

根の改良による環境ストレス耐性作物の開発

—塩害水田向けのイネ根系形態—

農研機構 作物研究部門
作物デザイン研究領域
宇賀 優作

はじめに

近年、地球規模の環境変化に伴い降雨の極端な偏在化による干ばつが頻発し、世界中で農産物への被害が起きている。同様に、塩害もまた干ばつと並び世界の農業生産に大きな被害をもたらす環境ストレスである。2050年までに世界の農耕地のおよそ50%が塩害の影響を受けると予測されている。さらに、近年の地球温暖化に起因する海面上昇による高潮やスーパー台風の頻発で、日本をはじめ世界の多くの沿岸地域では農作物への塩害が増加している。とくに、イネは低地で栽培することが多いため、バングラデシュやベトナムなどの熱帯アジアの河口地域では、塩害が頻発している。日本でも東日本大震災時に津波による塩害で東北地方では稲作がしばらくできなかったことは記憶に新しい。このような問題を解決するため、世界中で塩害に強いイネ品種の開発が進められている。

塩害などの環境ストレス耐性を向上させる際、ストレス応答に関与する生理機能に着目した研究や品種開発が一般的である。一方、我々のグループでは、環境ストレスの多くが土壌中の根を通して、植物の生育に悪影響することを踏まえ、根の形（根系形態）の改良による環境ストレス耐性作物の開発を進めている。本稿では、根系形態に関与する遺伝子を用いた塩害に強いイネの開発を主に紹介する (Uga *et al.* 2012; Kitomi *et al.* 2020)。加えて、

根系形態の改良による環境ストレス耐性作物の可能性について論じる。

1. 水田における塩害とは

農地における塩害と言っても、畑で起こる塩害と湛水状態の水田で起こる塩害では農作物への被害のメカニズムは異なる。畑の場合、塩害とは土壌中の塩分濃度が高くなり、土壌と根の浸透圧差を使った水の吸収が困難になるストレス現象である。土中の塩濃度が一定以上に高くなると、最終的に植物は枯死する。一方、水田では、そのような塩ストレス自体の被害に加えて、過剰なナトリウムイオン (Na^+) によって土壌が緊密化するなどの物理的な性質が悪化することで引き起こされる酸欠状態（還元状態）が促進される (図-1)。還元土壌では根は呼吸することができず、根腐れなどによる生育不良を起こす。つまり、水田における塩害は、畑と異なり塩ストレスと還元ストレスの両方に対応した品種開発が必要となる。

従来のイネの耐塩性研究や品種改良では、塩ストレスを主な対象としており、土壌の還元ストレスに適応した品種改良はこれまで実施されていない。そこで、農研機構と東北大学との共同

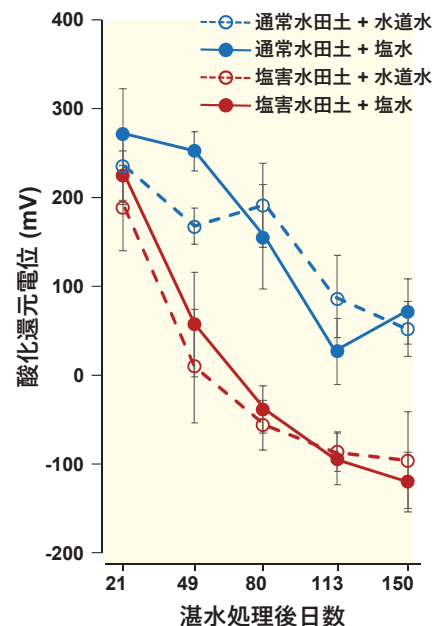


図-1 塩害水田と通常水田における土壌の酸化還元電位の違い

塩害水田と通常水田から採取した土に水道水または塩水による湛水処理した後の酸化還元電位の変化を計測。値が小さいほど還元化の進んだ土壌となる。各水田の2年間、3地点の平均値と標準偏差を示す (n = 6)。 (Kitomi *et al.* 2020より改変)

