

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：34316

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07672

研究課題名(和文) サツマイモネコブセンチュウ系統のエフェクター多型比較

研究課題名(英文) Genetic diversity of root-knot nematode effector proteins

研究代表者

浅水 恵理香 (Asamizu, Erika)

龍谷大学・農学部・教授

研究者番号：00370924

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：植物寄生性線虫の一種であるサツマイモネコブセンチュウは、世界の農業に甚大な被害を与えている。サツマイモネコブセンチュウは多食性であり、寄主は被子植物25万種に及ぶが、作物種や品種によって、感染力の差(寄主適合性の違い)が見られる。この差を引き起こす原因を探ることによって、寄主範囲の広さの謎を解く鍵を得ることができると考えた。本研究では、48系統という多数のサツマイモネコブセンチュウ系統を用いることで、世界で報告のなかったゲノムワイド関連解析に初めて成功した。その結果、寄主適合性に関わる「ホットスポット」ともいべきゲノム領域を発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物寄生性線虫が農業上の重要害虫であることは、広く認識されている。それにも関わらず病害メカニズムの解明が進んでいない理由には、その扱いにくさがある。感染ステージの幼虫は1mmに満たず肉眼で見えないこと、土壤中で根に感染するため観察が難しいこと、絶対寄生生物であるため実験室での維持に労力がかかること、などが挙げられる。

我々は、多数のサツマイモネコブセンチュウ系統を材料として、ゲノム科学の側面から研究を進めてきた。本線虫種は、ゲノム進化や環境適応の研究材料として、学術的に大きな可能性をもっている。本研究で得られた基礎的な知見は、安全かつ持続的な生物的防除方法の確立に役立てていくことができる。

研究成果の概要(英文)：Plant parasitic root-knot nematodes (RKN) *Meloidogyne incognita* causes significant crop losses worldwide. Although RKN are polyphagous, with wide host ranges, races with differing host compatibilities have evolved. Associations between genotype and infection phenotype in *M. incognita* have not yet been discovered. In this study, 48 *M. incognita* isolates were collected from geographically diverse fields in Japan and their genomes sequenced. The isolates exhibited various infection compatibilities to five sweetpotato (SP) cultivars and were assigned to SP races. Genome-wide association analysis identified 743 SNPs affecting gene coding sequences, a large number of which (575) were located on a single 1 Mb region. Principal component analysis of isolates from this study and globally-collected isolates showed selective divergence in this 1 Mb region. Our results suggest for the first time that the host could be a key determining factor stimulating the genomic divergence of *M. incognita*.

研究分野：植物線虫学

キーワード：植物寄生性線虫 線虫ゲノム エフェクター サツマイモネコブセンチュウ

1. 研究開始当初の背景

サツマイモネコブセンチュウのエフェクターを同定する試みは、プロテオームやトランスクリプトーム解析が数多く報告されているものの、これらの研究ではそれぞれ単独の線虫系統を用いているため、レースによる感染能力の違いを説明することはできていない。線虫害では、抵抗性打破レースの出現がしばしば問題となっており、単独の線虫系統をモデルとした実験では、メカニズム解明や応用展開が限定されることが危ぶまれる。

本研究では、国内各地の圃場で単離されたサツマイモネコブセンチュウ 48 系統を材料として、サツマイモ 5 品種に対する感染表現型とゲノム多型を関連づけ、宿主植物との相互作用に関するエフェクターの同定を目指す。

2. 研究の目的

サツマイモネコブセンチュウは、世界中の作物圃場で大きな問題となっている植物寄生性線虫である。抵抗性品種の育成が進んでいるのは一部の主要作物に限られ、それらの作物においてさえ、抵抗性打破レースの出現がしばしば起こっている。

本研究では、国内で単離されたサツマイモネコブセンチュウ 48 系統のゲノムを解読し、得られた多型と感染性との関連を明らかにする。植物寄生性線虫の感染メカニズムについて、エフェクターの種類と宿主因子との相互作用に関する新たな発見が期待でき、基礎研究および実用面への応用に展開しうる成果を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) サツマイモネコブセンチュウ系統のゲノム解読と多型解析を行う。うち 1 系統 (Kmm1_Gs004) について Sequel システム (PacBio) でロングリードデータを取得し、アセンブルしたものを参照配列とする。全 48 系統について HiSeq4000 または NextSeq500 (Illumina) でショートリードデータを取得し、参照配列にマッピングすることで、多型を検出する。

