

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：17201

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19123

研究課題名（和文）根から放射される光による菌根共生促進のメカニズム

研究課題名（英文）Mechanism of promotion of mycorrhizal symbiosis by light emitted from roots

研究代表者

鈴木 章弘（Suzuki, Akihiro）

佐賀大学・農学部・教授

研究者番号：50305108

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：草本類の茎や根の中を遠赤色光（FR）が効率よく伝達されることが知られている。そこで、根まで到達したFRが地中で菌根菌共生を促進する可能性を検証した。その結果、700-910 nmの極弱い光で菌根菌の菌糸の伸長が促進される可能性を見出した。また、FRを照射した時の菌根菌の遺伝子発現を調査したところ、膜に関する多くの遺伝子の発現が変動していたことから、膜の機能が変化することによって菌根菌の菌糸の生長が促されている可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

菌根菌と宿主植物の共生が成立するためには少なくとも菌根菌が分泌するファクターと宿主植物が分泌するストリゴラクトンの相互認識が必要であると考えられている。本研究では、それに加えて宿主植物から菌根菌への光によるシグナルが関与している可能性を示すものであり、植物生理学などの基礎研究に加え、土壌微生物学や土壌肥科学などの応用の側面が強い学問分野の教科書にも新たな記載を追加する極めて重要な研究である。

研究成果の概要（英文）：It is known that far-red light (FR) is efficiently transmitted through the stems and roots of herbaceous plants. Therefore, I examined the possibility that FR reaching the roots could promote mycorrhizal symbiosis in the ground. We found that FR irradiation at 700-910 nm could promote mycorrhizal hyphal growth. The expression of many membrane-related genes in mycorrhizal fungi was also examined under FR irradiation, and the results showed that the expression of many membrane-related genes fluctuated, suggesting that changes in membrane function may promote mycorrhizal fungi mycelial growth.

研究分野：作物生理学

キーワード：遠赤色光 AM菌 共生 菌糸伸長 光質

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

昨今の精力的な基礎研究によって菌根菌と宿主植物の共生が成立するには、両者の間で化学物質の相互認識が必要であることが明らかにされてきた。申請者らは、それに加えて以下に示す予備実験のデータ等によって「地上部から植物体内を通して根へ到達した光が菌根菌の共生を促進する」可能性が高いという事実を見出した。

- ・太陽光またはR照射下でFRを補光すると菌根菌共生が促進された。
- ・ダイズにおいて地上部へ照射された太陽光のうち700-910 nmの光が植物体内を通して根へ到達し根圏へ放射される。
- ・ $2.5 \times 10^{-3} \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{s}$ という極少量のFRを菌根菌へ直接照射したところ菌根菌の菌糸分岐が有意に促進された(図2)。
- ・ダイズ植物の地上部にR+FRを照射し、根と菌根菌間の物質の往来をフィルタ(黒または透明)で遮断し菌根菌の応答を観察したところ、対照区(光を透過しない黒フィルタ)と比較して透明フィルタによって物質の往来を遮断した場合に菌糸分岐が有意に促進された。
- ・アーバスキュラー菌根菌 DAOM-181602 ゲノム中にはFRに関するアノテーションを持つ遺伝子が100以上存在し、その中の1つは $2.5 \times 10^{-3} \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{s}$ のFR照射によって発現が約4,000倍にまで上昇した。

これらの事実は、「化学物質の相互認識」という共生成立の条件に「光シグナル」という新たな1項目を加える必要があることを意味する。

### 2. 研究の目的

上記「背景」に示した事実を元に、本研究では菌根菌の光応答の波長特異性等を調査するとともに、光による共生促進の菌根菌におけるシグナル伝達を明らかにする実験を遂行し「地上部から植物体内を通して根へ到達した光が菌根菌の共生を促進する」メカニズムを理解することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### 菌根菌の光応答の波長特異性等に関する研究

・アーバスキュラー菌根菌の胞子を1.5%M寒天培地へ塗布し、700-910 nmの光を $(10^{-3})$ 、 $(10^{-4})$ 、 $(10^{-5}) \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{s}$ の3段階の強度で4日間照射した。その後菌糸の生長を照射区と遮光区で比較した。

・M寒天培地へ1  $\mu\text{M}$ のミリスチン酸カリウム及び1  $\mu\text{M}$ のパルミチン酸カリウムを添加してアーバスキュラー菌根菌の胞子を塗布し、 $2 \times 10^{-3} \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{s}$ の強度でFRを4日間照射して、その後菌糸の生長を照射区と遮光区で比較した。