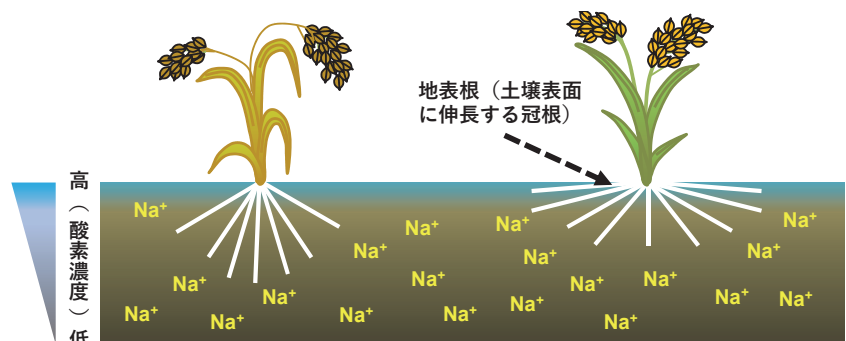


図-2 塩害水田で生じる還元土壌に適した根の形とは？

塩害水田でのイネの生育不良の主な原因は、塩ストレスと還元ストレスである。還元土壌でも地表面は比較的酸素濃度が高く、地表根を形成するイネでは、一般的なイネに比べてより多くの根に酸素が供給できると考えられる。

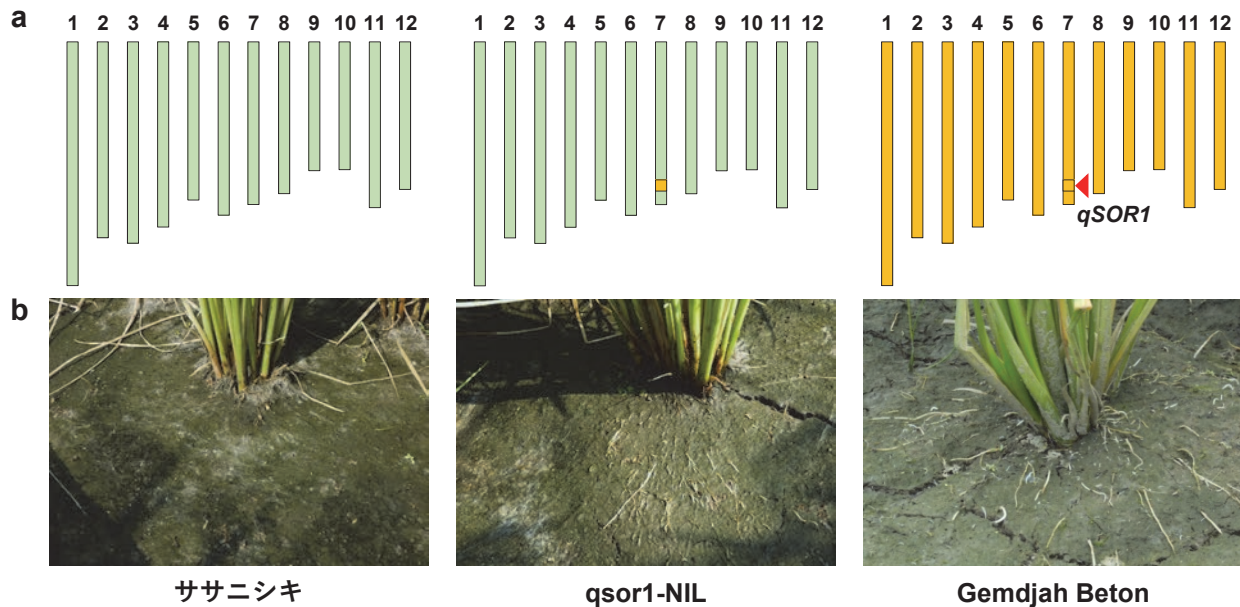


図-3 非機能型の *qSOR1* による地表根形成

(a) 赤矢頭はイネ染色体上の *qSOR1* の位置を示す。真ん中の系統 (*qsor1-NIL*) は、DNA マーカー選抜によりササニシキに非機能型アレルの *qSOR1* を含む Gemdjah Beton 由来のゲノム断片 (オレンジの四角部分) が導入されている。(b) 水田落水時の土壌表面における根の発達状況。Gemdjah Beton と *qsor1-NIL* は地表面に冠根が観察される。(Kitomi *et al.* 2020 より改変)

