

平成 21 年 6 月 29 日現在

研究種目 若手研究 (B)
 研究期間: 2007~2008
 課題番号: 19780039
 研究課題名 (和文) マメ科植物の根粒菌共生と病原抵抗性に共通な機構の解明
 研究課題名 (英文) Comparative analysis of the symbiotic signaling and defense signaling in *Lotus japonicus*
 研究代表者 中川 知己 (NAKAGAWA TOMOMI)
 独立行政法人農業生物資源研究所・植物・微生物間相互作用研究ユニット
 任期付研究員
 研究者番号: 90396812

研究成果の概要:

マメ科のモデル植物であるミヤコグサについて、病原性細菌 *Pseudomonas syringae* の接種-解析系を確立した。この系を使って、根粒菌の共生の全身的な量的調節に関与する *HARI* 遺伝子が *P.syringae* に対する抵抗性に関与していることを明らかにした。この *HARI* 依存的な抵抗性を解析したところ、多くの防御応答遺伝子の誘導や過敏感細胞死を伴わない抵抗性であることが明らかとなった。

交付額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	0	2,100,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	390,000	3,790,000

研究分野: 農学

科研費の分科・細目: 農学・植物病理学

キーワード: 根粒菌、共生窒素固定、ミヤコグサ、防御応答、マメ科植物

1. 研究開始当初の背景

マメ科植物の根には根粒菌と呼ばれる土壌細菌が感染して根粒が形成される。根粒では植物が光合成産物の提供等を行う一方で、根粒菌は大気中の窒素ガスをアンモニアに変換して植物に供給する。これによりマメ科植物は生体の構成成分として大量に必要な窒素化合物を大気中から得ることができるため、窒素栄養を一切含まない土壌においても旺盛に生育する。しかし根粒菌共生はマメ科植物にほぼ限定されており、非マメ科の重要作物では成立しない。その

原因として、自然界で植物は潜在的に病原菌となりうる微生物にさらされており、それに対抗するための防御システムと共生が両立しないことが理由の一つであると推測される。

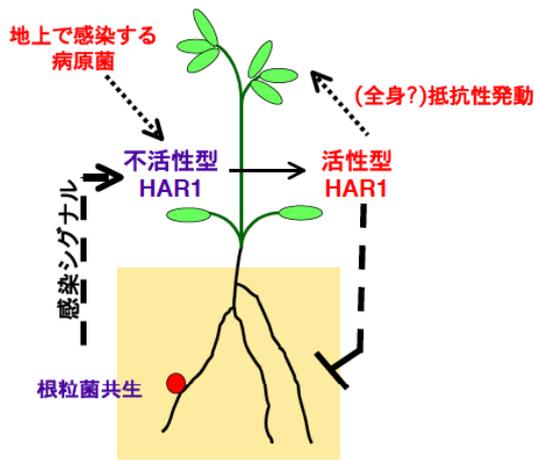
我々はマメ科植物に根粒菌が感染して共生が成立する過程における防御応答の制御機構を解析することで、根粒菌共生の宿主が限定されている理由を明らかにできると考えて研究を進めていた。

2. 研究の目的

マメ科植物の根粒菌共生と病原抵抗性に共通な機構の解明する。

3. 研究の方法

マメ科のモデル植物であるミヤコグサの *har1* 変異体は、根に根粒菌が過剰に感染して異常な数の根粒が形成されることが知られている。*HAR1* は地上部において根の根粒数を制御することが明らかとなっている。ミヤコグサの地上部における病原菌接種系を確立することで、*HAR1* の病原抵抗性における関与について調べる。



予想される病原菌/共生菌感染抑制機構

4. 研究成果

ミヤコグサに感染する病原菌を探索したところ、*P. syringae* pv. *pisi* および pv. *phaseolicola* が感染することが明らかとなった。一方で *P. syringae* pv. *glycinea* はミヤコグサに全く病徴を示さない。



