

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660012

研究課題名(和文) ルートフェノミクス：ビッグデータを活用した新しい根系解析手法の開発

研究課題名(英文) Root phenomics: new method for analyzing root system

研究代表者

田島 亮介 (Tajima, Ryosuke)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：60530144

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：「緑の革命」から取り残された地域では低肥沃度であり、そこで肥料等低投入なまま収量をあげられる品種が求められている。それには作物根系が重要であり、根系の情報全般を解析して捉え直すこと、すなわちルートフェノミクスの確立が重要となる。そこで、本研究では栽培期間中に作物根系の画像を効率良く取得して解析するシステムを開発し、それをを用いてイネ、ササニシキ/ハバタキの染色体断片置換系統群の根系を解析した。その結果、伸長角度と冠根長に関係する量的遺伝子の候補が第5、第10染色体にそれぞれ存在することが予想された。本研究で開発したシステムはルートフェノミクスの確立に大きく貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Now, we need to improve the yield of crops grown in low-fertility soils with little use of fertilizer. Root system is an important role in this improvement and the concept of root phenomics that measure and analyze root system as a set of expressed root phenotypes is crucial. In this study, we developed a suite of high-throughput imaging tools that can easily get timelapse root images during the growth season and evaluate root traits with image analyses. Using the proposed system with growing the chromosome segment substitution lines of Sasanishiki / Habataki in rice, we found the quantitative trait loci on chromosome 5 and 10 in relation to growth angle and crown root length, respectively. The developed system has great contribution to accelerate progress in root phenomics.

研究分野：作物栽培学

キーワード：根系 イネ 画像解析

## 1. 研究開始当初の背景

「緑の革命」により世界の穀物の平均収量は飛躍的に増加したが、多くの開発途上地域ははまだ「緑の革命」から取り残されている。これらの地域では肥料・農薬・水の多投入が難しいため、かつての「緑の革命」品種を導入しても、その効果は薄い。そのため、これらの地域では新しく低肥沃度環境において肥料等の農業資材が低投入なまま高収量をあげられる品種の導入が必要である。

このような品種の開発においては作物の根系の重要性が指摘されている。しかし、根系は地上部に比して評価が難しく、多くの有用な形質が見過ごされている可能性がある (Gewin 2010)。例えば、Zhu ら(2010)は水の少ない環境で根の内部に空隙が形成されるトウモロコシの系統が形成されない系統と比較して8倍の収量をあげることが報告している。これまでそのような空隙は水田のように土壌が嫌氣的な状態での重要性は指摘されていたが、乾燥条件において重要な形質とはされてこなかった。このように、根系においてはこれまでまったく注目されてこなかった形質が想像もしなかった環境下での作物収量の増加に貢献する可能性がある。このような見過ごされた形質を評価するには、従来のように、あらかじめ有用な形質を予想して調査するのではなく、発育に伴って変化する根系形成全般の情報を捉え直す必要がある。根系の調査方法についてはこれまで研究手法の効率化が進められてきているが、いまだに効率化された、と言える状況ではなく、そのために1回の調査で得られる根系のデータは限定的である。そこで、これまで見過ごされてきた形質を評価するには、これまでとは大きく異なる高精度・高効率で解析する手法を開発して大量の根系データを取得して解析する必要がある。

近年、フェノミクス(Phenomics)と言う概念が注目されている(Furbank and Tester

2011, Lynch and Brown 2012)。これはゲノミクスに対応する概念であり、植物の様々な形質の情報全般をゲノム情報のようにシステム的に取り扱うことを示す。この観点から、作物根系のデータを高効率に大量に取得して、そのデータを解析すること、すなわち、ルートフェノミクス(Root Phenomics)を確立することが作物根系を活用した品種の開発において重要である。

## 2. 研究の目的

本研究では発育に伴って変化する作物根系の形質全般を高効率に解析するために、画像解析を用いた根系解析手法を開発し、それを利用して根系に関する大量のデータを取得して、そのデータを解析するシステムの開発をおこなうことが目的である。そのために、(1) 画像解析用の根系画像取得に適した作物栽培装置の開発、(2) 時系列で根系画像を取得する手法の開発、(3) 取得した画像から根系の形質をデータ化するプログラムの開発をおこなった。さらに開発したシステムを用いて、(4) 得られた形質データを総合的に評価するための根系形成モデルの利用、(5) イネの遺伝解析用系統群を栽培した解析について検討した。