#### 光による共生促進の菌根菌における応答解析

M寒天培地へアーバスキュラー菌根菌を塗布し、 $2 \times 10^{-3} \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{s}$ の強度でFRを4日間照射して菌根菌のRNAを抽出し、RNA-seq解析を行った。RNA-seq及びデータ解析は、株式会社生物技研に依頼した。

### 4. 研究成果

#### 菌根菌の光応答の波長特異性等に関する研究

・波長の違いによる菌根菌の生長について

700, 730, 760, 790, 820, 850, 880及び910 nmの波長の光を $(10^{-3})$ 、 $(10^{-4})$ 、 $(10^{-5}) \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{s}$ の3段階の強度で照射した。図1に菌糸の伸長を示す。遮光区(dark)に比べて730 nmの $(10^{-3})$ と760 nmの $(10^{-3})$ と790 nmの $(10^{-3})$ 、 $(10^{-5})$ と820 nmの $(10^{-3})$ 、 $(10^{-5})$ と850 nmの $(10^{-5})$ と910 nm $(10^{-3})$ 、 $(10^{-5})$ で有意に菌糸の伸長が促進された。また、 $(10^{-4})$ の全ての処理区において、菌糸の伸長がマイナスの値となった。 $(10^{-4})$ でのみ、マイナスの結果となった原因としては、遮光区と $(10^{-3})$ 、 $(10^{-5})$ の処理区は撮影にBX63,

OLYMPUS の顕微鏡を使用したことに対し、 $(10^{-4})$  の処理区の撮影にはM205FA, Leica の顕微鏡を使用したことが考えられた。したがって  $(10^{-4})$  の処理区の結果を除いて考察すれば, 700 から910 nmの広い波長範囲の光に菌根菌の菌糸は応答して伸長していると考えられた。

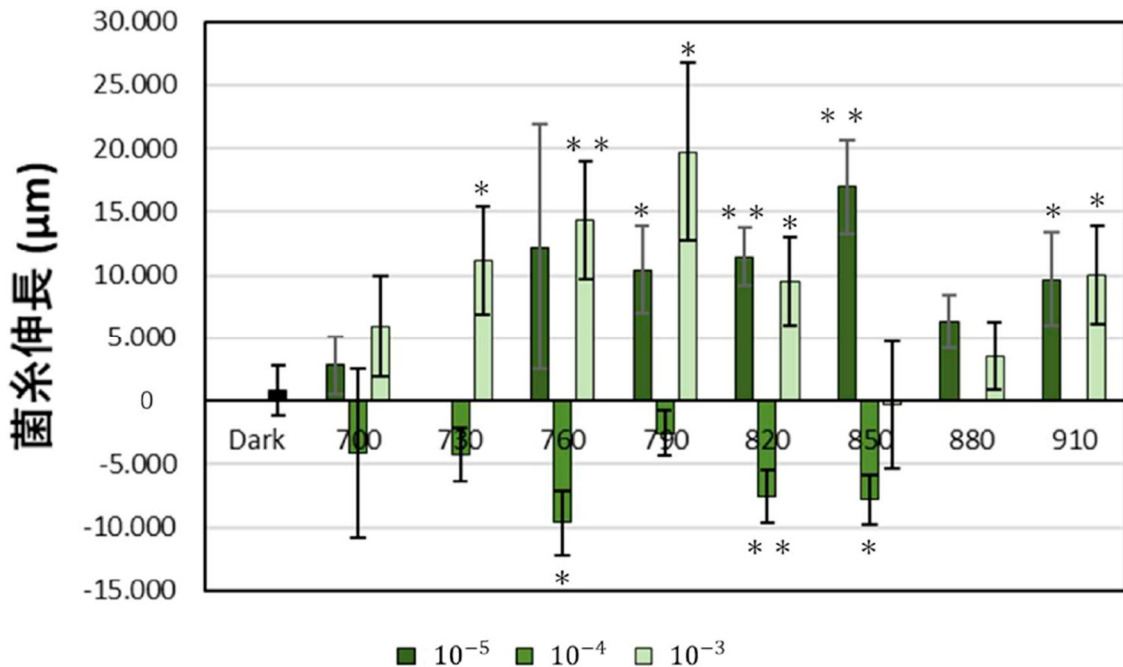


図1 : 700-910 nm の光を照射した時の菌糸の伸長 (a-c) ( $10^{-5}$ ), ( $10^{-4}$ ), ( $10^{-3}$ ) μmol/m<sup>2</sup>/s の光 (700-910 nm)を4 日間8 時間照射したときの菌糸伸長(Dark: n=41. 700: n=26, 27, 13. 730: n=26, 13. 760: n= 11, 27, 14. 790: n=13, 20, 11. 820: n=17, 25, 21. 850: n=16, 17, 13. 880: n=22, 24. 910: n=17, 16)。エラーバーは標準誤差を示し、アスタリスクは有意差を示す (*t* 検定において、\**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01)。

