

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：63801

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25640103

研究課題名(和文) Plant genetic loci controlling rhizosphere microbial community composition

研究課題名(英文) Plant genetic loci controlling rhizosphere microbial community composition

研究代表者

池尾 一穂 (Ikeo, Kazuho)

国立遺伝学研究所・生命情報研究センター・准教授

研究者番号：20249949

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：根を取り巻く微生物群集の組成は根の影響を受けているが、植物体の遺伝子型の違いにより、微生物群集の違いを引き起こす可能性がどの程度かは不明である。根圏に関する微生物のコミュニティが、植物の遺伝子型に応じた多様性とその組成が明らかになれば、その情報を用いて有利な根圏組成物用作物ゲノムを育種することが可能となる。

本研究で、植物の遺伝子型に関連する微生物群集の組成は、イネ種や品種の系統発生的距離と相関していないことが明らかになった。また、野生種が栽培種よりもその根圏に大きな影響を及ぼし得ることを示唆し、品種に依存するものよりも多様であった。

研究成果の概要(英文)：If the root-associated microbial communities are substantially different depending on the plant genotype, it may be possible to breed crop genomes for advantageous rhizosphere composition. As a first step to addressing these questions we surveyed a series of plant species and cultivars spanning the *Oryza* genus, growing them in the same nutrient-poor soil and assessing the composition of their rhizosphere and surrounding soil bacteria and archaea using 16s rDNA sequencing. We found that differences between microbes associated with differing plant genotypes were not correlated with phylogenetic distance of the *Oryza* species or cultivars. Microbial populations associated with the rhizosphere of wild rice species were less diverse than those associated with cultivars, suggesting that wild species may exert a greater influence on their rhizosphere than cultivated species, and the ability to select rhizosphere microbes may have been eroded during rice domestication.

研究分野：ゲノミクス

キーワード：ゲノム 次世代シーケンシング メタゲノム 16s DNA 多様性 バイオインフォマティクス イネ

1. 研究開始当初の背景

Rhizosphere (根圏) は、根の影響下で微生物を活性化し、微生物多様性を低下させる領域である。根圏の植物に対する影響は、栄養分の上昇と感染を抑制する。植物は根の周り及び根の中に微生物叢を構築し、根圏の微生物叢は、栄養分の取り込みと感染の抑制に影響を及ぼす。根と根圏に生育する微生物群は、植物からの浸出液による栄養供給だけでなく植物の免疫システムの影響も同時に受ける。土壌環境の状態に強く影響を受けるホスト植物の遺伝子型の影響を受けて、根における微生物群は成長する。ホスト植物の遺伝子型は、特定の生物分類群の量的な増加に対する中心的な役割を果たす。選別を受けた作物は、作物化と育種により、狭い遺伝子多様性を持つ傾向にある。

現在、イネの品種は栽培化とそれに伴う選択により遺伝的多様性が低下しており、そのため根圏から受ける有益な影響が低下もしくは欠落していることが推定される。植物根圏微生物群は、ホスト植物の遺伝型の影響を少なからず受けていると考えられる。栽培植物では、その育種過程において、野生種に比べると選別によるボトルネック効果により遺伝的多様性が小さくなっている。もし、ホスト生物の遺伝的多様性の現象が根圏微生物群の減少にも影響しているなら、野生種から栽培種への遺伝子導入により、栽培種および栽培種根圏微生物群の多様性を再導入出来ることが期待される。

すなわち、根を取り巻く微生物群集の組成は根の影響を受けているが、植物体の遺伝子型の違いにより、微生物群集の違いを引き起こす可能性がどの程度かは不明である。根圏に関する微生物のコミュニティが、植物の遺伝子型に応じた多様性とその組成が明らかになれば、その情報を用いて有利な根圏組成物用作物ゲノムを育種することが可能となる。

