

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05997

研究課題名（和文）不均一水分環境条件下における作物の器官間代謝変動

研究課題名（英文）Metabolite dynamics among different organs in crop under heterogeneous water environment

研究代表者

仲田 麻奈（Kano-Nakata, Mana）

名古屋大学・農学国際教育研究センター・助教

研究者番号：70623958

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：水ストレスは作物の主要な生産性規定要因であり、根系は水ストレスの影響を最初に受けて形態的な変化を示す。根系の応答には、糖代謝が密接に関わっていることから、植物体内の代謝物変動に着目した。よって、本研究では水ストレスとして水分変動に焦点を当てて、イネの同条件への適応性向上に関連する代謝産物の同定ならびに根系の表現型を明らかにしようとした。メタボローム解析の結果、乾燥ストレス解除後のイネ根系の代謝産物（Glu、Gln、Asp、Asn）の回復程度に有意な品種間差異が見られ、そのことは側根発達と関連していた。また、水分変動条件下の根系表現型を非破壊でモニタリングできるフェノタイピング手法を構築できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

作物の水ストレス適応性向上に関連する代謝産物や表現型の同定により、それらを水ストレス適応性指標として同ストレス条件下の収量向上に貢献できる。とくに本研究で抽出された代謝産物や表現型、それらの評価システムは、水ストレスとして焦点を当てた水分変動が頻繁に起こっていると想定される、天水栽培（灌漑設備が整っておらず自然の降雨に依存して栽培）や節水栽培に適したイネの選抜や育種にも応用できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Water stress is one of the major constraints to crop production and roots are the first organs detecting the water stress and showing morphological changes. Since root system development is closely related to the sugar metabolism, we focused on metabolite dynamics among different organs in crop plants. The objective of this study was to identify metabolites and root phenotypes which associated with plant adaptation to water stress focusing on moisture fluctuations in rice. Metabolome analysis revealed that genotypic variation was observed in metabolite recovery (such as Glu, Gln, Asp and Asn) during re-watering after drought, which was associated with lateral root development. In addition, non-destructive phenotyping system was constructed to monitor the root system development under moisture fluctuation conditions.

研究分野：作物生産科学

キーワード：水ストレス イネ メタボローム解析 根 フェノタイピング 水分変動

1. 研究開始当初の背景

植物と土壌をつなぐインターフェイスである根は、作物の主要な生産性規定要因である水ストレスの影響を最初に受けて形態的な変化を示し、ストレス耐性を付与する根系構造の遺伝的改良に期待が高まっている (Gewin, 2010)。しかし、多くの研究は、対照区とコントラストなストレス区の比較によるもので、土壌中の水分は時間的にも空間的にも不均一であることを考慮した研究は少ない (Kano-Nakata et al., 2019)。そこで本研究では、水ストレスとして水分変動に着目した。

イネの水ストレスへの適応性向上には、側根の応答が鍵となることが先行研究よりわかってきているが、それには糖代謝が密接に関わっていたことから (Lucob-Agustin et al., 2020)、根系の代謝物変動について詳細に調べる必要があると考えた。一方で、地上部と根系とは全く対照的な代謝反応を示すことが報告されており (Gargallo-Garriga et al., 2014; Kang et al., 2019)、ある特定の器官だけでなく、シンク・ソース間での代謝変動の理解も不可欠である。

近年、耐旱性をはじめ、環境ストレス耐性に関する植物メタボローム研究に注目が集まっている。メタボローム解析によって多大な解析データが得られるが、その生理現象を説明するためのフェノタイプの同定もあわせて必要となる。そこで、低コストでハイスループットな根系のフェノタイプング手法についても検討した。

2. 研究の目的

本研究では、不均一な水分環境条件として考えられる時間的不均一と空間的不均一の両視点に着目し、それに対するイネの器官間の代謝物変動を網羅的に解析することを目的とした。あわせて、根系の表現型を網羅的に取得できるフェノタイプング手法の確立を試みた。

3. 研究の方法

(1) 時間的水分不均一性に対する代謝応答 (水耕)

イネを、対照区 (水ストレス無)、乾燥ストレス区 (ポリエチレングリコール PEG4000 8%) と水分変動区 (乾燥ストレス区→対照区) を設けて、人工気象機内にて水耕条件で栽培した。乾燥ストレス解除直前、解除 24 時間後、解除 72 時間後の計 3 回サンプリングを行った。サンプリング時に植物体の写真を取得し、画像解析によって取得できる形質について検討した。植物体は、葉身、葉鞘、根に切り分け、凍結乾燥した、その後乾物重を測定した後、破碎したサンプルを抽出し、限外濾過処理を行い分析試料とした。キャピラリー電気泳動-質量分析計 (CE-MS)、高速液体クロマトグラフィー-質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて、アミノ酸、有機酸、糖リン酸などのイオン性有機物と糖類を分析し、分析結果は多変量解析などにより構成成分の変化を比較した。

