の面積比(Xylem to stele ratio; XSR)という定量的指標を創出した。イネは畑作物と比べて CSR と ACR が高い(皮層と通気組織が大きい)ことを示すとともに、植物種を問わず CSR と ACR が環境依存的な可塑性を示すことを明らかにした。

ソルガムの系統間差を利用して、CSR と ACR に関する QTL を同定した。*qCSR1* および *qCSR2* の候補遺伝子を選抜して、CSR の系統間差がオーキシンの量的な違いに起因する可能性を示した。さらに、*qCSR1* および *qCSR2* の候補遺伝子のオルソログが、イネ科植物に共通して根の組織サイズ比(CSR)の制御に関与する可能性を示した。

イネのオーキシンスIGNAL伝達に関与する遺伝子の変異体の解析を通して、オーキシンスIGNAL伝達がイネの根の通気組織形成(ACR)の制御に関与することを明らかにした。

根の解剖学的形質が気候変動耐性型作物の育成に貢献することを検証するために、断続的な冠水を想定した土耕ポット栽培系でソルガムの生育を評価し、CSR の可塑性が高い系統は土壌水分の断続的な変化に対して高い耐性をもつことを明らかにした。

新型コロナウイルス感染症の影響を受け 6 ヶ月間研究期間を延長し、根の組織サイズ比に関する QTL の 1 つである *qCSR2* の候補遺伝子の機能解析を実施した。

(2) 詳細

研究テーマ A 「イネ科野生植物種の環境適応に最適な根の解剖学的特徴の同定」

イネ科野生植物種の調査において、各植物種の生育地の土壌水分含量と根の各組織のサイズ(面積)を測定した。植物種毎の根の組織サイズ(根の太さ)の実測値のばらつきを補正するため、根の組織サイズの比を考慮した定量的指標[皮層/中心柱の面積比(CSR)、導管/中心柱の面積比(XSR)および通気組織/皮層の面積比(ACR)]を創出した。さらに、各定量的指標の数値データと各植物種の生育地の土壌水分含量の相関を回帰したモデルを作出し、植物が任意の土壌水分環境に適応するために最適な根の解剖学的形質を導き出した(図 2)。

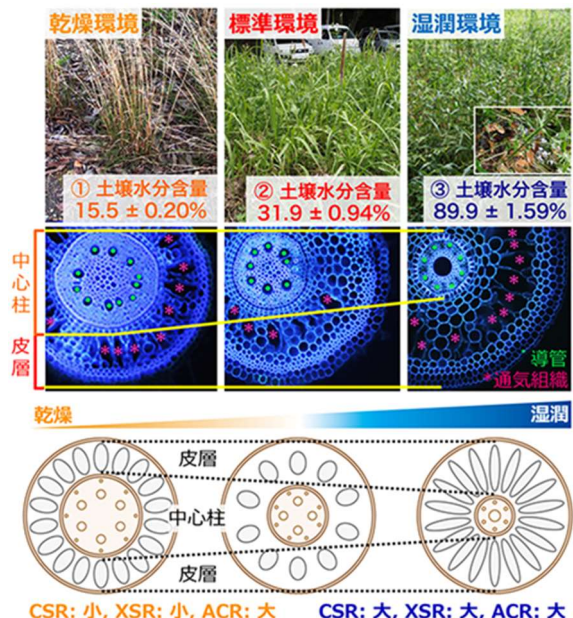


図2. 各土壌水分環境への適応に最適な根の解剖学的特徴

研究テーマ B 「イネ科作物の耐湿性に貢献する根の解剖学的形質の同定」

水田で栽培されるイネと排水性のよい畑で栽培されるコムギやトウモロコシの根の解剖学的形質を比較した。その結果、イネはコムギやトウモロコシと比べて高い皮層/中心柱の面

積比(CSR)および通気組織/皮層の面積比(ACR)をもつことを明らかにした。一方、全ての植物種の CSR と ACR は低酸素(冠水)条件に応答して可塑的に変化することがわかった。

