

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14763

研究課題名（和文）メタゲノム解析とQTL解析から探る、植物-土壌微生物群集相互作用機構

研究課題名（英文）Exploring mechanisms of plant-soil microbiome interactions by metagenome and QTL analysis

研究代表者

番場 大（Bamba, Masaru）

東北大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：70898288

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：マメ科モデル植物ミヤコグサを用いて、植物種内に生じる遺伝的な差異が根微生物群集に与える影響を明らかにし、またどのような遺伝的差異が微生物と関連しているのかを検証した。本研究から植物種内の遺伝的差異が根微生物群集に与える影響は小さいことが示されたものの、RhizobialesやBurkholderialesは少数の遺伝子座の違いに有意に関連していた。このことから、根微生物群集を構成する大部分の微生物は植物種内の遺伝的な違いに依存していないが、一部の、特に植物との密接な関係が報告されている微生物においては植物の遺伝的差異に感受性高く反応していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

持続可能な農業を推進する上で、植物と土壌微生物の関係を理解することは不可欠である。本研究より、従来植物の生育に密接に関連していることが報告されているRhizobialesやBurkholderialesの微生物が、植物の少数の遺伝子座に依存していることが明らかとなった。これらの結果は、植物にとって有益な植物-微生物相互作用を司る遺伝基盤を遺伝学手法を用いて明らかにすることが可能であることを示唆しており、また将来的には育種的に有益な相互作用を選抜することも可能になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Using the model legume plant *Lotus japonicus*, we investigated the effects of genetic differences within a plant species on root microbiome and examined which genetic differentiations were associated with these microbes. Although our study found that the impact of genetic differentiation on root microbiome was small, Rhizobiales and Burkholderiales were significantly associated with differences at a small number of genetic loci. This suggests that while most of the microbes constituting the root microbiome do not depend on genetic differences within the plant species, some microbes, particularly those known to have close relationships with plants, are highly sensitive to the plant's genetic differences.

研究分野：植物-微生物相互作用，進化生物学

キーワード：植物-微生物相互作用 QTL解析 16S アンブリコンシーケンス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物と土壤微生物群集の相互作用は、植物の生産性に極めて大きな影響を与える (van der Heijden et al. 1998)。土壤微生物群集は、植物にとって有益な共生者から不利益な寄生者まで多様な微生物より構成される (Finkel et al. 2017)。そのため、土壤微生物群集との相互作用の多くは、植物の生産性を高めると考えられているものの、ひとたび群集が変化すると植物にとって不利益な作用に変貌する (Berendesen et al. 2012)。しかし、現在までに菌根菌や窒素固定細菌など個々の微生物と植物の相互作用については、相互作用機構や遺伝的基盤が詳細に明らかになりつつあるものの、個々の微生物が群集として植物とどのような相互作用をするのか未だほとんど明らかになっていない。

植物と土壤微生物群集の相互作用は植物の遺伝子型 (G)、土壤に含まれる微生物群集 (M)、生育する環境 (E) の 3 つの要素が複雑に絡み合いながら植物の根の内部や周囲に特有の微生物群集を形成し、植物の生育に影響を及ぼす。今までに多くの研究がこれらの要素の効果を報告しているが、実際の野外環境においてはこれらの要素を正確に評価することは困難であった (Weinert et al. 2011; Bulgarelli et al. 2012; Lundberg et al. 2012; Peiffer et al. 2013)。そのため、どの要因が植物の生育に特に重要なのかを明らかにするためには、これらの要因を分離し互いの組み合わせ効果を考慮して植物の生育への影響を評価することが必要であった。加えて、植物と土壤微生物群集の相互作用が植物のどのような遺伝的分化に規定されているのかも未だほとんど明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では植物と土壤微生物群集の相互作用がどのように植物遺伝基盤を介して制御されるのかを明らかにすることを目的として、以下2つの問いにアプローチした。

- 1: 植物と土壤微生物群集の相互作用は植物の遺伝的差異の影響を受けているのか？
- 2: 植物と土壤微生物群集の相互作用はどのような遺伝的分化により規定されるのか？