研究グループでは、この還元土壤に適応した品種の開発を試みた。我々のアイデアは、比較的酸素の多い土壌表面近くに根を多く張ることのできるイネ品種を開発すれば、塩害水田の土壌で起こる還元ストレスをイネが回避できるのではないかというものである (図-2)。一般的なイネは土壌表面に伸長する冠根 (以下、地表根) を形成しないが、インドネシアの一部の水稲が地表根を形成することは報告されている (Ueno and Sato 1989)。ただし、これらの品種が塩害水田で栽培されてきたとの報告はなく、地表根が塩害水田で生じる還元ストレスの回避に有効であるかは未知数であった。

2. イネ地表根遺伝子の発見

我々は、インドネシアの一部の品種が示す地表根形成に関与する遺伝子を単離・同定し、地表根を形成しない日本の品種に導入することで、地表根形成が還元土壤のストレス回避に有効であるかを検証することとした。最初に、地表根を形成するインドネシア

の水稲 (品種名 Gemdjah Beton) と地表根を形成しない日本の水稲 (ササニシキ) の交雑集団を用いた遺伝解析から、イネの第7染色体上に地表根形成に関与する量的形質遺伝子座 (*qSOR1*: *quantitative trait locus for SOIL SURFACE ROOTING 1*) を見出した (図-3a)。つぎに、マップベースクローニング法を用いて、*qSOR1* 遺伝子を単離・同定した。*qSOR1* の機能解析の結果、*qSOR1* は根の先端で働き、重力屈性に関与するオーキシン早期応答遺伝子であった。Gemdjah Beton では *qSOR1* が機能しない遺伝子配列 (非機能型アレル) を持っているため、根が重力方向に伸長せず、土壌表面に根が張ることが分かった。また、Gemdjah Beton を含むインドネシアの一部の品種群のみがこの非機能型アレルを持ち、地表根を形成することも明らかとなった。DNA マーカー選抜育種法により、ササニシキの機能型アレルの *qSOR1* を、Gemdjah Beton 由来の非機能型アレルの *qSOR1* に入れ替えた準同質遺伝子系統 (系統名 *qsor1-NIL*) は Gemdjah Beton 同様

に地表根を形成した (図-3b)。一方、*qsor1-NIL* とササニシキで他の根系形態や地上部の形態に目立った差異は観察されなかった。

3. 地表根を形成するイネは塩害水田のストレスを軽減

qsor1-NIL とササニシキを塩害水田 (塩水濃度 0.4%) と通常の水田 (塩処理なし) で4年間にわたって栽培試験を行った。栽培試験は、東北大学大学院生命科学研究科湛水生態系野外実験施設の水田で行った。塩害水田では塩を含む地下水をくみ上げて塩水濃度を定期的に調整した。通常の水田では両者間で登熟まで地表根形成以外に目立った形態的な差異は認められなかった (図-4a)。また、通常の水田では両者間で収量に有意な差はなかった (図-4b)。一方、塩害水田では出穂期から登熟期にかけてササニシキでは還元ストレスによる葉色の褐変化が見られたが、*qsor1-NIL* ではササニシキに比べ明瞭な褐変化は見られなかった (図-4a)。また、4年間平均