研究テーマ C 「ソルガムの根の解剖学的形質に関する QTL 解析」

イネ科畑作物ソルガムの組換え自殖系統 (Recombinant inbred lines: RILs: 図 3)を好気的条件下で栽培して根の形質を評価し、CSR と ACR に関する QTL を同定した。CSR に関する QTL ($qCSR1$ および $qCSR2$)の候補遺伝子を優先して探索した。その結果、LOD 値のピークの近傍に $qCSR1$ ではオーキシンの代謝に関連する酵素遺伝子が座乗し、 $qCSR2$ では組織の発達に関わることが知られている転写因子をコードする遺伝子が座乗していた。RILs の両親系統の根端部では、これらの候補遺伝子の発現量に系統間差がみられた。これらの結果から、オーキシンの量的な制御の違いが CSR の系統間差を決める要因の1つである可能性を示した。

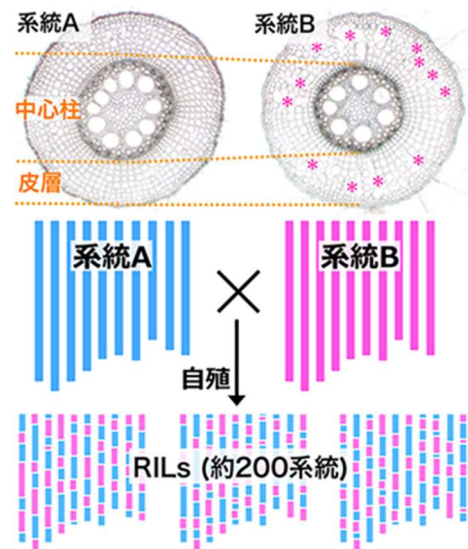


図3. ソルガムの根の形質の系統間差の利用

新型コロナウイルス感染症の影響を受け6ヶ月間研究期間を延長し、 $qCSR2$ の原因遺伝子の候補である転写因子のゲノム領域を導入したイネの形質転換体の機能解析を実施した。同形質転換体を好気的条件下で栽培し、根の解剖学的形質を評価した結果、BTx623型を導入した系統の中に顕著なCSRの低下がみられる系統が存在した。一方、タカキビ型を導入した系統ではBTx623型と比べてCSRの変化が小さいことがわかった。また、導入遺伝子の発現量を解析した結果、CSRの低下が特に顕著であったBTx623型の系統では導入遺伝子の発現量が高いことが明らかになった。これらの結果は、BTx623のCSRがタカキビより低いことと矛盾しない結果であった。さらに、 $qCSR2$ の候補遺伝子として同定した組織の発達に関わる転写因子がQTLの原因遺伝子である可能性が高いことが示された。

研究テーマ D 「イネの変異体を用いた通気組織形成の分子機構の解明」

オーキシンスIGNAL伝達が恒常的に阻害されるイネの変異体 ($iaa13$)では、好気的条件下での通気組織形成(ACR)が野生型と比べて顕著に低下していた。また、 $iaa13$ 変異体の原因遺伝子がコードするAUX/IAA13(IAA13)はオーキシン応答性の転写因子 auxin response factor19 (ARF19)とタンパク質間相互作用した。これらの結果から、環境非依存的な通気組織はIAAとARFを介したオーキシンスIGNAL伝達系で制御されることを解明した。

研究テーマ E 「ソルガム系統間における土壌水分含量の変動に対する耐性の評価」

フィールド(圃場環境)における気候変動を想定して、土耕ポット栽培で断続的に冠水処理をおこなう実験系を構築した。塩ビ管を大型のバット内に設置して土の深さを確保し、標準条件では水位を一定に保ち、冠水条件では水位を最大にすることで土壌水分含量を制御し

た。データロガーを利用して、水位の変化に依存した 3 時間毎の土壤水分含量をモニターした。断続的に冠水を繰り返した処理区(標準条件で 30 日間栽培後、冠水 1 日乾燥 2 日を 5 回繰り返した)では、根の解剖学的形質の可塑性が高い系統 B の生育が顕著に促進された。この結果から、根の解剖学的形質の可塑性を環境に最適化することで気候変動耐性型作物の育成を実現できる可能性を示した