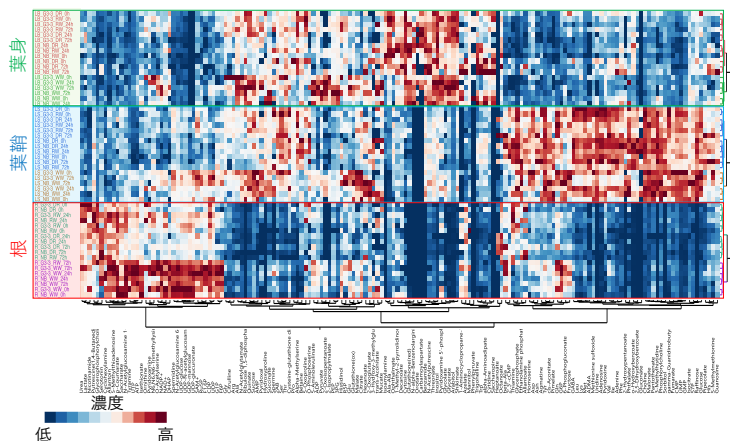
(2) 空間的水分不均一性に対する代謝応答 (ゲランガム培地)

イネを、空間的水分不均一条件として、上記の PEG 有 or 無 (水ストレス有無) のゲランガム培地を用いた。すなわち、1.5%ゲランガムを用いて、PEG を含まない対照区 (水ストレス無) と、上層に PEG を含む水分変動区 (第 2 図 A) を設けて、人工気象機内にて栽培した。定期的にゲランガム培地の入った容器ごとスキャナーで画像を取り込み、地上部と根系の生育をモニタリングし、連続的なデータの取得を試みた。メタボローム解析は (1) と同様の手法で行った。

4. 研究成果

メタボローム解析の結果、陽イオン 74 種、陰イオン 78 種、糖 8 種の合計 160 種類の代謝産物を検出した。全代謝産物の階層型クラスター解析の結果、根、葉鞘、葉身でクラスターが分離し、代謝物の多寡も部位ごとに異なることが示された (第 1 図)。部位ごとの主成分分析の結果より、全体的に水ストレスの有無で分類されており、その違いは根において最も顕著であった。

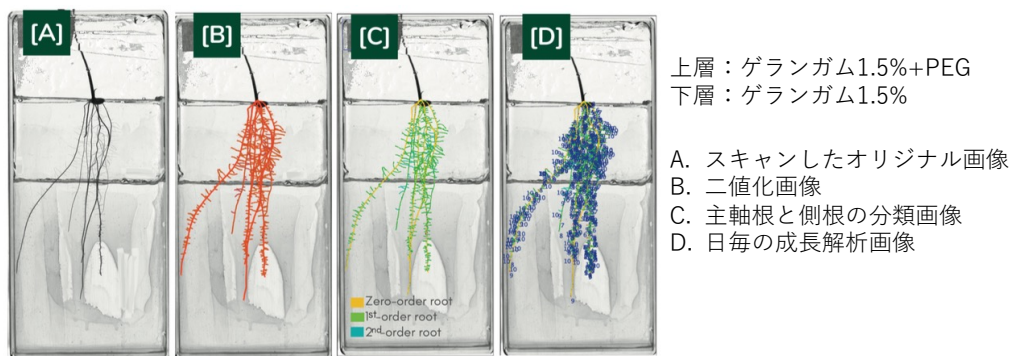
水分変動に対する適応性の高いイネ (適応性品種) とそうでないイネ (感受性品種) との間にも代謝産物の違いが見られ