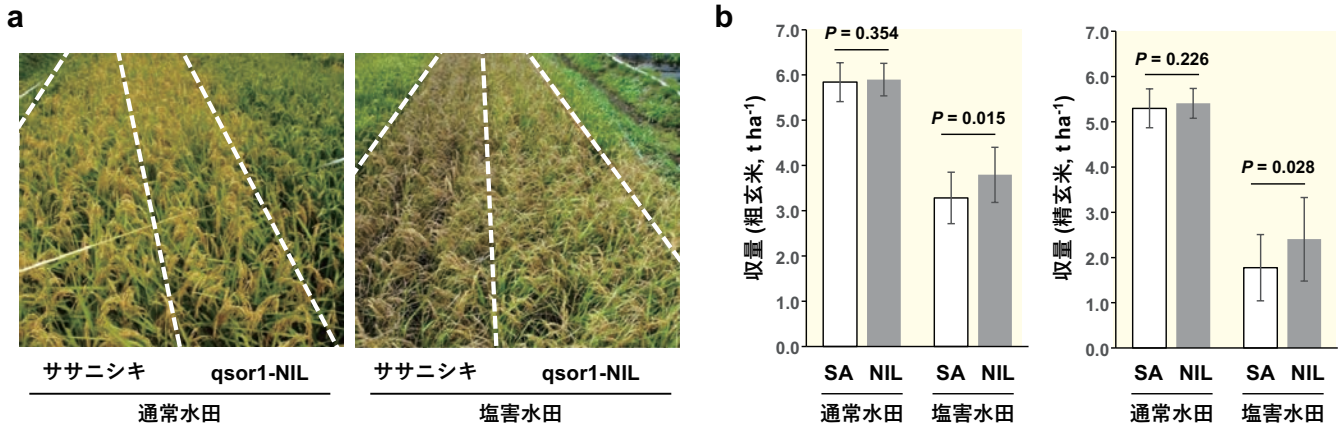


図-4 塩害水田で栽培されるイネに対する地表根形成の影響

(a) 通常水田と塩害水田での収穫前のイネの様子。通常水田では両品種間に目立った生育の差は見られない。一方、塩害水田では還元ストレスによりササニシキの葉は茶褐色に変色していたが、qsor1-NILの葉はササニシキほどの明瞭な変色は見られなかった。(b) ササニシキ (SA) と qsor1-NIL (NIL) の4年間の平均収量 (2015年~2018年)。精玄米とは米幅 1.8 mm 以上のものとする。P値は二元配置分散分析の結果に基づく。(Kitomi *et al.* 2020 より改変, 精玄米のデータは未公開データ (半澤ら) に基づく)

で qsor1-NIL はササニシキより粗玄米重で約 15%, 精玄米重で約 35% の増収となった (図-4b)。qsor1-NIL がササニシキより精玄米重が増えた要因は、ストレスによる登熟への影響が軽減されたことによると推察される。塩害水田でも出穂期ごろまで地表根形成以外に両者間で大きな形態的な差異は観察されなかった。以上の結果から、地表根形成が塩害水田で生じる土壤の還元ストレス回避に有効であり、塩害水田での増収や品質改善に寄与したことが示された。

本研究では、非機能型アリの *qSOR1* をササニシキに導入した場合、塩害の無い通常の水田栽培において収量や草型への影響がほとんどなく、倒伏しやすくなるなどの栽培上のデメリットも確認されなかった。また、非機能型アリの *qSOR1* はインドネシアの一部の品種しか持っておらず、他地域の水稲にはまだ利用されていないため、日本を含めて世界中のほとんどのイネ品種で新たな育種素材としての利用が可能である。*qSOR1* は根張りに関与する遺伝子であり、塩ストレスそのものへの耐性には寄与しないため、耐塩性遺伝子などと組み合わせることでより耐塩性の強いイネの開発につながると期待できる。