## 3. 研究の方法

本研究は栽培手法・根系の解析の開発も目的の一つであるため、それらの手法の開発についてはこの「3. 研究の方法」では触れず次項で詳細に述べる。手法開発に用いた材料はホームセンター・家電量販店等で購入可能な汎用の材料と汎用機器であり、安価でシステム構築を行うことが可能である。

さらに、この本研究で開発した手法を用いて、イネの遺伝解析用系統群の解析をおこなった。材料としてササニシキ/ハバタキの染色体断片置換系統群 39 系統を用いた。親のササニシキとハバタキについては総根長に

差異があることが報告されており(浅沼ら2008), この染色体断片置換系統群を用いれば, 根系形質とゲノムの関係性について捉えやすい。

#### 4. 研究成果

##### (1) 作物根系画像取得に適した作物栽培装置の開発

発育に伴って変化する作物根系の画像取得を経時的におこなう必要があるために, 本研究ではそれに適する栽培手法の開発をおこなった。これまで紙を培地に作物を栽培するグロースポーチ法とガラスやアクリル板の壁面に根を這わせて観察するライゾトロン法があるが, それらを組み合わせた栽培装置を開発した(図 1)。すなわち, アクリル板と紙の間に種子を播き, アクリル板に作物根系を這わせる形で栽培する方法である。これにより根系形成を経時的に観察することが可能になった。また, 水, 栄養の供給は底面より随時おこなうことができる。また, 実規模で試験をおこなっていないが, これにスキャナを取り付けた状態で作物栽培をおこなうことが可能であることも確認しており, 次に述べる方法と組み合わせて栽培から画像取得までを完全に自動化しておこなうことも可能である。

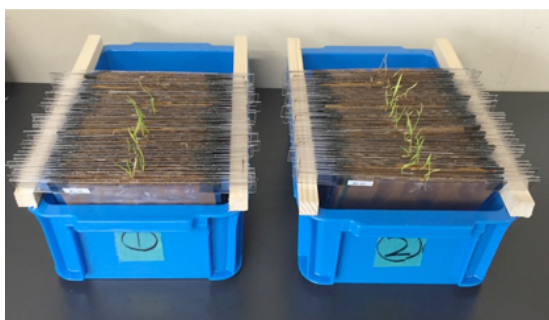


図 1. 画像取得に適した栽培方法

##### (2) 根系画像取得プログラムの開発

発育に伴って変化する作物根系の画像を高効率で取得するために, 複数のスキャナを制御して根系の画像を制御するシステムの

開発をおこなった(図 2)。汎用スキャナに付属するドライバや画像取得ソフトウェアでは, 複数スキャナの制御や継続的な画像取得をおこなうことはできないため, オペレータが機器を操作する必要があり, 根系画像取得に制限がある。そこで本研究では Macintosh コンピュータのイメージキャプチャ, または画像解析用のオープンソースアプリケーションである ImageJ を経由しておこなう方法を用いた。イメージキャプチャは Macintosh のアプリケーションが操作できる Applescript で, ImageJ は ImageJ のマクロ言語または Java を基本としたプラグイン言語を用いて操作することが可能であり, あらかじめスキャナをコントロールするコードを記述することで, 時系列順に画像を取得して保存することができる。これらのコードの例については「5. 主な発表論文等」の「[その他] ホームページ等」に示した URL で公開する予定である。

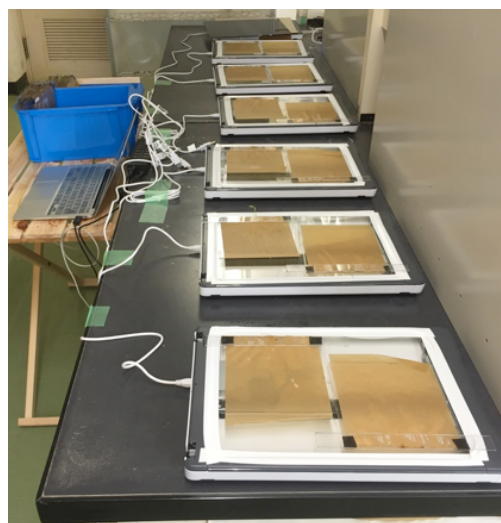


図 2. 根系画像取得方法

##### (3) 根系の諸形質をデータ化するプログラムの開発

(1), (2)の技術開発により, 多量に取得できる画像データから根系の形質をデータ化するプログラムを開発した。研究者がこれまでに開発したプログラム(Tajima and Kato 2011, 2013)を応用することで根数, 根の直径