(2) サツマイモ 5 品種に対する感染表現型を調査し、(1) で得られた多型とのゲノムワイド関連解析を行い、感染に関連する遺伝子を同定する。

4. 研究成果

我々は、サツマイモネコブセンチュウ (*Meloidogyne incognita*) を用いて、サツマイモ品種に対する感染形質の違い、すなわち「好き嫌い」の原因を探り、関連するゲノム領域を以下のよう

に同定した (Asamizu *et al.*, 2020)。国内各地の圃場から単離されたサツマイモネコブセンチュウ系統は、サツマイモ 5 品種を用いた検定で異なる感染形質を示すことが知られており、Sweet Potato (SP) レースとして分類されている (Sano & Iwahori, 2005)。この違いをもたらす要因を明らかにするため、我々は 48 系統のゲノム配列を解読し、一塩基多型 (SNP) の比較を行った。並行して、表現型解析を行い、32 系統を SP レースに分類した (表 1)。

遺伝子型と表現型を対応付ける方法としては、交雑で得られるマッピング集団を用いる従来の遺伝学的方法が有効である。しかしながら、サツマイモネコブセンチュウは単為生殖を行うため、この方法が取れない。そこで我々は、サツマイモネコブセンチュウでこれまで報告のなかったゲノムワイド関連解析 (GWAS) を実施し、感染形質に関連する遺伝子座の同定に初めて成功した。

その結果、非常に興味深いことが分かった。感染形質関連 SNP は 743 あったが、そのうちの 575 (77.4%) は同じゲノム領域に集積しており、その領域の長さは約 1 メガベース (Mb) であった。線虫ゲノムには、感染に関わる「ホットスポット」とも呼ぶべき領域が存在していた。

表 1 SP レース検定結果

	SP1	SP2	SP3	SP4	SP6
農林1号	V	V	V	V	V
農林2号	A	V	A	V	A
種子島紫7	A	A	V	V	V
エレガントサマー	A	A	A	V	V
ジェイレッド	A	A	A	A	A
検定結果 (線虫系統数)	14	7	3	2	6

V: 感染する, A: 感染しない

アメリカや、アフリカ大陸由来のサツマイモネコブセンチュウ系統とのゲノム比較も行った。これら 19 系統も、圃場で単離されたものである (Szitenberg *et al.*, 2017; Koutsovoulos *et al.*, 2020)。全ゲノムの比較では、日本の 48 系統は互いに類似しており、海外系統の中にも似たものがあることが分かった (図 1)。一方で感染に関わる「ホットスポット」領域は、SP レースによって明確に分かれ、SP3-4-6 グループにはブラジル由来系統が含まれていた (図 2)。SP1-2 の遺伝子型は主にヘテロ型で一部ホモ型であり、SP3-4-6 の遺伝子型は主にホモ型であった。我々はこれらの結果から、日本の系統はブラジルに由来しており、宿主という条件に適応するように、ゲノムを変化させたと考えた。