3. 研究の方法

[I] 植物と土壤微生物群集の効果を正確に評価するための *in vitro* 実験系の確立

本実験には、マメ科のモデル植物であるミヤコグサ *Lotus japonicus* とその近縁種 *L. burttii* を含んだ 9 系統と東北大学大学院生命科学研究所附属の灌水生態系野外実験施設の圃場土壌より抽出した微生物群集を用いた。灌水生態系野外実験施設においては、2017 年から 2019 年までの 3 年間にわたって塩水灌漑を施した高塩分圃場と隣接した非加塩圃場が利用可能であり、本研究ではこれら 2 つの圃場から抽出した土壤微生物群集とこれらを混合した微生物群集、および微生物群集非存在の 4 条件を用いた。また、環境条件として塩分添加と非添加の環境を作成し、全 72 組み合わせで合計 749 個体を生育させた。そして、生育後の植物成長量を測定、根微生物群集を 16S アンプリコンシーケンスを用いて検出し、統計解析を通して G, M, E、およびそれらの交互作用の効果を評価した。

[II] 土壤微生物群集との相互作用を規定する植物遺伝子座の探索

本研究ではミヤコグサ Gifu 系統と *L. burttii* 系統、Gifu 系統と MG20 系統との間に作出された 2 種類の組み換え自殖系統 (Recombinant Inbred Lines; RILs) を用いた接種実験を行なった。接種実験は [I] と同様の系を用い、Gifu-burtii RILs 67 系統 178 個体、Gifu-MG20 RILs 127 系統 451 個体、およびそれぞれ両親 3 系統 73 個体、合計で 197 系統 702 個体に対して、同じく灌水生態系野外実験施設加塩分圃場より採取した土壤微生物群集を接種した。そして、接種後 4 週間の植物根微生物群集を 16S アンプリコンシーケンスにより根微生物群集を検出した。彫られた根微生物群集を構成する微生物 (Amplicon sequence variants; ASV) と、Shah et al. 2016 により報告されている RILs 連鎖ブロック情報を用いて QTL 解析を行ない、各 ASV の総体存在量と関