・ 730 nm の光を照射した場合の菌糸伸長

寒天培地へ 1 μM のミリスチン酸カリウム及び 1 μM のパルミチン酸カリウムを添加してアーバスキュラー菌根菌の胞子を塗布し,  $2 \times 10^{-3}$  μmole/m<sup>2</sup>/s の強度で FR を 4 日間照射して, その後菌糸の伸長を照射区と遮光区で比較した。図 2 にその結果を示す。ミリスチン酸カリウムやパル

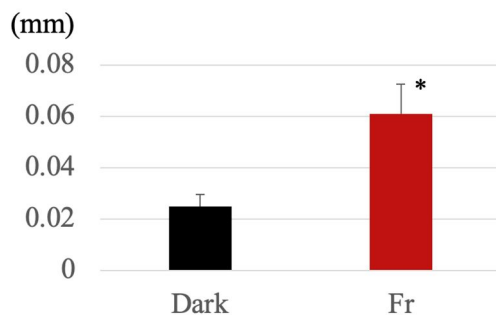


図 2 : 730 nm の光を照射した時の菌糸の伸長 (Dark: n=493, FR: n=467)。エラーバーは標準誤差を示し、アスタリスクは有意差を示す (*t* 検定において、\**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01)。

ミチン酸カリウムを M 培地へ添加しない場合は, 菌糸の伸長がかなりばらついて安定しなかったが, これらの脂肪酸を添加するようになって, FR を照射した場合に安定して高い値を示すようになった。

### 光による共生促進の菌根菌における応答解析

M寒天培地へアーバスキュラー菌根菌を塗布し、 $2 \times 10^{-3}$  mmole/m<sup>2</sup>/sの強度でFRを4日間照射して菌根菌のRNAを抽出し、RNA-seq解析を行った。図3に見られるように、主成分分析の結果から、FRとDarkで遺伝子発現に違いがあることが示された。しかし、 $p < 0.05$ となる発現変動遺伝子 (DEG: Differentially expressed genes) は、1つしか存在しなかった。そこで、発現の変動が、 $p < 0.1$ となる遺伝子をDEGとした。その結果、572個のDEGが定義づけられ、その中の158個の遺伝子がFRで高い発現を示し、414個の遺伝子がFRで低い発現を示した。また、572個のDEGにおいて、461個の遺伝子でGene Ontology (GO)が定義され、FRで高発現を示した遺伝子が74個、FRで低い発現を示した遺伝子が387個であった(図4)。更に、GOの3つのカテゴリー (molecular\_function, cellular\_component, biological\_process) の占める割合は、FRで促進された遺伝子と抑制された遺伝子両方とも、molecular\_function、cellular\_component、biological\_processの順に多くを占めた。

