

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：34316

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580020

研究課題名(和文)アーバスキュラー菌根菌に対するイネ科作物の生育応答に関する研究

研究課題名(英文)Studies on differential growth responses of cereal crops to arbuscular mycorrhizal fungi

研究代表者

畑 信吾(Hata, shingo)

龍谷大学・経営学部・教授

研究者番号：40238001

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：菌根菌感染により生育抑圧されるオオムギやコムギにおいて、菌根菌からのリン酸吸収に主要な役割を果たすリン酸トランスポーター遺伝子を初めて同定した。意外なことに、生育抑圧をうけるムギ類においても、それらリン酸トランスポーター遺伝子は、強く生育促進されるソルガムと同等な高レベルで発現していた。次いで、世界の64系統のイネ苗の生育に対する菌根菌の影響を調べたところ、インド型イネ系統ARC5955が最も高い正の応答を示す一方、日本型イネ系統である日本晴は菌根菌に対する生育応答を示さなかった。すなわち、これら2系統を用いた将来のQTL解析によってその機構が解明される可能性が出てきた。

研究成果の概要(英文)：Sorghum shows strong growth stimulation on symbiosis with an arbuscular mycorrhizal (AM) fungus, while barley and wheat show growth depression. We identified the AM-inducible phosphate transporter genes of these cereals. Unexpectedly, barley and wheat expressed the AM-inducible genes at high levels. Hence the cause of their growth depression appears to be unrelated to the transcription of these genes. We next evaluated the growth responses of 64 rice cultivars to root colonization by another AM fungus, and identified the most positively responsive cultivar as an indica rice, ARC5955. We compared the changes of mineral contents of ARC5955 under colonization by the fungus with those of a nonresponsive japonica cultivar, Nipponbare. In both ARC5955 and Nipponbare, mineral contents changed similarly by the colonization. However, only ARC5955 showed strong growth stimulation. These results may provide new insights for breeding and yield increase of rice in sustainable agriculture.

研究分野：作物学、植物生理学

キーワード：イネ オオムギ コムギ ソルガム 共生 生育応答 無機養分

1. 研究開始当初の背景

イネ科作物はアーバスキュラー菌根菌の感染に対して様々な生育応答を示すことが知られていた。たとえばソルガムやトウモロコシは強く生育促進されるが(正の応答)、オオムギやコムギといったムギ類は一般に生育抑圧を受けることが多い(負の応答)。またイネに関しては、系統によって応答が異なることが示唆されていたが、詳しく調べた例はなかった。

2. 研究の目的

本研究は、アーバスキュラー菌根菌が共生した際のイネ科作物の生育応答に着目したものである。作物によって異なる生育応答を示す原因を探り、その現象を利用して将来の育種や収量増産に結びつけることを目的とする。

3. 研究の方法

- (1) オオムギ(品種アサカゴールド)、コムギ(品種チクゴイズミ)、ソルガム(品種 BTx623)の種子をそれぞれ発芽させたあと、底に赤玉土を敷き鹿沼土:クレハ培養土(9:1)を各々約40 mL入れたセルトレイに1個ずつ移植した。菌根菌(*Rhizophagus irregularis*)を接種するときは、約1000 孢子/個体を土壤に混ぜ込んだ。植物は、26°Cにおいて明期16 h/暗期8 hのサイクルで、4週間生育させた。そのあと根をサンプリングし、全RNAを抽出した。植物細胞膜に局在するリン酸トランスポーターをコードする遺伝子に特有なプライマーを用いたRT-PCRによって当該遺伝子をクローニングした。それらの塩基配列を決定後、さらにRT-PCRを行い、菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子を同定した。
- (2) 「世界のイネコアコレクション」種子69系統を(独)農業生物資源研究所より取り寄せ、発芽後上記と同様にセルトレイに移植した。なお、菌根菌としては