別の長さ、側根数を測定することが可能となった。また、発育に伴った根系の変化については、時系列で取得した画像間の比較によってデータ化することができる。例えば、根の伸長速度は各画像のデータの差分から求めることが可能である。これらのコードの例についても検証・論文発表等をおこなった上で「5. 主な発表論文等」の「[その他] ホームページ等」に示した URL で公開する予定である。

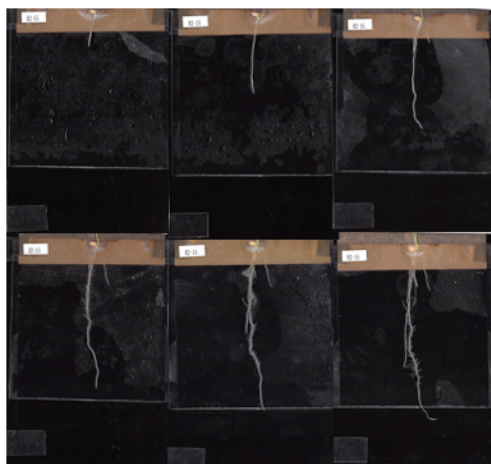


図 3. 経時的に取得した根系画像

#### (4) 根系形質データの統合のための根系形成モデルの利用

データ化した情報全体を評価するための「モデル」について検討をおこなった。そのためまず、1本の根(個根)についてモデル化を試みた。個根は発根時に伸長速度、直径、屈性のパラメータを持つように設定した。側根形成については、側根の出現時期と側根の発根間隔をパラメータとした。また、作物の発育ステージ後半における根の伸長の停止や枯死の時期についてもパラメータとして加えたが、これらについては本研究ではパラメータとして用いなかった。イネ科の場合は発育に従って新しい根(冠根)が成されていく。この複数の冠根の発根時期と発生時の根の鉛直方向および放射方向の角度をデータとして与えることで、仮想的に根系が形成され

るようにモデル化した。(1)(2)(3)で開発した方法で取得したデータとこのモデルを發展させて組み合わせることで、発育に応じた根系形成を検討する基盤ができると考えている。

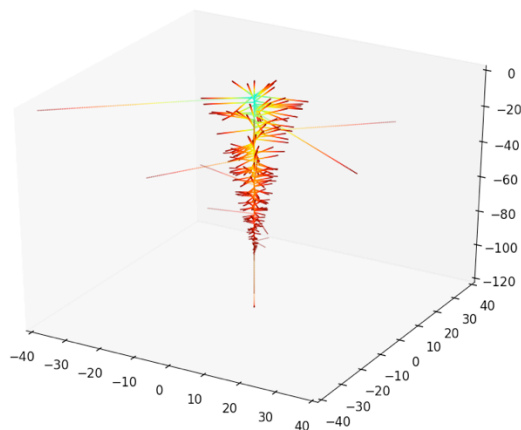


図 4. 1本の根の根系発育モデルの例

#### (5) 遺伝解析用系統群を用いた解析

上記(1)(2)(3)で開発した画像解析を用いた根系解析システムを用いて、ササニシキ/ハバタキの染色体断片置換系統群 39 系統を用いて解析した結果の一例を示す。図 5 には伸長角度と冠根長の頻度分布を示した。