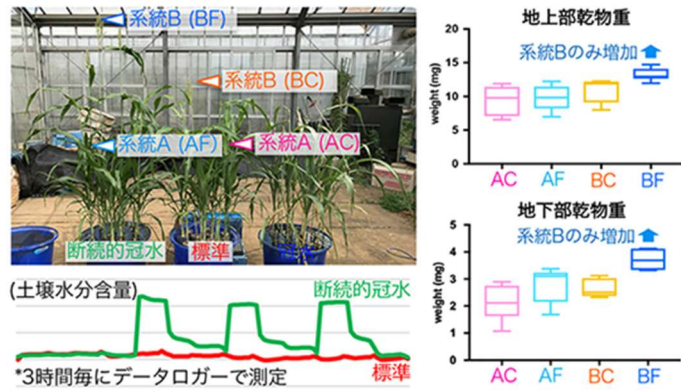


図4. 土耕ポット栽培での断続的な冠水処理に対する耐性の評価

3. 今後の展開

本研究課題では、イネ科野生植物種のフィールド調査で見出された皮層/中心柱の面積比 (Cortex to stele ratio; CSR) および通気組織/皮層の面積比 (Aerenchyma to cortex ratio; ACR) を気候変動耐性型の作物の育成に応用するための基盤を築くことを目的とした。

ソルガムの組換え自殖系統群を用いた CSR および ACR に関する QTL 解析では複数の QTL が同定されており、 $qCSR1$ および $qCSR2$ の原因遺伝子の候補の絞り込みをおこなった。これらの候補遺伝子が QTL の原因遺伝子であることを証明するためには、遺伝子の詳細な機能解析が求められる。そこで、ソルガムで同定された候補遺伝子を導入したイネの形質転換体の機能解析を詳細に進めることで原因遺伝子の決定に繋がりたいと考えている。

温室内での土耕栽培による断続的な干ばつや冠水を想定した処理の結果、CSR の可塑性が高い系統は土壤水分含量の変動に対して高い耐性をもつことが示された。今後は、実際に圃場での栽培を実施し、栽培過程における土壤水分含量の変動と CSR および ACR の可塑性の相関を評価することを検討したい。それによって、根の解剖学的形質の可塑性が気候変動耐性型作物の育成に貢献することを明らかにしたいと考えている。

本研究課題では、ソルガムの組換え自殖系統を用いて研究を展開してきた。一方で、国内では遺伝学的解析に利用可能な様々なイネ科作物の遺伝資源が整備されている。今後は、これらの遺伝資源の根の解剖学的形質の多様性を把握した上で、遺伝学的な解析を実施して新たな有用遺伝子座の同定を目指したい。また、根の組織構造はイネ科植物以外にも共通するため、本研究課題で得られた知見を多様な作物の耐乾性や耐湿性の強化に応用していきたい。

4. 自己評価

本研究課題では、世界的に重要な課題である気候変動による干ばつや冠水のリスクの増加に対する作物生産の安定化に向けて重要な基盤を築くことに成功した。その主な理由として、[1] フィールド(自然生育地)の幅広い土壤水分に適応するために有効な根の解剖学的特徴を定量的に捉えたこと、[2] それらの指標が作物の耐乾性や耐湿性を評価するために有効であり、遺伝学的解析による有用遺伝子の同定にも応用できる可能性を示したこと、[3] 同指標が環境依存的な可塑性をもつことを明らかにし、土壤水分が刻々と変化するフィールド(圃場環境)での耐性育種への応用の道筋を示したことが挙げられる。

本研究課題は、さきがけ研究者と1名の研究補助者で実施してきた。水耕栽培系による植物の栽培管理等を研究補助者がサポートすることで研究を効率的に推進することができた。そのため、研究補助者を雇用した体制は研究課題の実施に有効であった。研究費の執行状況に関しては、コロナ禍における所属機関の自粛が最終年度を通して継続されたため、当初の計画通りの遂行は困難であった。一方、研究加速型および共同 FS による追加支援で購入した機器を駆使して作業を効率化するとともに受託解析も活用して研究を滞りなく推進できたと考えている。

本研究課題でおこなった取り組みは、将来の多様な作物の環境ストレス耐性の強化に応用展開することができると確信している。その過程で、企業との連携を模索して社会・経済に対して成果を還元していくことが求められると考えている。本研究課題の期間中に5編の原著論文を発表した。また、1 件のプレスリリースを実施し、その成果は新聞でも紹介された。これらのことから、研究成果の科学技術への波及効果も十分であったと考えている。新型コロナウイルス感染症の影響を受けた延長期間中に文部科学大臣表彰若手科学者賞を受賞した。