第 1 図. 全代謝産物の階層型クラスター解析の結果。根、葉鞘、葉身でクラスターが分離し、代謝物の多寡が部位ごとに異なっている。

た。すなわち、適応性品種は、水分変動区の乾燥ストレス解除後に、代謝産物が対照区（水ストレス無）と同程度まで回復した。一方で、感受性品種は、水分変動区の乾燥ストレス解除後に、代謝産物が対照区の状態に回復しようとするものの、回復力が維持できず、最終的には乾燥ストレス区と同程度かそれ以下にまで代謝産物が減少することが明らかとなった。これらの品種間差異を最も明瞭に示していた部位は根であり、根系の表現型の違いが見られるのに先駆けて、短時間の水分変動に対して代謝応答に有意な違いがあることが示された。また、適応性品種の根の代謝応答の特徴として、乾燥ストレス解除後に、アミノ酸では **Glu**（グルタミン酸）、**Gln**（グルタミン）、**Asp**（アスパラギン酸）、**Asn**（アスパラギン）が、有機酸ではリンゴ酸が、糖ではフルクトースとスクロースが、糖リン酸では **G6P**（グルコース 6 リン酸）の濃度が、感受性品種とくらべて高く、これらが水分変動条件に対する適応性向上に貢献する代謝マーカーであることが示唆された。以上より、水分変動が頻繁に起こっていると想定される天水栽培（灌漑設備が整っておらず自然の降雨に依存して栽培）や節水栽培に適したイネの特徴を代謝応答の点から明らかにした。

根系の表現型解析においては、より低コストで効率的な解析が可能である、上記の研究方法(2)に焦点を絞って進めた。当初は、寒天培地を用いてイネを栽培し、スマートフォンで撮影した画像を用いて解析を進めていたが、ゲランガムを培地に用いて、スキャナーで画像を取得することで、より高精度に解析できることがわかった。スキャナーで容器ごと画像を取り込み、画像処理によって二値化した後、**archiDART (R Package)** を用いて、個根の経時的変化を可視化して解析することで（第2図）、これまでに詳細に調べられていなかった幾何学的な特徴（側根の発生位置や角度など）も捉えることができた。一方で、根系の画像解析ソフトにおいて、測定する形質によって、過大／過小評価するソフトがあったことから、目的に合わせた適切なソフトを用いることが重要であると考えた。乾燥ストレス解除後の根系応答において、適応品種は感受性品種とくらべて、側根の伸長速度と発生密度が有意に高いことが明らかとなった。また、適応品種では、炭素安定同位体自然存在比 ($\delta^{13}\text{C}$) の値が、乾燥ストレス解除後に低下したことから、側根発達が気孔コンダクタンスの増加さらには水分吸収能の向上に貢献していることが示唆された。以上より、水分変動条件下の根系の表現型を非破壊で経時的にモニタリングできるフェノタイプピッキング手法を構築できた。この手法は、生育初期の幼苗を対象としており、今後は、生育が進んだ植物体にも対応した評価方法の検討も必要である。