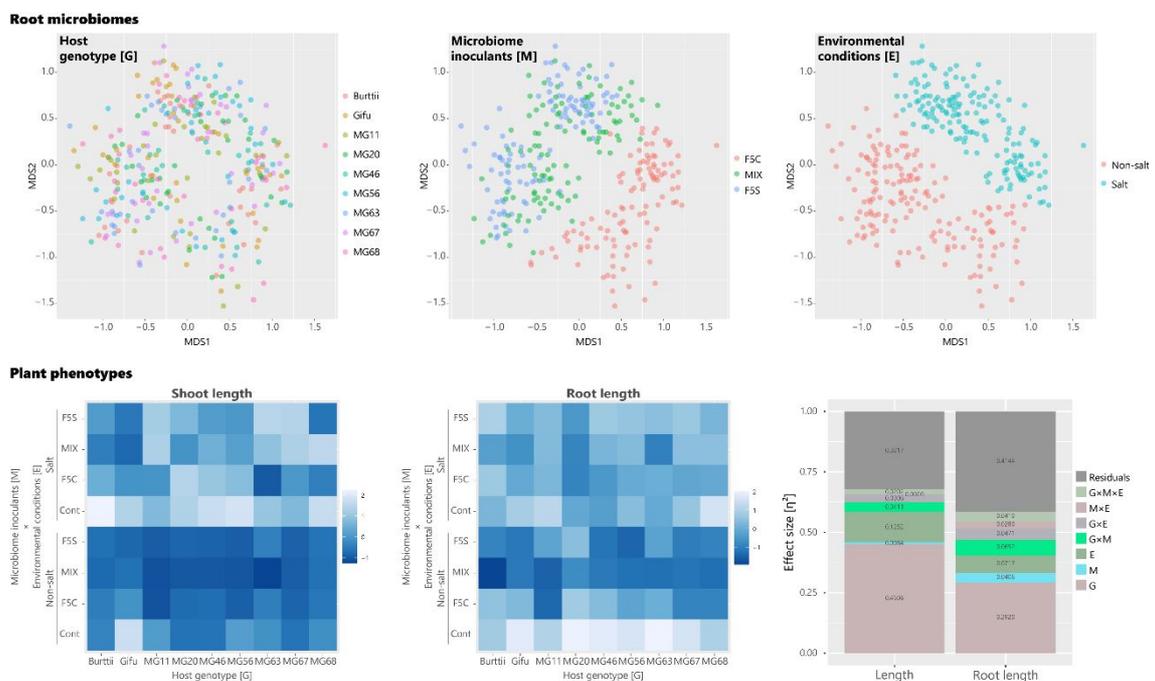
連する植物遺伝子座を探索した。

4. 研究成果

[I]

植物9系統(G), 接種微生物群集4種類(M), 生育環境2条件(E)の72組み合わせにおける接種実験の結果, 植物の根微生物群集の大部分は土壤に存在する微生物群集(M)と生育環境によって規定されていることが明らかとなった(図1)。一方で, 植物系統(G)は有意だが小さな効果のみ観察され, 他効果との交互作用を考慮しても植物系統の効果は小さいと言える。対照的に, 植物の生育においては植物系統(G)と生育環境の効果が大きく, 土壤微生物群集(M)の効果は小さく, 土壤微生物群集と植物系統の組み合わせ効果(G×M)が土壤微生物群集単体の効果を上回っていた。これらのことは, 土壤微生物群集の違いに依存する大部分の微生物群集との相互作用は植物の生育に大きな影響を及ぼさず, 植物系統ごとに土壤微生物群集との相互作用効果が大きく異なることを示唆している。また, これらのG×MおよびM効果は植物地下部の方が地上部に比べて大きいことから, 微生物群集の効果は植物系統ごとに根から地上部へ緩衝/促進されつつ広がっていることが示唆される。

本研究成果は植物と土壤微生物群集の関係を活用する際には, 植物系統間の違いを考慮する必要があるという知見を提供する。これは持続可能な農業を目指しつつ農業生産を最大化する際には必要不可欠な要素となる。また, これらの治験は農業だけでなく植物の保全や生態学研究にも役立つ可能性がある。本研究ではどのような遺伝子型をもつ植物系統がどのような土着の土壤微生物群集と出会うかが, 植物がその場所で生育するのに重要な要素であることを



示している。このような知見は特に絶滅危惧植物の生息域外保全を行う場合に役立てられる可能性がある。

[II]

2種類のみヤコグサ RILs を用いた接種実験を行い 702 個体の根微生物群集の調査を行った。まず, 両親種に限った多様性解析を行った結果, 両親種同士で多様性は有意な違いは観察されず, 多様性を用いた nMDS 解析においても両親種として明確なクラスターは観察されず, 個体間の分散に内包されることが明らかとなった。一方で, Burkholderiaceae や Pseudomonadaceae など 9科においては, 両親種間で頻度に差がある ASV が有意に偏って分布していることが明らかと

なった。加えて、RILs を用いた QTL 解析においても、Gifu-MG20 RILs では Rhizobiales と Burkholderiales に属する 20 の ASV で何らかの植物遺伝子座との関連が観察され、Gifu-Burtii RILs においても同様に Rhizobiales や Burkholderiales に属する 42 の ASV との関連が観察された。また、これらの微生物との相互作用に関連していた遺伝子座は多岐にわたっていたものの、複数の分類群にまたがって同じ遺伝子座で制御されていることが示唆される傾向が観察された。