領域内外の共同研究も積極的に実施しており、領域内で3件、さきがけの他領域と1件の共同 FS を推進した。領域間の共同研究では、情報科学と生物学の異分野融合による成果として画像解析の自動化を進め、その進捗を国際学術雑誌に発表した。さきがけ領域内外の仲間との共同研究を継続し、個人研究では成し得ない大きな枠組みに発展させていきたい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 5件

1. T. Yamauchi, A. Tanaka, H. Inahashi, N.K. Nishizawa, N. Tsutsumi, Y. Inukai, M. Nakazono. Fine control of aerenchyma and lateral root development through AUX/IAA- and ARF-dependent auxin signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2019. 116(41). 20770–20775.

通気組織は、植物体内に形成される気体の通り道であり、水田のような冠水土壤への適応に最も重要な形質であると考えられている。本論文では、イネの根における皮層細胞のプログラム細胞死によって形成される通気組織が、オーキシシンシグナル伝達によって緻密に制御されるしくみを明らかにした。本研究で得られた成果を応用することで、イネ科畑作物の根に通気組織を形成させ、冠水耐性を強化することが期待できる。

2. T. Yamauchi, M. Nakazono, Y. Inukai, N. Tsutsumi. Distance-to-time conversion using Gompertz model reveals age-dependent aerenchyma formation in rice roots. *Plant Physiology*. 2020. 183(4). 1424–1427.

植物は遺伝子型毎に異なる根の伸長率を示すため、根の発生プロセスの正確な理解が妨げられてきた。本論文では、イネの根の部位毎の通気組織形成率のデータを基に回帰モデルを作成し、細胞が生じてからの時間(細胞の齢)に変換する手法を確立した。本手法を用いることで、異なる遺伝子型をもつ野生型と変異体や品種間の正確な形質の比較が可能となり、根の発生プロセスの詳細な理解や形質評価の効率化が実現できると期待される。

3. T. Yamauchi, O. Pedersen, M. Nakazono, N. Tsutsumi. Key root traits of Poaceae for adaptation to soil water gradients. *New Phytologist*. 2021. 229(6). 3133–3140.

イネ科野生植物種のフィールド調査から、根の皮層/中心柱の面積比(Cortex to stele ratio; CSR)、通気組織/皮層の面積比(Aerenchyma to cortex ratio; ACR)および導管/中心柱の面積比(Xylem to stele ratio; XSR)という定量的指標を創出した。その上で、これらの指標と各植物種の生育地の土壌水分含量の相関を回帰したモデルを作出し、乾燥から冠水までの幅広い土壌水分環境に適応するために最適な根の解剖学的特徴を明らかにした。本研究で得られた成果は、作物の乾燥および冠水耐性の強化に応用できる。

(2)特許出願

研究期間累積件数： 0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. 山内卓樹, 中園幹生, 堤伸浩. 多様なイネ科植物に共通する環境依存的な根の発生プロセス. 第 61 回日本植物生理学会年会. 2020 年 3 月 大阪. (招待講演)
2. 山内卓樹. 日本農学進歩賞, 2019 年 11 月 22 日, 授与者: 公益財団法人 農学会, 業績名: イネ科植物の環境適応に貢献する根の解剖学的形質に関する研究. (受賞)
3. T. Yamauchi, K. Noshita, N. Tsutsumi. Climate-smart crops: key root anatomical traits that confer flooding tolerance. *Breeding Science*. 2021. 71(1). 51-61. (総説)
4. 山内卓樹. イネが水田で生育するしくみ—根の解剖学的観点から. イネ大事典. 2020. 上巻. 442-462. (著書)
5. 「イネの水田での生育を支える通気組織形成の仕組みを解明 ～イネ科畑作物の耐湿性育種に向けた新たな道筋～」2019 年 9 月 24 日. (プレスリリース)
6. 山内卓樹. 文部科学大臣表彰若手科学者賞, 2021 年 4 月 6 日, 授与者: 文部科学省, 業績名: 植物の耐湿性に貢献する根の通気組織を対象とした多角的研究. (受賞)*
コロナ延長時の受賞