第2図. 構成根別の根系のフェノタイプピッキング。

ゲランガム培地を用いて空間的水分不均一条件に対する根系の応答をモニタリングした。

<引用文献>

- Gargallo-Garriga A, Sardans J, Pérez-Trujillo M, Rivas-Ubach A, Oravec M, Vecerova K, Urban O, Jentsch A, Kreyling J, Beierkuhnlein C, Parella T, Peñuelas J (2014) Opposite metabolic responses of shoots and roots to drought. *Sci. Rep.* 4: 6829.
- Gewin V (2010) An underground revolution. *Nature* 466: 552–553.
- Kang Z, Babar MA, Khan N, Guo J, Khan J, Islam S, Shrestha S, Shahi D (2019) Comparative metabolomic profiling in the roots and leaves in contrasting genotypes reveals complex mechanisms involved in post-anthesis drought tolerance in wheat. *PLoS ONE* 14: e0213502.
- Kano-Nakata M, Nakamura T, Mitsuya S, Yamauchi A (2019) Plasticity in root system architecture of rice genotypes exhibited under different soil water distributions in soil profile. *Plant Prod. Sci.* 22: 501-509.
- Lucob-Agustin N, Sugiura D, Kano-Nakata M, Hasegawa T, Suralta RR, Niones JM, Inari-Ikeda M, Yamauchi A, Inukai Y (2020) The *promoted lateral root 1 (plr1)* mutation is involved in reduced basal shoot starch accumulation and increased root sugars for enhanced lateral root growth in rice. *Plant Sci.* 301: 110667.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ueda, N., Mitsuya, S., Yamauchi, A., Cabral, M.C.J., Kano-Nakata, M.	4. 巻 15
2. 論文標題 Root system characteristics under different water regimes in three cereal species	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Root	6. 最初と最後の頁 10-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3117/plantroot.15.10	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Lucob-Agustin, N., Kawai, T., Kano-Nakata, M., Suralta, R. R., Niones, J. M., Hasegawa, T., Inari-Ikeda, M., Yamauchi, A. and Inukai, Y.	4. 巻 71
2. 論文標題 Morpho-physiological and molecular mechanisms of phenotypic root plasticity for rice adaptation to water stress conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Breeding Science	6. 最初と最後の頁 20-29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1270/jsbbs.20106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 3件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 仲田(狩野)麻奈, 若山正隆, 門脇里恵, Deshabandu KHST, 山崎竜太郎, 三屋史朗, 山内章, 江原宏
2. 発表標題 乾燥ストレス後の再灌水がイネ器官間の代謝変動に与える影響
3. 学会等名 日本作物学会第254回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kano-Nakata M, Yamauchi A., Inukai, Y, Hiroshi Ehara
2. 発表標題 Strategy of adaptation and plasticity of crop root under water stress environment
3. 学会等名 The 11th Global Plasma Forum（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 仲田(狩野)麻奈, Yap Seong Ling, Nikolay Britun, 石川健治, 橋爪博司, 堀勝, 江原宏
2. 発表標題 作物の生理形態特性からみるプラズマ照射後の環境ストレス応答
3. 学会等名 プラズマバイオコンソーシアム プラズマ種子科学研究会(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Agustin Ace Mugssy Lina, Natividad Marie Bie S., Ordonio Jeremias L., Cruz Pompe C. Sta., Lucob-Agustin Nonawin B., Suralta Roel R., Ehara Hiroshi, Kano-Nakata Mana
2. 発表標題 Drought tolerance screening and mutation breeding of specialty rice for rainfed lowland ecosystem
3. 学会等名 The 252th Annual Meeting of Crop Science Society of Japan(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Akira Yamauchi, Mana Kano-Nakata, Shiro Mitsuya, Yoshiaki Inukai, Yumika Watanabe, Kaho Inoguchi, Roel Suralta, Jonathan Niones
2. 発表標題 Root water uptake ability in relation to developmental plasticity and hydraulic conductivity under various types of water stresses
3. 学会等名 The 11th Symposium of the International Society of Root Research(国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仲田(狩野)麻奈, 三屋史朗, 江原宏, 山内章
2. 発表標題 根系形態と根呼吸に着目したイネの乾燥ストレス適応反応
3. 学会等名 第53回根研究集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akira Yamauchi, Mana Kano-Nakata, Shiro Mitsuya, Yoshiaki Inukai, Roel Suralta, Jonathan Niones
2. 発表標題 Functional significance of roots for adaptation and productivity of crop plants grown under various environmental stresses
3. 学会等名 10th Asian Crop Science Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Maria Corazon J. Cabral, Via Ann C. Marcelo, Roel R. Suralta, Jonathan M. Niones, Antoinette S. Cruz, Hiroshi Ehara, Yoshiaki Inukai, Akira Yamauchi, Mana Kano-Nakata
2. 発表標題 Genotypic variation in root morpho-anatomical traits of rice cultivars with high and low adaptability under multi-stress environment
3. 学会等名 10th Asian Crop Science Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasutaka Noda, Mana Kano-Nakata, Shiro Mitsuya, Akira Yamauchi
2. 発表標題 Root and leaf plasticity in response to soil moisture fluctuation in rice
3. 学会等名 10th Asian Crop Science Association Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野田康貴, 仲田麻奈, 三屋史朗, 山内章
2. 発表標題 イネにおける土壌水分変動条件に対して発揮する気孔形成ならびに根系発育に関わる可塑性
3. 学会等名 作物学会東海支部151回講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仲田（狩野）麻奈, Cabral Maria Corazon Julaton, Marcelo Via Ann Candelaria, 江原宏
2. 発表標題 乾燥と塩の複合ストレス条件下におけるイネ根系反応の品種間差
3. 学会等名 第54回根研究集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野田康貴, 江原宏, 仲田（狩野）麻奈
2. 発表標題 ソーラー灌水による節水効果とイネ収量性評価
3. 学会等名 日本作物学会第253回講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Maria Corazon J. Cabral, Roel R. Suralta, Jonathan M. Niones, Antoinette S. Cruz, Hiroshi Ehara, Yoshiaki Inukai and Mana Kano-Nakata
2. 発表標題 The Evaluation of Genotype by Environment (G×E) Interactions of 20 OryzaSNP panel in Relation to Dry Matter Production and Root System Development
3. 学会等名 日本作物学会第251回講演会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

名古屋大学農学国際教育研究センターHP https://icrea.agr.nagoya-u.ac.jp/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	若山 正隆 (Wakayama Masataka) (20721913)	愛媛大学・医学系研究科・講師 (16301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
フィリピン	フィリピン稲研究所			