*Funneliformis mosseae*を用いた。イネ苗は28°Cで自然光の下に4週間生育させた。地上部の菌根生育応答率(mycorrhizal growth response, MGR)は $MGR(\%) = 100 \times (DW_{AM} - DW_{NM})/DW_{NM}$ 式に従って算出した。ただし、 DW_{AM} ならびに DW_{NM} は、それぞれ菌根形成したイネ苗と対照苗の地上部乾燥重である。地上部の無機養分含量は誘導結合プラズマ発光分光分析機(ICP-AES)を用いて測定した。

4. 研究成果

- (1) ソルガムは菌根菌感染によって生育が強く促進された一方で、オオムギやコムギは生育抑圧を受けることを追認した(図1)。

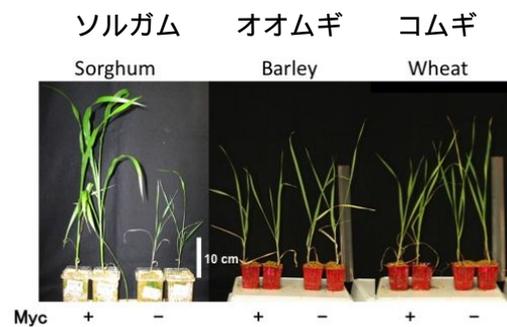


図1 イネ科作物の生育応答(+が感染、-は対照)

- (2) ソルガムから3つ(*SbPT1*, *SbPT2*, *SbPT3*)、オオムギから1つ(*HvPT11*)、コムギから3つ(*TaPT10*, *TaPT11*, *TaPT12*)の新たな菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子を同定した。
- (3) 菌根菌感染根と非感染対照根における遺伝子発現状況をRT-PCRで調べたところ、新たに見つかったオオムギやコムギの遺伝子は感染根特異的かつソルガムのものと同様に高発現しており、従来報告されていた遺伝子(*HvPT8*, *TaPTmyc*; Glassop et al. (2005))は低い発現しか示さなかつ

た(図2)したがって、ムギ類が生育抑圧を受ける原因は遺伝子発現以外にあり、たとえばトランスポーターの機能不足やトランスポータータンパク質の不安定さなどが関与している可能性が考えられた。

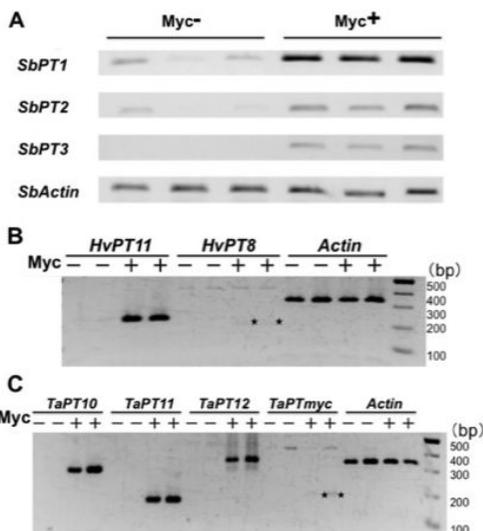


図2 感染根 (+) と非感染対照根 (-) における菌根誘導型リン酸トランスポーター遺伝子の発現状況。A, ソルガム; B, オオムギ; C, コムギ。星印は従来報告されていたもの。

(4) 世界の種々のイネ系統の生育におよぼす *Funneliformis mosseae* 感染の影響を系統的に調べた結果、インド型イネ ARC5955 が最も高い生育促進を受けた。その一方、日本型イネの日本晴はほとんど生育が変化しなかった(図3)。

