

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18221

研究課題名（和文）根圏マイクロバイオームを活用した持続型農業を実現するイネ遺伝子の探索と育種利用

研究課題名（英文）Exploration and breeding application of rice genes for sustainable agriculture using the rhizosphere microbiome

研究代表者

中園 幹生（Nakazono, Mikio）

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：70282697

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：イネにおける低施肥条件下での成長・収量関連形質と根圏微生物との関係性を解明するために、日本の栽培イネ120系統を施肥圃場と低施肥圃場で栽培し、地上部形質や穂形質、葉のイオノーム、根圏微生物叢に注目したGWAS解析を行った。その結果、イネゲノムと根圏微生物叢との関連性について、1番染色体に低施肥区特異的なピークが検出され、1つの候補遺伝子が選抜された。さらに、120系統のイオノーム情報をもとに5つのクラスターに分類し、クラスター毎の栄養成長期における根圏微生物存在比率を比較したところ、施肥、低施肥の処理区間で大きく異なっていた。また、各クラスターに特徴的な存在比率が高い微生物種は異なっていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、イネゲノムと根圏微生物叢との関連性に関わる候補遺伝子を選抜した。今後、この遺伝子が少肥栽培時の成長を支える根圏微生物との共生に関わることを明らかにし、遺伝子資源として育種利用することで、将来的に低投入持続型農業に適用可能なイネ品種開発の新たな道筋を開拓できると考えられる。その結果、育種によって作物と根圏微生物叢の共生関係を強化することを実証でき、今後の低投入持続型農業の実現への貢献が期待されることから、学術的意義に加えて、環境負荷を低減しコストを削減するなどの社会的・産業的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the relationship between growth- and yield-related traits and rhizosphere microorganisms under low-fertilizer conditions in rice, 120 Japanese rice cultivars were grown in fertilizer- and low-fertilizer plots and subjected to GWAS analysis focusing on aboveground and ear traits, leaf ionome and rhizosphere microbiome. As a result, a low-fertilizer plot-specific peak was detected on chromosome 1, and one candidate gene was selected for the association between the rice genome and rhizosphere microbiome. The rhizosphere microorganisms were classified into five clusters based on the ionome information of 120 cultivars, and the rhizosphere microorganism presence ratios during the vegetative growth phase in each cluster were compared, which differed significantly between the fertilizer and low-fertilizer treatments. In addition, the microorganism species with high abundance ratios characteristic of each cluster were different.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：イネ 根圏マイクロバイオーム イオノーム ゲノムワイド関連解析

1. 研究開始当初の背景

持続可能な農業を促進して作物生産の安定化を図ることは、「持続可能な開発目標 (Sustainable Development Goals (SDGs))」の重要なターゲット項目にもなっている喫緊の農業課題である。従来の近代的作物生産技術において、「緑の革命」に象徴されるように、多収品種を用いた多肥栽培は単収の増加をもたらしたが、一方で、肥料の大量投入による環境負荷の増大が深刻な問題となった。また、近年の世界人口の爆発的増加と発展途上国における農業技術の発展に伴い、肥料の需要はますます増加し、その価格が上昇することが予測されている。さらに、植物成長に必要な三大栄養素〔窒素 (N)、リン酸 (P)、カリウム (K)]のうち、リン酸の供給源となるリン鉱石の枯渇が予想されている。このように肥料の供給が不安視されている中、環境負荷を低減して持続可能な農業を実現するには、少ない施肥でも収量を維持し安定した作物生産が可能となる品種の開発が有望視されており、そのためには少肥栽培時の作物の成長と収量の維持に寄与する遺伝子の単離とその育種利用が重要である。

