

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (B)  
研究期間：2006～2009  
課題番号：18380049  
研究課題名 (和文) ダイズ根粒における根粒形成自己制御と硝酸阻害の代謝調節機構の解析  
研究課題名 (英文) Analysis of the mechanism of metabolic control of nitrate inhibition on nodules and autoregulation of nodulation in soybean.  
研究代表者  
氏 名：大山 卓爾 (Ohyama Takuji)  
所 属：新潟大学・自然科学系・教授  
研究者番号：30152268

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・植物栄養学土壌学

キーワード：ダイズ、根粒、窒素固定、硝酸、葉、根、根粒超着生変異株、根粒形成自己制御

## 1. 研究計画の概要

ダイズの親株と根粒形成自己制御作用が欠損または低下している根粒超着生変異株を用い、根粒の硝酸に対する阻害作用を詳細に比較するとともに、阻害との関連が予想されているアミノ酸、糖、硝酸、植物ホルモン、タンパク質、RNA 等の植物成分を詳細に分析し、根粒形成制御と硝酸阻害の硝酸阻害の相互関係を明らかにする

## 2. 研究の進捗状況

(1)水耕培養液に、アンモニア、グルタミンなどを添加し、硝酸同様に、根粒の生長と窒素固定活性の急速かつ可逆的阻害が確認された。したがって、硝酸による特異的阻害ではなく、窒素栄養による阻害であることが示された。主根の伸長は、硝酸添加で根粒同様、急速かつ可逆的に阻害されたが、側根の生長は硝酸添加で促進された。

(2)米国の品種 Williams から誘導された NOD 根粒超着生変異株では、葉身の生長が、早い時点で停止することを発見した。1 枚の葉身あたりの細胞数が減じていることから、根粒形成抑制と葉の細胞分裂との関連が示唆された。日本の品種エンレイとその根粒超着生変異株 En6500 の形質を比較した。根粒菌接種の有無と培地への硝酸供与の有無で水耕栽培し、両者の生長を比較した。播種 18 日後の主根長では、エンレイは、栽培条件に関わらず、約 40-50cm と大きな差が見られなかったが、En6500 では、根粒菌非接種、無窒素では、53cm とエンレイを凌駕したが、根粒菌接種や、硝酸供与条件では、主根の伸長が約 30cm と抑制された。En6500 の葉身の大きさはエンレイより小さく、NOD 変異

株と同様な結果を示した

(3) 根粒超着生変異株の原因遺伝子 NST1 は、アラビドプシスの茎頂分裂組織の形態形成に関与する CLAVATA1 と高いホモロジーがあることが示されていることから、CLAVATA1 と結合すると予想されるペプチドを合成し、Williams と NOD1-3 の葉柄から葉身に蒸散流で投与し、根粒形成への影響を調べた。結果的に、根粒形成への影響は認められなかった。

(4)根の生長に対する影響を、水耕栽培 Williams の根で観察した。主根の伸長については、根粒同様に、硝酸を投与するとすぐに伸長が抑制され、培地から硝酸を除去するとすぐに回復した。一方、側根の伸長は、硝酸を培地に与えた方が促進された。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している

(理由)

これまで、当初計画に対して、まだ、実施されていない部分もあるが、国際学会での発表や、投稿論文、著書などで主要な成果を発表しており、全体としては十分な達成度が得られている。

## 4. 今後の研究の推進方策

最終年度を迎え、さらなる研究を推進する。特に、感染後に採取した導管液を葉柄から与え、根粒形成に対する抑制効果を調べ、もし、阻害効果が見られたら、その原因物質 (感染シグナル) を単離し構造決定を行う。また、マイクロアレイを用い、根粒菌接種と、硝酸投与時の、遺伝子発現を網羅的に解析する。

5. 代表的な研究成果

(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 6 件)

- ① Sayuri Ito, Norikuni Ohtake, Kuni Sueyoshi, Takuji Ohyama; Allocation of photosynthetic products in soybean during early stages of nodule formation. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 52, 438-443 (2006) 査読有り
- ② Sayuri Ito, Norikuni Ohtake, Kuni Sueyoshi, Takuji Ohyama; Comparison of initial growth of hypernodulation soybean mutants, NOD1-3, NOD2-4, and NOD3-7, and their parent cv. Williams. *Bull. Facul. Agric. Niigata Univ.*, 59, 39-43 (2006) 査読なし
- ③ Sayuri Ito, Norikuni Ohtake, Kuni Sueyoshi, Takuji Ohyama; Characteristics of initial growth of hypernodulation soybean mutants, NOD1-3, NOD2-4, and NOD3-7, affected by inoculation of bradyrhizobia and nitrate supply. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 53, 66-71 (2007) 査読有り
- ④ Sayuri Ito, Taichi Kato, Norikuni Ohtake, Kuni Sueyoshi, Takuji Ohyama; The autoregulation of nodulation mechanism is related to leaf development. *Plant Cell Physiology*, 49, 121-125 (2008) 査読有り

[学会発表] (計 5 件)

[図書] (計 2 件)

- ① Takuji OHYAMA, Norikuni OHTAKE, Kuni SUEYOSHI, Kaushal TEWARI, Yoshihiko TAKAHASHI, Sayuri ITO, Toshikazu NISHIWAKI, Yoshifumi NAGUMO, Satomi ISHII, and Takashi SATO, Nitrogen fixation research progress Nova Scientific Publishers Inc., (2008)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]