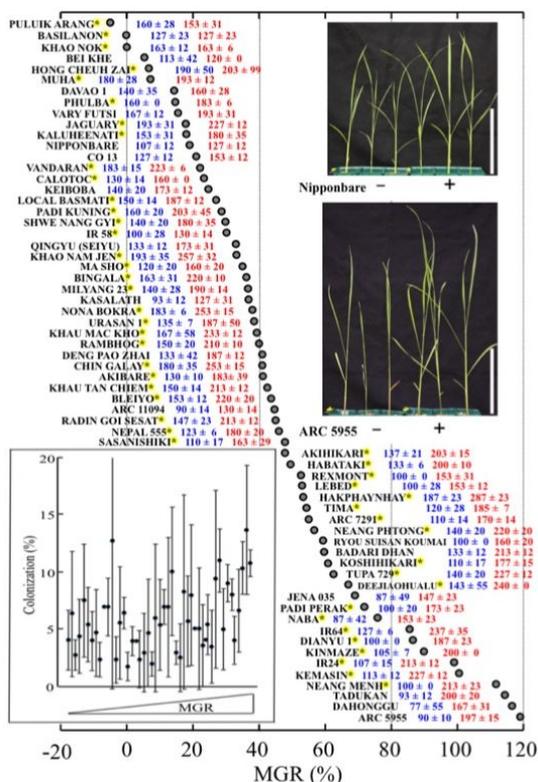


図3 世界の種々のイネ生育におよぼす菌根菌の影響。MGR, 地上部の菌根生育応答率。左下の挿入図は星印を付けた系統の感染率を示しており、MGR と菌の感染率には強い相関が見られないことを表す。

- (5) これら 2 系統の苗における無機養分含量を比較したところ、菌根菌共生によって 2 系統とも P, N, S, Mg 含量が増加し、Fe, Cu, Zn, B, Al 含量が低下した(データ省略)。すなわち、菌根菌に対する生育応答におけるイネの系統間差の原因は、無機養分の含量ではなく、未知の機構がはたらいっていると思われた。しかし、これら 2 系統を用いた将来の QTL 解析によってその機構が解明される可能性が出てきた。
- (6) 上記のほか、イネ・菌根菌共生を用いた実験により、菌根菌体内のトリグリセリド油滴生成機構に関する新知見を得た。また、菌根菌が細胞壁成分である N-アセチルグルコサミンを再利用する機構も解

明した。

<引用文献>

Glassop, D., Smith, S.E. and Smith, F.A. (2005)
Planta 222: 688-698.

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 5件)

Suzuki, S, Kobae, Y., Sisaphaithong, T.,
Tomioka, R., Takenaka, C. and Hata, S.
Differential growth responses of rice cultivars
to an arbuscular mycorrhizal fungus,
Funneliformis mosseae. *Plant Prod. Sci.* 査
読有 in press (2015)

Kobae, Y., Kawachi, M., Saito, K., Kikuchi,
Y., Ezawa, T., Maeshima, M., Hata, S. and
Fujiwara, T. Up-regulation of genes involved
in *N*-acetylglucosamine uptake and
metabolism suggests a recycling mode of
chitin in intraradical mycelium of arbuscular
mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 査読有 in
press (2015)

DOI:10.1007/s00572-014-0623-2

Inoue, Y., Kobae, Y., Omoto, E., Tanaka, A.,
Banba, M., Takai, S., Tamura, Y., Hirose, A.,
Komatsu, K., Otagaki, S., Matsumoto, S.,
Taniguchi, M., Masuta, C., Ishimoto, M. and
Hata, S. The soybean mycorrhiza-inducible
phosphate transporter gene, *GmPT7*, also
shows localized expression at the tips of vein
endings of senescent leaves. *Plant Cell
Physiol.* 査読有 55: 2102-2111 (2014)

DOI: 10.1093/pcp/pcu138

Kobae, Y., Gutjahr, C., Paszkowski, U.,
Kojima, T., Fujiwara, T. and Hata, S. Lipid
droplets of arbuscular mycorrhizal fungi
emerge in concert with arbuscule collapse.
Plant Cell Physiol. 査読有 55: 1945-1953
(2014)

DOI: 10.1093/pcp/pcu123

Sisaphaithong, T., Kondo, D., Matsunaga, H.,
Kobae, Y. and Hata, S. Expression of plant
genes for arbuscular mycorrhiza-inducible
phosphate transporters and fungal vesicle
formation in sorghum, barley, and wheat
roots. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 査読有
76: 2364-2367 (2012)

DOI:10.1271/bbb.120782

[学会発表](計 0件)

[図書](計 0件)

[産業財産権]
出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

畑 信吾 (HATA, Shingo)
龍谷大学・経営学部・教授
研究者番号：40238001

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：