植物と根圏微生物・共生菌との間には相互作用があることが知られており、貧栄養土壌などの生育に不適な環境下では、根圏微生物・共生菌は植物の成長を支える重要な環境因子として働く。しかし、農業の近代化に伴い、化学肥料の大量投入によって多収をもたらす品種が育種された結果、作物の成長を下支えする根圏微生物・共生菌への依存度が低下し、その関係性は非常に弱くなったと考えられる。したがって、低投入型農業の実現には、少肥栽培時の成長を支える根圏微生物との共生に関わるイネ遺伝子を同定し、これらを遺伝子資源として育種利用することが必要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、低施肥条件下での成長・収量関連形質と根圏微生物との関係性を解明することによって、少肥栽培時の成長を支える根圏微生物との共生に関わるイネ遺伝子を同定し、これらを遺伝子資源として育種利用することで、今後の低投入持続型農業に適用可能なイネ品種開発の新たな道筋を開拓することである。

3. 研究の方法

日本の栽培イネ品種 120 系統を低施肥圃場と施肥圃場 (対照区) で栽培して、成長や収量に関わる地上部形質の計測、様々な元素の蓄積量を網羅的に調べることのできるイオノーム解析、さらに根圏マイクロバイオーム (微生物叢) の網羅的解析を実施した。また取得データをもとに、低施肥条件下でイネの成長量・収量、各元素の蓄積量、根圏マイクロバイオームの多様性の品種間比較を行い、お互いの因子の関係性を調査した。さらに、根圏マイクロバイオームを含めた全ての形質について、120 系統のゲノムワイド関連解析 (GWAS) を実施することで、低施肥条件下での栽培に有利となる根圏微生物を特定し、その共生に関わるイネの重要遺伝子の同定を目指した。

4. 研究成果

(1) 低施肥栽培によるイネの生育および根圏微生物叢への影響

地上部形質において草丈や分けつ数は、低施肥の影響で顕著に減少した。収量形質においては、穂重や穂数は有意に減少していたものの、穎花数、枝梗数に有意な差はみられなかったことから、低施肥区における収量 (穂重) の減少は、分けつ数の減少に伴う穂数の減少も一因であると言える (図 1)。一方で、低施肥区での穂重と穂長、穂軸長との相関は、穂数との相関よりも高いことから、イネは低施肥への適応機構として穂を大きくもつ穂重型へと移行させていると考えられる。さらに、主成分分析によりイネの育成地域が南に向かうほど出穂は遅くなり、それに伴い草丈、分けつ数が増加していたことから、低施肥環境でのイネの栽培には到穂日数が長い系統の方が有利であることが示唆された。地上部形質の GWAS により検出されたピークの中から、施肥区または低施肥区に特異的にピークが検出された退化穎花率に着目した。GWAS により、この退化穎花率と有意に関連があるとされるイネゲノム上の複数の多型が検出された (図 2)。特に第 4 染色体上のピークは低施肥条件下でのみ検出され、また近傍の SNPs を用いたハプロタイプ解析の結果により低施肥区の退化穎花率を増加させることが明

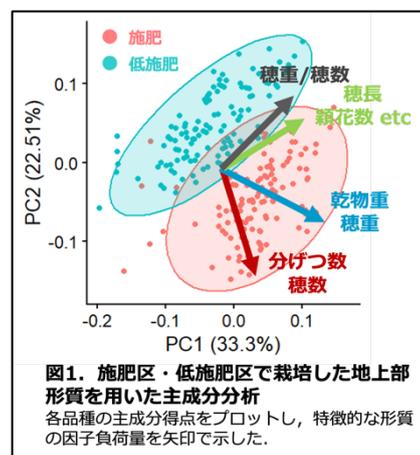


図1. 施肥区・低施肥区で栽培した地上部形質を用いた主成分分析
各品種の主成分得点をプロットし、特徴的な形質の因子負荷量を矢印で示した。

らであることが示唆された。地上部形質の GWAS により、この退化穎花率と有意に関連があるとされるイネゲノム上の複数の多型が検出された (図 2)。特に第 4 染色体上のピークは低施肥条件下でのみ検出され、また近傍の SNPs を用いたハプロタイプ解析の結果により低施肥区の退化穎花率を増加させることが明