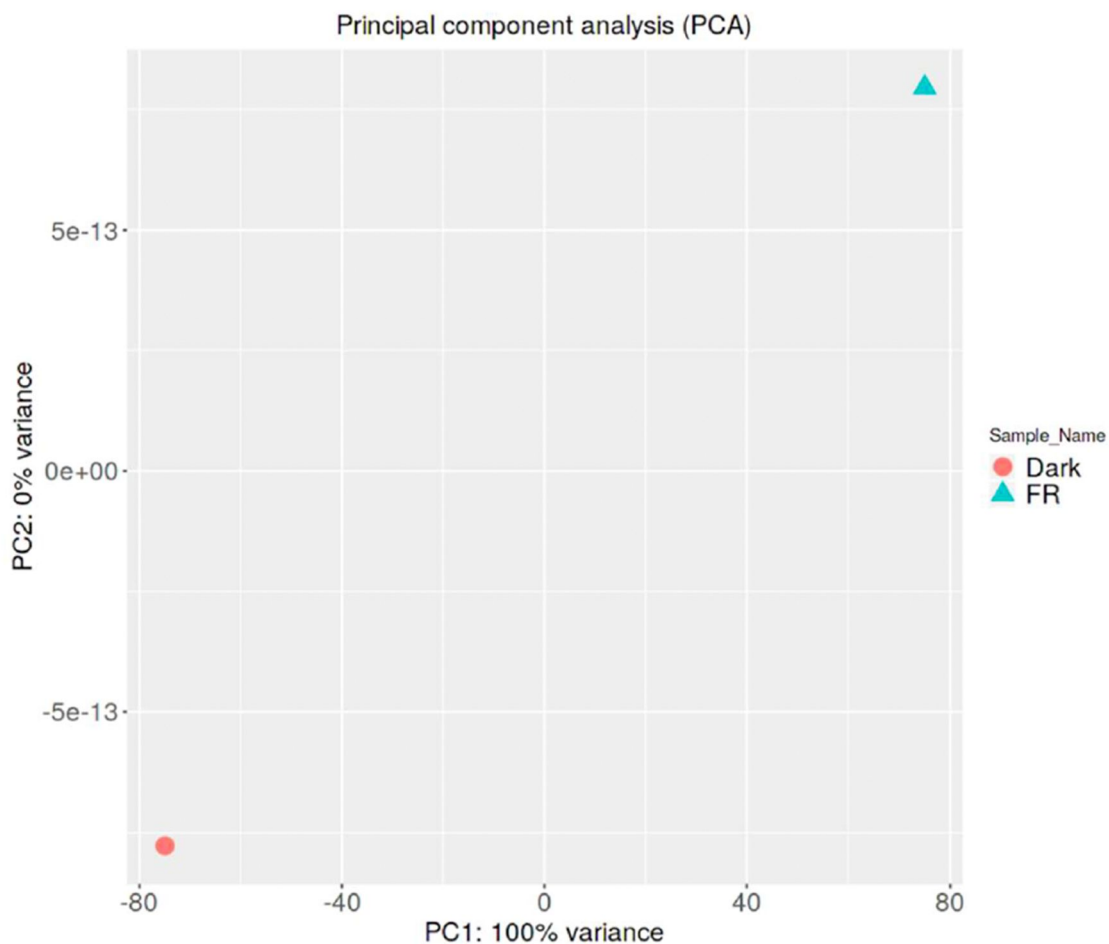


図3 : FR 照射区 (FR) と遮光区 (Dark) における遺伝子発現のデータをもとにおこなった主成分分析

FRで促進される遺伝子 (74)

FRで抑制された遺伝子 (387)

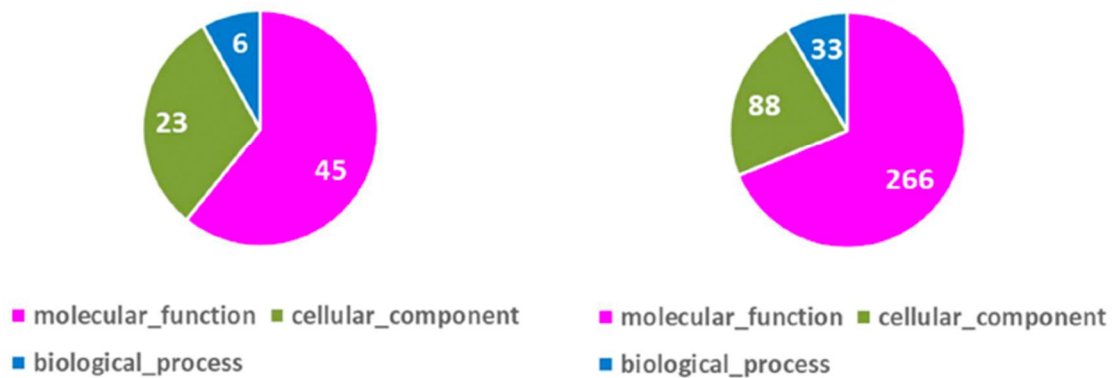


図 4 : FR で発現変動があった 461 遺伝子の Gene Ontology

FR 照射によって発現量が増加した遺伝子のカテゴリーは、遺伝子数が多かった順に membrane, nucleic acid binding, DNA binding, ligase activity, ATP binding, GTP binding が上位 6 種類であり、逆に発現量が減少した遺伝子のカテゴリーは、membrane, protein kinase activity, nucleotide binding, catalytic activity, nucleic acid binding, zinc ion binding であった。発現が増加したものと減少したものいずれも membrane に関与する遺伝子が多かったことから、FR 照射によって菌根菌の膜の機能が変化して菌糸の伸長が誘導されていることが推察された。

今後は、700-910 nm の間の波長による菌根菌応答の再現性を確認する必要がある。またトランスクリプトーム解析によって発現変動が見られた遺伝子についての validation を行い、FR による菌糸伸長のメカニズムを理解する必要がある。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Terakado-Tonooka Junko, Tanaka Fukuyo, Karasawa Toshihiko, Suzuki Akihiro, Ohwaki Yoshinari	4. 巻 13
2. 論文標題 Effects of Inoculating the Diazotrophic Endophyte Bradyrhizobium sp. AT1 on Different Cultivars of Sweet Potato ( <i>Ipomoea batatas</i> [L.] Lam.)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Agronomy	6. 最初と最後の頁 963 ~ 963
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/agronomy13040963	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------