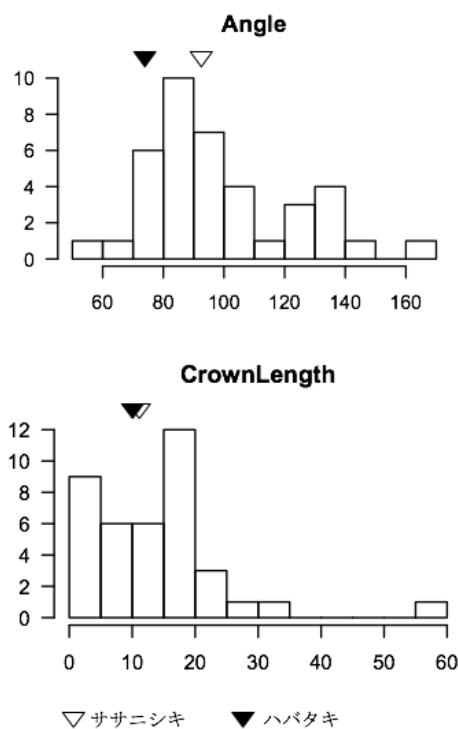


図 5. 伸長角度と冠根長の頻度分布

その量的遺伝子座の解析の結果が図6である。それぞれ5番染色体と10番染色体に大きなLOD値を示す領域が想定された。

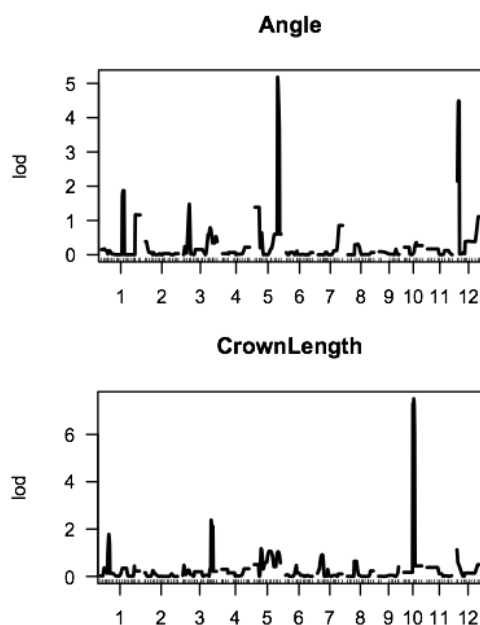


図6. 伸長角度と冠根長のLOD値

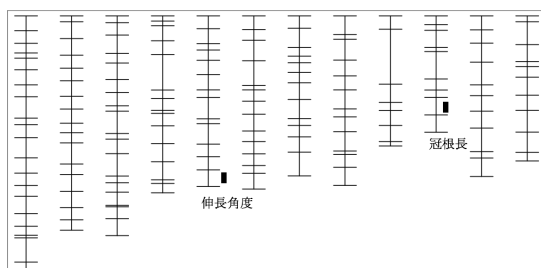


図7. イネの染色体地図上の位置。

以上のように高効率で大量の根系データを取得・解析することで、今後根系についての解析が進み、これまで見過ごされてきた有用な根系形質について評価することが可能となると考えられる。開発したシステムを応用することで、様々な作物の根系形質と遺伝子の関係が明らかとなって、作物育種等への応用が可能となる。これは有用な形質を予想して調査するこれまでの考え方とはまったく異なるものであり、根のフェノミクス研究の確立に大きく貢献すると考えられる。また、このようなシステムは、従来多額の投資をお

こなない施設を整備する必要があり容易におこなえるものではなかったが、本研究を基に一般的な機器を組み合わせることで可能となり、研究が加速すると考えられる。

#### <引用文献>

浅沼ら (2008) 水稻品種ササニシキとハバタキタキの収量, 乾物生産とこれに関わる生理生態的性質の比較. 日作紀 77: 474,-480.

Gewin (2010) An underground revolution. Nature 466: 552-553.

Furbank and Tester (2011) Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. Trends Plant Sci. 16: 635-644.

Lynch and Brown (2012) New roots for agriculture: exploiting the root phenome. Phil. Trans. R. Soc. B 367: 1598.

Tajima and Kato (2011) Comparison of threshold algorithms for automatic image processing of rice roots using freeware ImageJ. Field Crops Res. 121: 460-463,  
Tajima and Kato (2013) A Quick Method to Estimate Root Length in Each Diameter Class Using Freeware ImageJ. Plant Prod. Sci. 16: 9-11.

Zhu ら (2010) Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). Plant Cell Environ 33: 740-749.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

①田島亮介, 2014, ImageJを用いた画像解析による根長の評価, 根の研究, 査読無, 23, 75-81

〔学会発表〕(計2件)

①Tajima, R., T. Ito, M. Saito, 2015, The evaluation of root system architecture in rice plant using the data of root distribution, Rhizoshere 4, Maastricht, Netherlands. (21/Jun/2015-25/Jun/2015)

②田島亮介, Lionel Dupuy, 2014, イネ根系形成のシミュレーションモデル化の試み, 第41回根研究集会, 名古屋大学 (2014年9月6日)

[その他]

ホームページ等

<http://blukaniro.web.fc2.com/Support/>

[雑誌論文] ①の研究データ等関連ページ

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田島 亮介 (TAJIMA, Ryosuke)

東北大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：60530144