かとなった。このことは、第4染色体上の候補遺伝子は肥料条件に応答して退化穎花の数に影響を与えている可能性がある。

次にイネの根圏微生物叢について主座標分析を行うことで、イネ120品種の根圏微生物叢の群構造を主座標という座標に変換した。これにより得られた品種ごとの主座標得点を用いたGWASを行うことで、イネゲノムと根圏微生物叢との関連性について評価した。その結果、1番染色体に低施肥区特異的なピークが検出された(図3)。ピーク近傍には、根で発現している遺伝子などが存在し、この中から植物ホルモンの生合成に関わる遺伝子を候補遺伝子として選抜した。候補遺伝子のエキソン上に存在する多型を用いて、地上部形質のハプロタイプ解析を行なったところ、低施肥区の主座標得点だけではなく出穂日、分げつ数においても影響を及ぼしていた。つまり候補遺伝子における多型が栄養条件に応答して根圏微生物叢や地上部形質にも影響を及ぼしている可能性がある。そこで、この遺伝子についてCRISPR/Cas9を用いて機能欠損変異体を作成した。今後はこの変異体の解析を行うことで、候補遺伝子と根圏微生物叢との関連性を明らかにしていく必要がある。

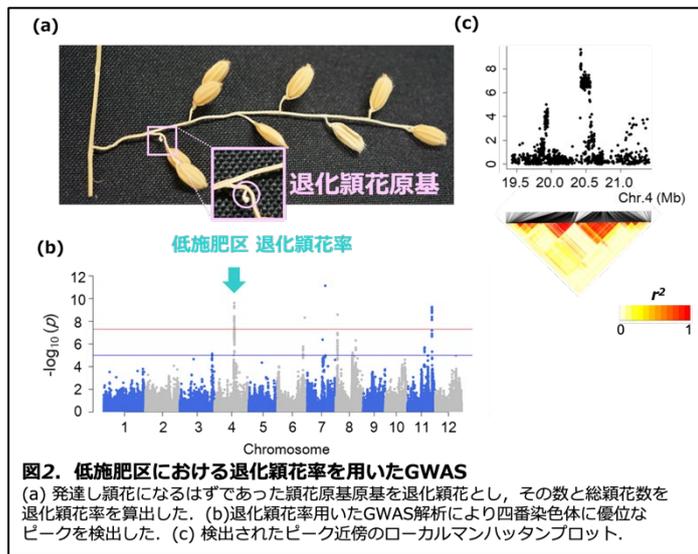


図2. 低施肥区における退化穎花率を用いたGWAS
(a) 発達し穎花になるはずであった穎花原基を退化穎花とし、その数と総穎花数を退化穎花率を算出した。(b)退化穎花率を用いたGWAS解析により四番染色体に優位なピークを検出した。(c) 検出されたピーク近傍のローカルマンハッタンプロット。

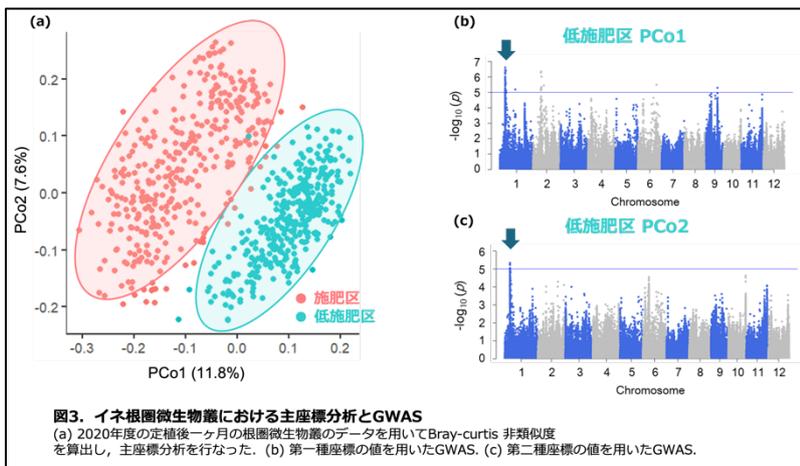


図3. イネ根圏微生物叢における主座標分析とGWAS
(a) 2020年度の定植後一ヶ月の根圏微生物叢のデータを用いてBray-curtis 非類似度を算出し、主座標分析を行なった。(b) 第一座標の値を用いたGWAS。(c) 第二座標の値を用いたGWAS。