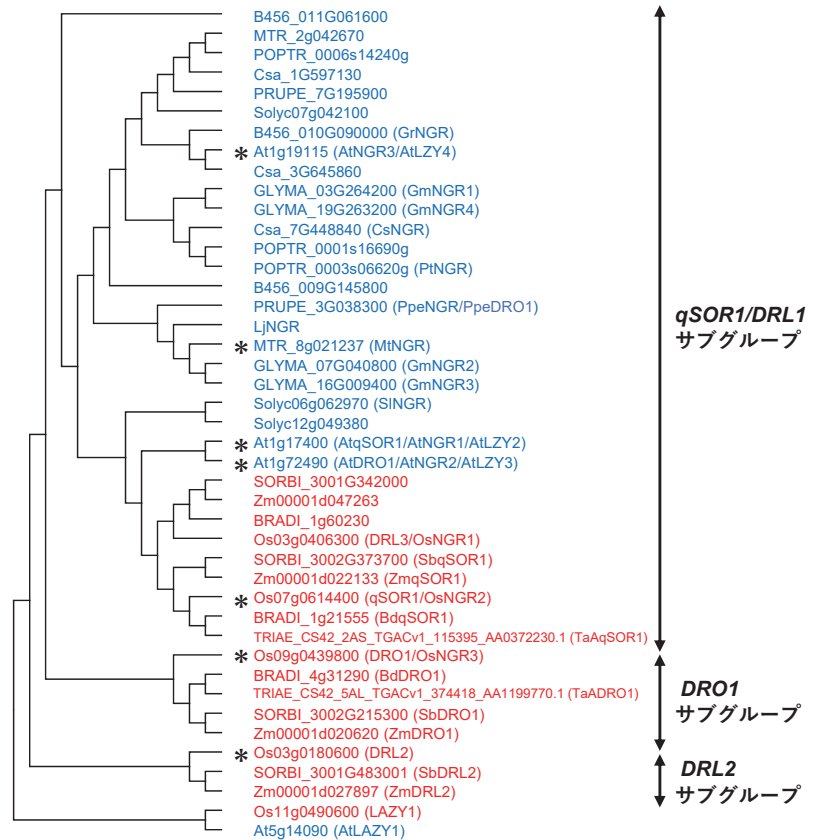


図-5 単子葉植物および双子葉植物における *DRO1* 相同遺伝子の分子系統樹

完全長のアミノ酸配列を MUSCLE でアライメントした後、MEGA X の最小進化法を用いて系統樹を作製した。遺伝子 ID が示す植物種は以下の通りである。At: シロイヌナズナ, B456: ワタ, BRADI: ミナトカモジグサ, Csa: キュウリ, GLYMA: ダイズ, Lj: ミヤコグサ, MTR: タルウマゴヤシ, Os: イネ, POPTR: ポプラ, PRUPE: モモ, Solyc: トマト, SORBI: ソルガム, TRIAE: コムギ, Zm: トウモロコシ。青字は双子葉植物、赤字は単子葉植物を表す。*は根の重力屈性に関与することが報告された遺伝子を示す。(Kitomi *et al.* 2020 より改変)

4. *qSOR1* と似た働きを持つ遺伝子

qSOR1 の DNA 配列をイネの他の遺伝子と比較解析したところ、*qSOR1* に

最も近い DNA 配列を示した遺伝子は我々が過去に同定した *DRO1* (*DEEPER ROOTING 1*) 遺伝子であった (Uga *et al.* 2013; 図-5)。*DRO1* は *qSOR1* と同じように根の重力屈性に関与し、機能型アリは深根となり、非機能型アリ

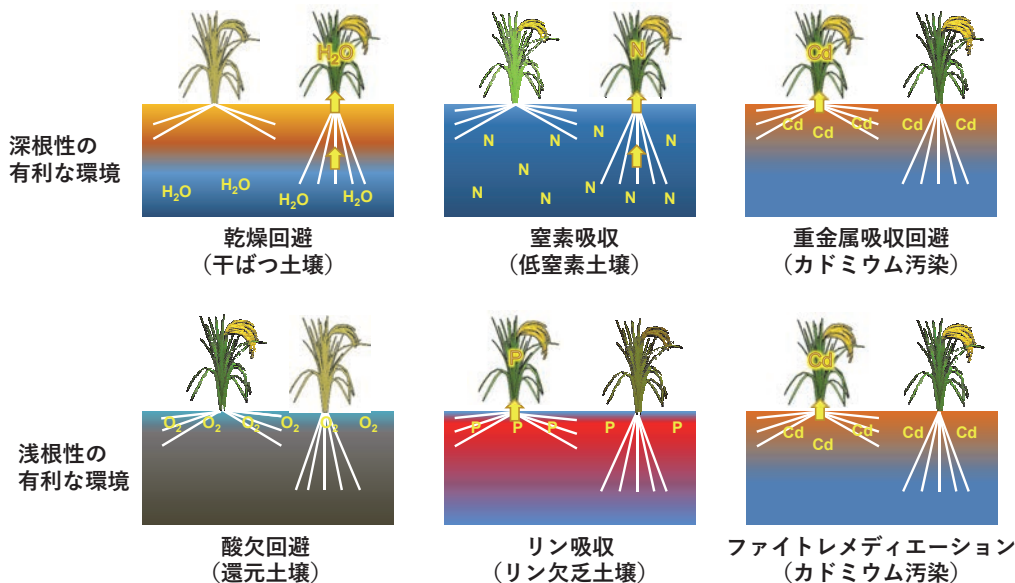


図-6 土壌環境ストレスごとに求められる根系形態のタイプは異なる
各図下の括弧は、水田土壌で起こる異なる環境ストレス状態を示す。H₂O：水、N：窒素、Cd：カドミウム、O₂：酸素、P：リン。
(Uga *et al.* 2015 と Uga 2021 に基づき作成)