作物ゲノムは、品種育成栽培中に発生したボトルネックの影響を受けた遺伝背景を持っている。その狭い遺伝背景が根圏関連微生物群集の組成に制限を引き起こすかどうか不明である。そこで、異なる遺伝背景の影響下でのイネ根圏微生物群集の微生物叢組成の多様性を調べるために、栄養の乏しい土壌で成長させた異なる遺伝背景を持つ野生種と栽培種イネの根圏微生物叢の多様性を次世代シーケンサーによるメタゲノムの手法を用いて調査した。

また、得られた結果は、野生イネ種の根圏微生物群は、野生種が栽培種よりもその根圏に大きな影響を及ぼし得ることを示唆し、品種に依存するものよりも多様であった。これは、根圏微生物を選択する能力は、米の栽培化を通じて形成された可能性を示唆している。

また、植物ゲノム遺伝型と根圏微生物群組成の関係を明らかにすることは、将来のゲノム育種において、野生種の遺伝子を栽培品種に導入すること際の有用な知見となり、根もしくは根圏における微生物叢の最適化に有用であると考えられる。

野生種には、栽培種に存在せず植物根圏の微生物叢に影響するような遺伝子座がまだまだ存在すると予測される。特に、植物の免疫に関わる遺伝子は早く進化しており、野生種間で大きな多様性を維持していることが期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、イネ在来種と野生種の染色体置換システムを用いて、根圏微生物叢と植物体の相互作用に影響を与える遺伝子座を見つけることを目的とする。本研究を通して、根圏微生物叢の構築と変化の過程をホスト植物との関連を含めてゲノム生物学的アプローチから明らかにすることを目的に研究を進めた。

そのために、根圏微生物群と宿主遺伝型の関係を調べるために、国立遺伝学研究所で系統維持されているイネ野生種および栽培種を用いて根圏微生物群の多様性を次世代シーケンスによるメタゲノム解析を行うことによって調べた。具体的には、もし、根圏微生物群の多様性が、宿主植物の遺伝子型に影響されているならば、根圏微生物群の構成を有利に変化させるような方向でのゲノム育種が可能であると期待される。この目的のために、同一の栄養条件下で栽培された野生種および栽培品種イネの間で、異なる遺伝子型による根圏微生物群の組成の多様性を調べた。

3. 研究の方法

本研究では、根圏微生物層の構成に、イネゲノム上のどの領域が関わっているかを野生種、在来種を用いて明らかにしていくことである。この目的のために、イネ栽培種をバックグラウンドにした染色体置換系統(CSSLs)を用いた。これらの系統は、分子マーカーを用いた選別により、野生種もしくは在来種の染色体を栽培種ゲノム上に置換しており、全ゲノム解析が可能のようにゲノム全域にわたり置換が行われている系統が存在する。我々は、Nipponbare/Kasalath を用いたCSSLsを用いて研究を進めた。

まず、最初の段階として、イネ野生種や栽培品種を栄養の乏しい土壌で成長させ、その根圏微生物群集の組成を次世代シーケンサーによるメタゲノムシーケンスから得られた16S rDNAの塩基配列を使用し、根圏の微生物群集組成を土壌細菌と古細菌を含めて調べた。

その結果、植物の遺伝子型に関連する微生物群集の組成は、イネ種や品種の系統発生的距離と相関していないことが明らかになった。

4. 研究成果

我々は、宿主植物の遺伝型に影響される根

圏微生物群の構成の違いは、必ずしも、野生種、栽培種の違いに関わらず、宿主植物の系統と関係しないことが明らかになった。また、我々の結果は、野生イネの根圏微生物群の多様性は栽培種の根圏微生物群の多様性より小さいことを示している。言い換えると、イネ野生種、栽培品種の系統関係と根圏微生物群の組成に相関は見られなかった。また、野生イネ種は、栽培イネに比べて、その根圏微生物群への依存が高く多様性が小さくなっていることが示唆された。また、育種における選択過程を通じて栽培種は根圏微生物群の選別に対する能力が弱くなった可能性が考えられた。