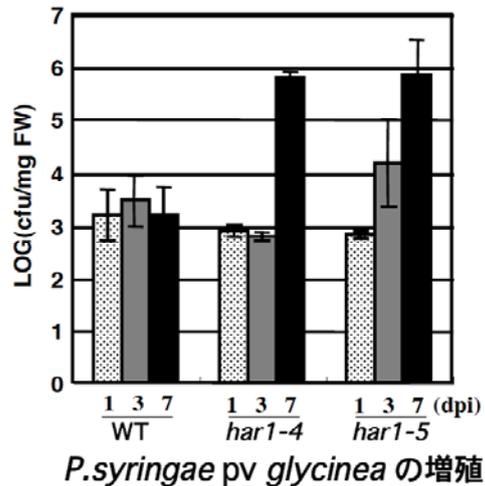
植物 野生型ミヤコグサ 野生型ミヤコグサ
接種源 pv. *glycinea* pv. *pisi*

そこで野生型ミヤコグサおよび *har1* 変異体

に対する接種実験を行ったところ、これらの病原菌は *har1* 変異体に対して野性型植物よりも著しい病徴を示した。また本来ミヤコグサには感染しない *P. syringae* pv. *glycinea* についても、*har1* 変異体に対して病原性を示すことが明らかとなった。

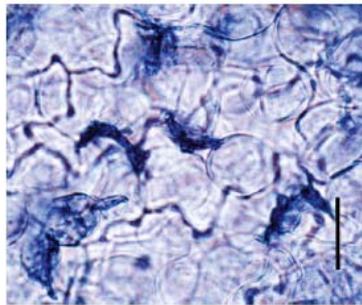
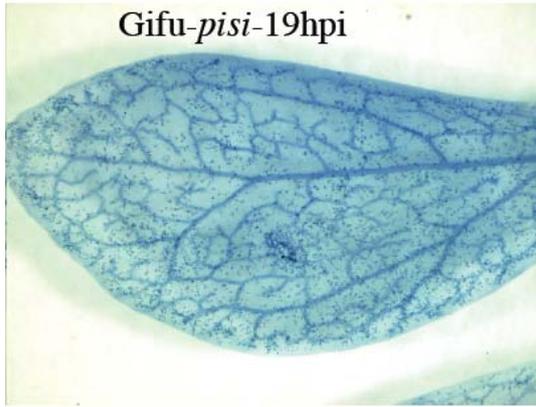


葉に *P. syringae* pv. *glycinea* を接種したミヤコグサ

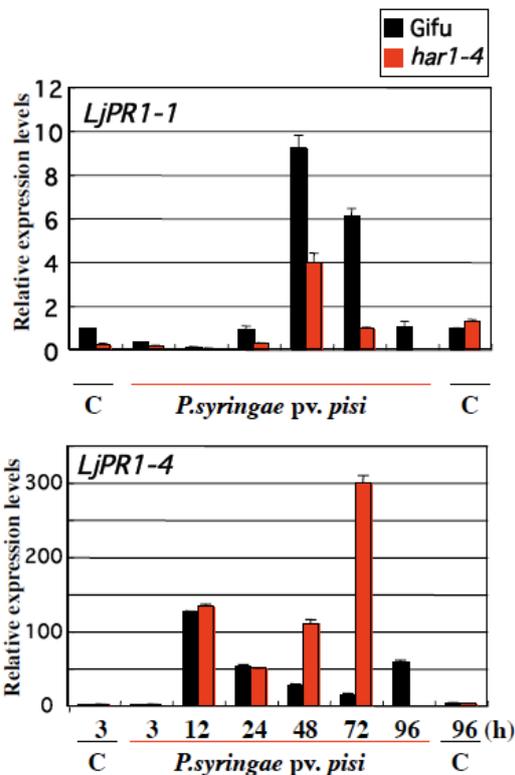


HAR1 依存的な *P. syringae* 抵抗性を解析するために、トリパンブルー染色による組織学的解析を行ったところ、*P. syringae* pv. *glycinea*, pv. *pisi* 接種後に、部分的に細胞死が観察された。この細胞死は接種 19 時間後から観察され始めるが、接種葉全体に 1 細胞レベルの斑点状に観察される。一般的な過敏細胞死の際に観察されるパターンとはことなるために、抵抗性との関連は不明である。