ルは浅根になる。しかし、両遺伝子の非機能型アリルを比較すると、*DROI* は *qSOR1* のように地表根を形成しない。また、*in situ* ハイブリダイゼーションにより、*qSOR1* は根端のコルメラ細胞で最もよく遺伝子が発現することが分かった。一方、*DROI* はコルメラ細胞ではほとんど発現せず、根端部でも細胞分裂帯と細胞伸長帯の境周辺を中心に発現した (Uga *et al.* 2013)。以上のことから、両遺伝子の機能は完全に同じではないことが推察された。従って、今後両遺伝子の機能の違いをより詳細に解明できれば、両遺伝子を用いてイネの根系形態を自在に制御することも可能ではないかと期待する。

DNA 配列の比較解析から、イネには他にも *qSOR1* や *DROI* と配列が似ている遺伝子 (Os03g0180600) があることが分かった (図-5)。本遺伝子も根張りに関与しているかを明らかにするため、CRISPR-Cas9 を用いたゲノム編集により該当遺伝子を非機能型に改変した突然変異系統を作製した。根張りを観察したところ、野生型に比較し、突然変異系統は根が浅くなることが分かった。本遺伝子

も *qSOR1* や *DROI* と同じような機能を持っていることが推測されたため、*DRL2* (*DROI-like 2*) と名付けた。また、*qSOR1* は *DROI* に最も配列に近い遺伝子ということで同じく *DRL1* と名付けた。以上のように、イネには少なくとも3つの遺伝子が根張りに関与していることが分かった。

近年、イネなどの単子葉植物以外に、タルウマゴヤシ、モモ、シロイヌナズナなどの双子葉植物で *qSOR1* の相同遺伝子が根の重力屈性に関与することが報告されている (Ge and Chen 2016; Guseman *et al.* 2017; Taniguchi *et al.* 2017)。これらの研究報告と我々の研究成果を合わせて考えると、被子植物には *DROI* ファミリーと呼べるような大きな遺伝子グループが存在し、本ファミリーは3つのサブグループ (*DROI*, *qSOR1/DRL1*, *DRL2*) から構成される (図-5)。このうち、*DROI* と *DRL2* サブグループは単子葉植物にのみ存在すると推察される。本遺伝子ファミリーを利用すれば、イネ以外の他作物で根系形態を改変することも可能ではないかと考える。例えば、ダイズやトウモロコシなどの畑

作物の *qSOR1* ホモログを非機能型に改変し地表根を形成すれば、国内外の水はけの悪い農地での畑作物の耐湿性向上に利用できるかもしれない。

5. 目的に応じて根をデザインする

本稿では、塩害水田向けの根系形態として地表根の有用性を紹介した。それ以外にも、*qSOR1* や *DROI* の準同質遺伝子系統を用いた試験結果から、根系形態の改良が様々な土壌環境ストレス下においてイネの生産に有益であることを我々は報告してきた。例えば、深根性が干ばつや低窒素土壌などに適していること (Uga *et al.* 2013; Arai-Sanoh *et al.* 2014)、浅根性が低リン土壌に適していること (Oo *et al.* 2021) などが明らかになりつつある (図-6)。また、カドミウム汚染された水田では、中干時に土壌表層で可給態カドミウムが増えるため、低カドミウム米を作る際には深根性のイネが適し、一方、カドミウムを積極的に水田から除去するのであるなら浅根性のイネが好ましい (Uga *et al.* 2015)。こ

のように、様々な環境ストレスに適応した作物を開発するうえで、根系形態の改良は今後重要なテーマになる。しかし、根は地面の下にあるため、根を掘り起こして調査するには大変な労力と時間を浪費する。そのため、従来の交雑育種における選抜過程では根の大規模な調査は困難であり、現在まで根の改良はほとんど進んでいない。