また、例えば、ヒメトピウンカ抵抗性の遺伝子は、*Oryza officinalis* から栽培品種に導入されたように、これらの成果は、感染源の変異や抵抗性が変異した場合に、感染症抵抗性遺伝子の多様性が重要であることを示唆するとともに、有用遺伝子探索の際の手がかりになることが期待される。以上のことから、野生種の遺伝子を栽培品種に導入することは、根もしくは根圏における微生物叢の最適化に有用である可能性を指示する結果が得られたと考えられる。

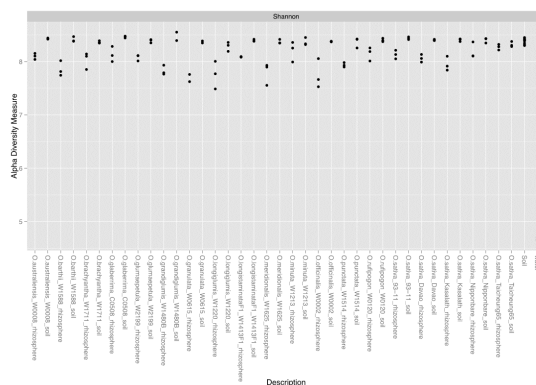


Figure 1.D Measures of alpha diversity for individual cultivars Shannon's diversity index for all samples arranged by cultivar and sample. Blue bars indicate cultivated rice samples

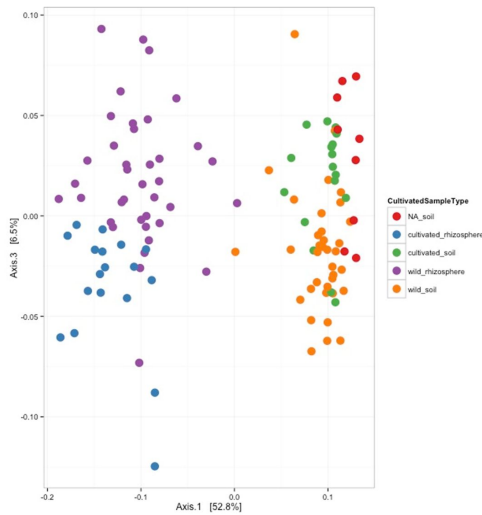


図2 サンプル間比較の主成分分析

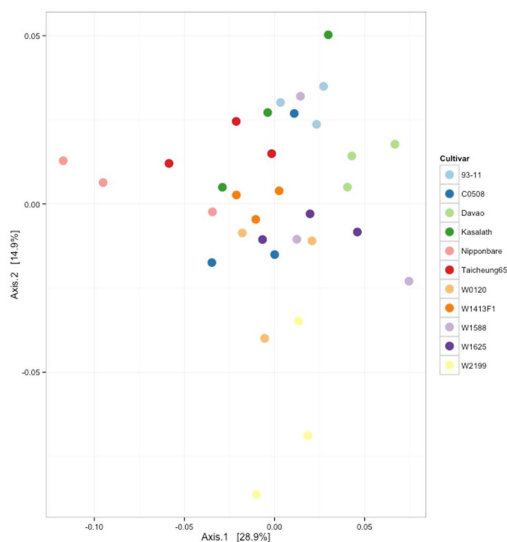


図3 サンプル間の生物群の比較解析

〔雑誌論文〕(計2件)

Monden Y, Fujii N, Yamaguchi K, Ikeo K, Nakazawa Y, Waki T, Hirashima K, Uchimura Y, Tahara M. Efficient screening of long terminal repeat retrotransposons that show high insertion polymorphism via high-throughput sequencing of the primer binding site. Genome. 2014 May;57(5):245-52. (査読有)

Monma N, Gojobori T, Ikeo K. Human genome network platform: a resource for TFRN analysis. Methods Mol Biol. 2014;1164:147-62. (査読有)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者
池尾 一穂 (IKEO, Kazuho)
国立遺伝学研究所 生命情報研究センター・准教授
研究者番号：20249949