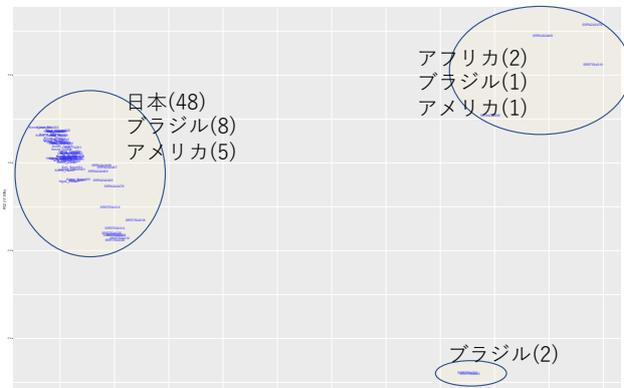


図 1 世界の系統間のゲノム比較

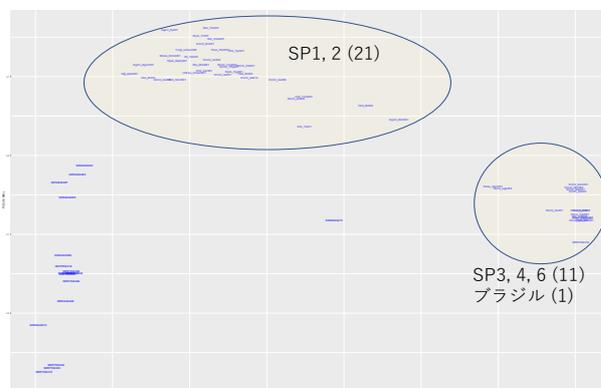


図 2 感染形質関連 SNP 集積ゲノム領域の分類

本研究で見出された感染に関わる「ホットスポット」領域には、25 遺伝子がコードされていた。その中には、100 アミノ酸残基以下の短いタンパク質をコードするものが複数含まれていた。特徴的なものとして、植物のシグナルペプチドとして知られる CLE ペプチドと相性を示す配列が、新たに見つかった (図 3)。この結果から、この領域には植物との相互作用に関わるタンパク質が存在する可能性が高いと考えられる。

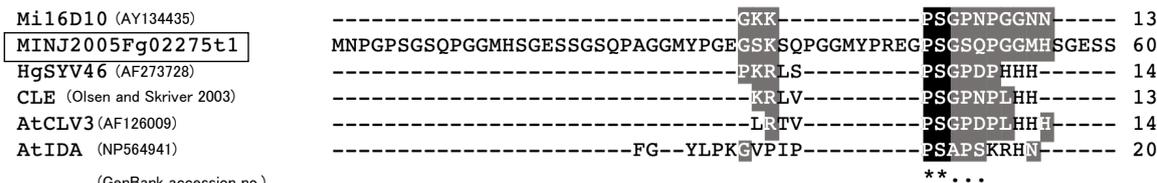


図 3 感染形質関連 SNP 集積ゲノム領域で見つかった CLE 様モチーフ (MINJ2005Fg02275t1)

<引用文献>

Asamizu, E. *et al.* (2020) *Mol. Plant Pathol.* **21**: 1088-1098.
 Sano, Z. and Iwahori, H. (2005) *Jap. J. Nematology* **35**, 1-12.
 Szitenberg, A. *et al.* (2017) *Genome Biol. Evol.*, **9**, 2844-2861.
 Koutsovoulos, G.D. *et al.* (2020) *Evol. Appl.*, **13**, 442-457.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Asamizu Erika, Shirasawa Kenta, Hirakawa Hideki, Iwahori Hideaki	4. 巻 21
2. 論文標題 Root knot nematode genetic diversity associated with host compatibility to sweetpotato cultivars	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Plant Pathology	6. 最初と最後の頁 1088 ~ 1098
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/mpp.12961	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 浅水 恵理香
2. 発表標題 サツマイモネコブセンチュウゲノム解読で見えてきたこと
3. 学会等名 日本線虫学会第27回大会公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Erika Asamizu, Kenta Shirasawa, Hideki Hirakawa and Hideaki Iwahori
2. 発表標題 Genotyping of 50 Meloidogyne incognita isolates revealed possible polymorphisms related to the infection phenotype against sweet potato cultivars
3. 学会等名 33th Symposium of the European Society of Nematologists（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浅水 恵理香・白澤 健太・平川 英樹・岩堀 英晶
2. 発表標題 サツマイモネコブセンチュウSPレースの遺伝子型解析
3. 学会等名 2018年度 日本線虫学会定期大会(第26回大会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 E. Asamizu, K. Shirasawa, H. Hirakawa, H. Iwahori
2. 発表標題 Genotype and phenotype analysis of root knot nematode (<i>Meloidogyne incognita</i>) isolates
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浅水恵理香, 白澤健太, 平川英樹, 岩堀英晶
2. 発表標題 サツマイモネコブセンチュウ系統のゲノム多型解析
3. 学会等名 植物微生物研究会第 27 回研究交流会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Asamizu E
2. 発表標題 Genotyping of <i>Meloidogyne incognita</i> isolates in Japan
3. 学会等名 International workshop on Plant Parasitic Nematode in Kumamoto (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------