根の改良を簡単に実現するためには、表現型選抜を必要としない新しい育種法の発想が必要である。例えば、工業分野では、デザイン・素材・方法の3つの要素を組み合わせることで新しい製品を開発する。同様に、目的に合わせて根をデザインし、そのデザインを実現する遺伝子（素材）を準備できれば、近年開発の盛んなゲノム編集技術（方法）を用いて根を自在に改良できると考える（Uga 2021）。

しかし、素材や方法の研究開発は進展しているが、根をデザインする技術は確立されていない。我々は環境ストレスに頑健な根の形をデザインするため、年間を通して干ばつなどの環境ストレスを再現し、栽培試験ができる屋内型の自動栽培制御システムを開発した（Numajiri *et al.* 2021）。さらに、最新のX線CTを導入し、土中の根系形態を非破壊で可視化・計測できるハイスループットな技術を開発した（Teramoto *et al.* 2020; Teramoto *et al.* 2021）。現在、これらの技術を一体で運用できる栽培・計測プラッ

トホームを研究所内に設け（<https://rootomics.dna.affrc.go.jp/>）、イネをモデルに環境ストレスに強い根系形態とはどのようなものかを明らかにしようと試みている。今後、これらの研究成果の充実とともに根を自在にデザインできる時代が来ると期待する。

謝辞

本執筆に当たり、木富悠花博士（農研機構）、佐藤雅志博士（東北大学）、半澤栄子氏（東北大学）より図またはデータを一部提供していただいた。ここに感謝の意を表す。また、本稿で紹介した研究の一部は、日本学術振興会・科研費（15K18630; 18K14447; 19H02936）および科学技術振興機構・戦略的創造研究推進事業（JPMJCR1701）の支援を受けたものである。

参考文献

- Arai-Sanoh, Y. *et al.* 2014. Deep rooting conferred by *DEEPER ROOTING 1* enhances rice yield in paddy fields. *Sci. Rep.* 4, 5563.
- Ge, L. and R. Chen 2016. Negative gravitropism in plant roots. *Nat. Plants* 2, 16155.
- Guseman, J.M. *et al.* 2017. DRO1 influences root system architecture in Arabidopsis and Prunus species. *Plant J.* 89, 1093–1105.
- Kitomi, Y. *et al.* 2020. Root angle modifications by the *DRO1* homolog improve rice yields in saline paddy fields. *PNAS* 117, 21242–21250.

- Numajiri, Y. *et al.* 2021. iPOTs: Internet of Things-based pot system controlling optional treatment of soil water condition for plant phenotyping under drought stress. *Plant J.* 107, 1569–1580.
- Oo A.-Z. *et al.* 2021. Synergy between a shallow root system with a *DRO1* homologue and localized P application improves P uptake of lowland rice. *Sci. Rep.* 11, 9484.
- Taniguchi, M. *et al.* 2017. The Arabidopsis LAZY1 family plays a key role in gravity signaling within statocytes and in branch angle control of roots and shoots. *Plant Cell* 29, 1984–1999.
- Teramoto, S. *et al.* 2020. High-throughput three-dimensional visualization of root system architecture of rice using X-ray computed tomography. *Plant Methods* 16, 66.
- Teramoto, S. *et al.* 2021. RSAtace3D: robust vectorization software for measuring monocot root system architecture. *BMC Plant Biol.* 21, 398.
- Ueno, K. and T. Sato 1989. Aerial root formation in rice ecotype Bulu. *Jpn. J. Trop. Agr.* 33, 173–175.
- Uga, Y. *et al.* 2012. Identification of *qSOR1*, a major rice QTL involved in soil-surface rooting in paddy fields. *Theor. Appl. Genet.* 124, 75–86.
- Uga, Y. *et al.* 2013. Control of root system architecture by *DEEPER ROOTING 1* increases rice yield under drought conditions. *Nat. Genet.* 45, 1097–1102.
- Uga, Y. *et al.* 2015. Genetic improvement for root growth angle to enhance crop production. *Breed. Sci.* 65, 111–119.
- Uga, Y. 2021. Challenges to design-oriented breeding of root system architecture adapted to climate change. *Breed. Sci.* 71, 3–12.