これらの結果をまとめると、Rhizobiales や Burkholderiales などの従来より根圏で植物と密接な関係を築いている報告がされている微生物においては、植物種内や近縁種間に生じる遺伝的な違いに対して、感受性高く反応していることが示唆される。また、複数の分類群にまたがる ASVs が同じ遺伝子座と関連していることは、植物の遺伝的多型に伴った共通のパスウェイが複数細菌に同様の効果をもたらす可能性が示唆される。今後はこれらの関連解析を微生物同士の相互作用を考慮したモデルをもとに行うことで、より詳細に根微生物群集を規定する遺伝子座やそのパスウェイが明らかになることが期待される。

引用文献

- Van Der Heijden, Marcel GA, et al. "Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity." *Nature* 396.6706 (1998): 69-72.
- Finkel, Omri M., et al. "Understanding and exploiting plant beneficial microbes." *Current opinion in plant biology* 38 (2017): 155-163.
- Berendsen, Roeland L., Corné MJ Pieterse, and Peter AHM Bakker. "The rhizosphere microbiome and plant health." *Trends in plant science* 17.8 (2012): 478-486.
- Weinert, Nicole, et al. "PhyloChip hybridization uncovered an enormous bacterial diversity in the rhizosphere of different potato cultivars: many common and few cultivar-dependent taxa." *FEMS microbiology ecology* 75.3 (2011): 497-506.
- Peiffer, Jason A., et al. "Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110.16 (2013): 6548-6553.
- Bulgarelli, Davide, et al. "Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota." *Nature* 488.7409 (2012): 91-95.
- Lundberg, Derek S., et al. "Defining the core Arabidopsis thaliana root microbiome." *Nature* 488.7409 (2012): 86-90.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1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 Bamba Masaru, Akyol Turgut Yigit, Azuma Yusuke, Quilbe Johan, Andersen Stig Uggerhøj, Sato Shusei	4. 巻 100
2. 論文標題 Synergistic effects of plant genotype and soil microbiome on growth in <i>Lotus japonicus</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Ecology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/femsec/fiae056	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 Bamba Masaru, Akyol Turgut Yigit, Azuma Yusuke, Quilbe Johan, Andersen Stig Uggerhøj, Sato Shusei	4. 巻 None
2. 論文標題 Genotype by microbiome interactions have large effects on growth in <i>Lotus japonicus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BioRxiv	6. 最初と最後の頁 None
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2022.03.28.486086	査読の有無 無
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6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 番場大, 佐藤修正
2. 発表標題 ミヤコグサ組み換え自殖系統を用いた根微生物群集に関する QTL 解析
3. 学会等名 植物微生物研究会第32回研究交流会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 番場大, Akyol Turgut Y, Quilbe Johan, Andersen Stig U, 佐藤修正
2. 発表標題 ミヤコグサ根微生物群集に対するQTLマッピング
3. 学会等名 日本植物学会第86回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 ミヤコグサ根微生物群集に対するQTL解析
2. 発表標題 番場 大, Akyol Turgut Y, Quilbe Johan, Andersen Stig U, 佐藤 修正
3. 学会等名 日本進化学会第24回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋 隼, 番場 大, 三岡 周子, Mustamin Yusdar, Manggabarani Madih, 磯村 芳子, 林 篤司, 七夕 高也, 橋口 拓勇, 橋口 正嗣, 佐藤 修正
2. 発表標題 圃場栽培したミヤコグサの表現型を制御するゲノム領域の解析: 画像解析を利用したアプローチ
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 番場 大, Turgut Yigit Akyol, 東 優佑, Stig Uggerhoj Andersen, 佐藤 修正
2. 発表標題 植物-微生物群集相互作用をとりまく植物, 群集, および環境の効果
3. 学会等名 植物微生物研究会 第30回研究交流会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 東 優佑, 番場 大, Turgut Yigit Akyol, Stig Uggerhoj Andersen, 佐藤 修正
2. 発表標題 ミヤコグサ根微生物群集の成育土壌及び生育期間の関連
3. 学会等名 植物微生物研究会 第30回研究交流会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 山内 靖雄、須藤 修、和田 哲夫、日本バイオスティミュラント協議会	4. 発行年 2022年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 500
3. 書名 バイオスティミュラントハンドブック	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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		
デンマーク	Aarhus University		