また *P. syringae* 感染で誘導される抵抗性遺伝子の発現を解析したところ、*PR1* 遺伝子の 2 種類の isoform が菌接種に反応して誘導されることが明らかとなった。このうち *LjPRI-4* は、野生型ミヤコグサでも *har1* 変異体でも同様に誘導されるが、*LjPRI-1* の誘導は *har1* 変異体において弱いことが明らかとなった。



P. syringae 接種 19 時間後に観察される細胞死



P. syringae 感染で誘導される PR 遺伝子

本研究から根粒菌共生を制御する *HAR1* 遺伝子が、病原抵抗性にも関与することが明らかとなった。このような知見はこれまでに全く報告されていない。このミヤコグサにおける *HAR1* 依存的な抵抗性の実体については、典型的な過敏感細胞死を伴う抵抗性とはことになっており、特に *pv. glycinea* に対する抵抗性においては、劇的な防御応答遺伝子の誘導なども見られない。このような知見から、おそらく基礎的抵抗性に近い現象に *HAR1* が関与している可能性が考えられる。今後、病理学における基礎的抵抗性に関する解析が発展することで、*HAR1* 依存的な抵抗性の実体が明らかになることが期待される。

また本研究の副次的な成果として、これまで全く病理学的な解析が行われていなかったミヤコグサにおける基礎知見が多数得られたことが挙げられる。我々は根における根粒菌共生の初期段階に、多数の抵抗性遺伝子がすみやかに誘導される現象を発見した。さらに共生プロセスが一定の段階に達すると、これらの抵抗性遺伝子が抑制されることも観察している。これらの発見も国内外で高く評価されているが、これには本研究で得られた知見が生かされている。

上記の研究により、共生と抵抗性における共通のメカニズムについての知見が蓄積されつつある。今後、さらに研究が進むことにより、共生時における防御応答の制御機構を理解することで、自然界に多く存在する有用な共生微生物の応用が進むことが期待される。

5. 主な発表論文等

(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 1 件)
Takeuchi K, Tomioka K, Kouchi H, Nakagawa T, Kaku H
 A novel pathosystem to study the interactions between *Lotus japonicus* and *Fusarium solani*
Journal of General Plant Pathology 誌
 (査読有り)
 73 巻 336-341
 2007 年

[学会発表] (計 4 件)

① 中川知己, 竹内香住, 川口正代司, 河内宏
Pseudomonas syringae 抵抗性におけるミヤコ

グサ HARI 遺伝子の役割
植物微生物研究会第 17 回研究交流会
2007 年 9 月 20 日 鹿児島大学

②

中川知己, 賀来華江, 渋谷直人, 河内 宏
Nod Factor によって誘導される防御応答の
解析

第 18 回植物微生物研究会
2008 年 9 月 17 日 奈良女子大学

③

中川知己, 賀来華江, 渋谷直人, 河内 宏
ミヤコグサにおける Nod Factor シグナリン
グとキチンシグナリングの比較

第 50 回日本植物生理学会
2009 年 3 月 21 日 名古屋大学

④

堀口浩史、貫井憲之、中川知己、権藤崇裕、
磯部祥子、川口正代司、綾部真一、青木俊夫
ミヤコグサ-根粒菌共生における感染糸形成
に関わる因子について

第 50 回日本植物生理学会
2009 年 3 月 23 日 名古屋大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 知己 (NAKAGAWA TOMOMI)
独立行政法人農業生物資源研究所・植物領
域植物・微生物相互作用ユニット・任期付
研究員
研究者番号 : 90396812