(2) 低施肥栽培によるイネの葉におけるイオン動態

植物体内の元素組成を表すイオノームは、植物の必須・有用元素等を含み、気候や土壌などの栽培環境の影響に大きく左右される。戦後、化学肥料投与で収量増加が見込める品種の育成が行われてきた結果、現代の栽培品種では栄養欠乏下で多収性を維持する機能が低下していると考えられる。そこで本研究では、様々な年代に育成され、北海道から沖縄まで日本の様々な地域で栽培されている日本の栽培イネ品種120系統の多様性に着目し、低施肥に対するイオノームの応答性についての評価を行った。

施肥区、低施肥区圃場で生育させたイネの葉のイオン含量において、施肥の効果は水田土壌溶液、植物が吸収した栄養素、地上部形質の全てで有意な差として検出された。主成分分析の結果、第一主成分に高い寄与率を示した元素は葉における蓄積量が経時的に減少するS、K、P、Mg、Moや、経時的に増加するCa、Sr、Fe、Mnであった。前者はとりわけ生育初期(栄養成長期)に植物が必要とする元素、後者は水田土壌の還元化に伴い相対的に吸収量が増加していく元素であったことから、イオノーム情報は、植物体の需要や栽培環境の変化、植物体内の移動による影響を大きく反映していることが明らかとなった(図4)。

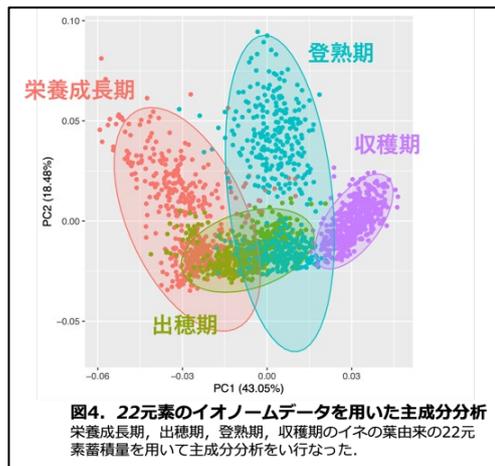
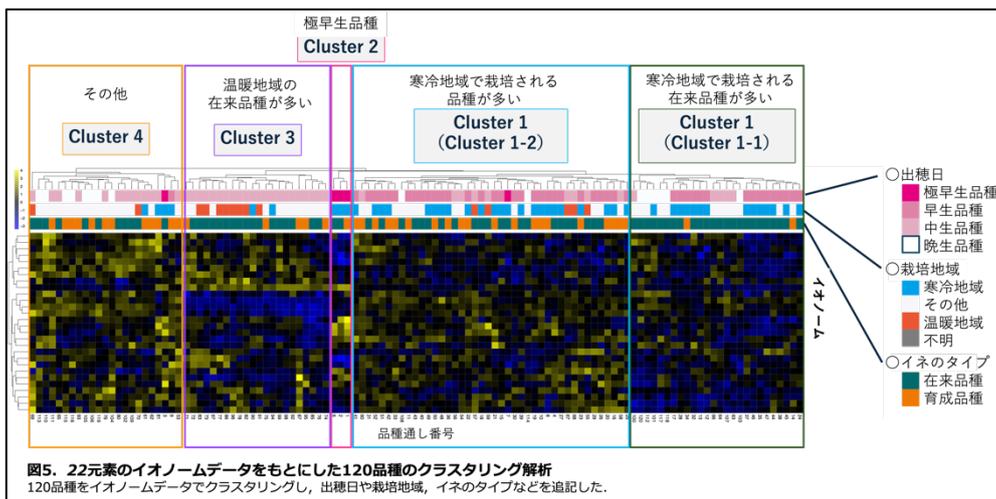


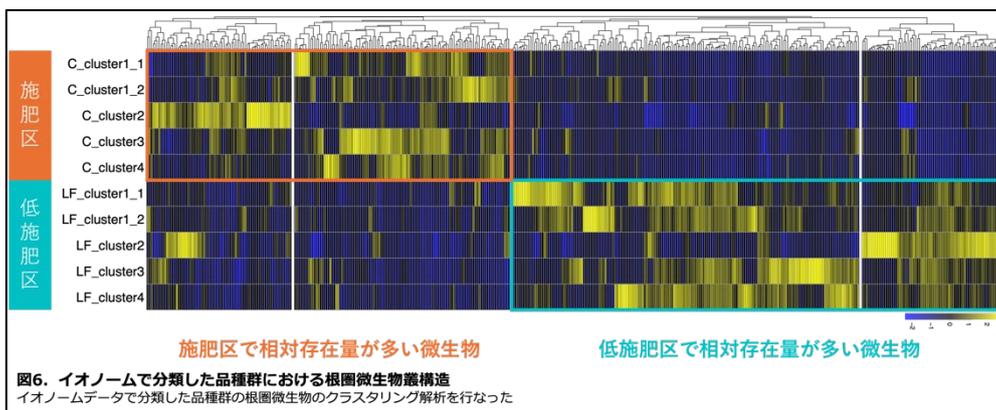
図4. 22元素のイオノームデータを用いた主成分分析
栄養成長期、出穂期、登熟期、収穫期のイネの葉由来の22元素蓄積量を用いて主成分分析をい行なった。

イオノームと品種情報を比較するために、主成分分析の結果より選抜した元素イオンデータを用いて階層的クラスタリングを行ったところ、在来/育成品種、栽培地域、出穂日等の品種特性でのグループ化ができた(図5)。品種を5つのClusterに分類し、各元素の経時変化、地上部形質、収量形質の施肥応答について調べたが、どのClusterにおいても同様のパターンを示したことから、栄養成長期の養分吸収速度や量に品種

間で多様性があるものの、出穂期以降の動態は似通っており、地上部形質、収量形質における低施肥応答の明確な差が観察できなかった。



そこで、近年、低施肥環境で作物の成長を支える要素の一つとして根圏微生物・共生菌と植物との相互作用が着目されていることから、植物が吸収、蓄積する元素と根圏に共生する微生物叢には関連性があると仮説を立てた。イオノーム情報を元に分類した Cluster ごとの栄養成長期における根圏微生物存在比率を比較したところ、施肥、低施肥の処理区間で大きく異なっていた (図6)。また、各 Cluster に特徴的な存在比率が高い微生物種は異なっていた。このことは、イネの葉のイオノーム情報が、根圏に共生する微生物叢の情報を反映していることを強く示唆している。今後は、各 Cluster にどのような微生物が分類されているかを詳細に明らかにしていくとともに、その存在量等を用いて GWAS を行うことで、根圏微生物の存在比率関わる遺伝子を同定し、イオノームとの関連性を明らかにしていく必要がある。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森 拓也, 長谷川 昂平, 天野 真宏, 伊藤 ひなた, 吉田 英樹, 斉木 真紀, 西内 俊策, 村瀬 潤, 神谷 岳洋, 藤原 徹, 松岡 信, 高橋 宏和, 中 園 幹生
2. 発表標題 低施肥圃場で栽培したイネの葉におけるイオノール分解
3. 学会等名 日本育種学会 第143回講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 長谷川昂平、森拓也、天野真宏、西内俊策、吉田英樹、村瀬潤、松岡信、中園幹生、高橋宏和
2. 発表標題 施肥応答における日本の栽培イネ120品種間の多様性
3. 学会等名 一般社団法人日本育種学会第141回講演会
4. 発表年 2022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
研究分担者	村瀬 潤 (Murase Jun) (30285241)	名古屋大学・生命農学研究科・教授 (13901)	
研究分担者	藤原 徹 (Fujiwara Toru) (80242163)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授 (12601)	

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