

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05763

研究課題名（和文）菌根形成時のリン獲得経路を制御する分子機構の解明

研究課題名（英文）Molecular mechanisms of regulating the phosphorus acquisition pathway during mycorrhizal formation.

研究代表者

丸山 隼人（Maruyama, Hayato）

北海道大学・農学研究院・助教

研究者番号：10633951

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、菌根を形成するモデル植物のミナトカモジグサを用いて、土壤中のリンの可溶化や吸収機構を遺伝子レベルで調査した。菌根の形成と機能は土壤中の養分状態に応じて生育期間を通して変化しており、また菌根菌種が異なると根における共生関連および養分獲得関連遺伝子発現機構が大きく異なることが明らかとなった。さらに、根分けした植物体の根の遺伝子発現および土壤中のリン形態を調べた結果、局所的な菌根形成に応じてリンの可溶化および吸収といったリン獲得戦略を制御している可能性が示唆された。本研究を通して、菌根形成植物の養分条件や菌種特徴的な応答および根の局所的な菌根形成によるリン獲得制御機構を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

作物によるリンの効率的な獲得を目指す上で、アーバスキュラー菌根(AM)菌との共生した根(菌根)におけるリンの獲得機構を理解する必要がある。本研究に置いて菌根形成植物の養分条件や菌種特徴的な応答および根の局所的な菌根形成によるリン獲得制御機構が存在し、その制御に関わる遺伝子群を同定することができた。この成果は今後、菌根利用能を強化したコムギやトウモロコシを代表とする作物育種などにおいて重要な遺伝資源になりうる。AM菌活用力とリン可給化力を効率的に制御し、土壌リン栄養に応じたリン吸収が可能な植物体の実現できれば、枯渇が懸念されるリン資源の有効利用や施肥削減に大きく貢献できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, a mycorrhizal model plant, *Brachypodium distachyon*, was used to investigate the solubilization and uptake mechanisms of phosphorus in the soil. Mycorrhizal formation and function varied throughout the growing stage depending on the nutrient status in the soil, and different mycorrhizal species showed significantly different mechanisms of expression of symbiosis- and nutrient-acquisition-related genes in the roots. In addition, root gene expression and soil phosphorus levels in root-divided plants suggest that phosphorus acquisition strategies, such as phosphorus solubilization and uptake, were regulated in response to local mycorrhizal formation. These findings provide insight into the nutrient conditions and species-specific responses of mycorrhizal plants and the regulatory mechanisms of phosphorus acquisition by locally formed mycorrhizae in roots.

研究分野：植物栄養学

キーワード：菌根形成 土壌中リン 遺伝子共発現ネットワーク

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

作物生産に欠かせないリン肥料の原料となるリン鉱石資源が世界規模で涸渇に瀕しているなか、過剰施肥で畑地などに蓄積したリンの利活用が求められている。アーバスキュラー菌根菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AM 菌) からのリン酸獲得は多くの陸上植物にとって生存上欠かせない非常に重要な戦略である。

AM 菌と共生した植物 (菌根形成植物体) は、植物体自身の直接経路と菌根菌を介した菌根経路からリン酸を吸収する。菌根形成により直接経路のリン酸吸収が抑制され菌根経路から優先的に吸収することが報告されている。また、菌根では土壤中の難利用生リンを植物自身に加えて AM 菌も可給化して吸収していると考えられている。しかしながら、2 つの吸収経路の制御機構さらにはリンの可給化との関係性については不明であった。

### 2. 研究の目的

本研究では、植物体のトランスクリプトーム解析と根および菌糸圏におけるリンの土壤化学的分析を実施し、菌根形成植物体におけるリン可給化とリン吸収経路の制御機構の関係を明らかにすることを目的とした。本研究を通して、菌根共生機能を活用したリン資源の効率的な利用において有益な基盤情報を得ることを目指した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 養分状態の違いが菌根形成とリン獲得経路に及ぼす影響の生育期間を通じた調査

ミナトカモジグサを供試作物として、土壤中の施肥条件をリン 2 処理、窒素 3 処理の計 6 処理設け、ポットに移植後 40、60、80 日後にサンプリングを行った。収穫したサンプルの生育と根のトランスクリプトームを調査し、各養分条件における生育期間中のリン獲得機構を遺伝子発現レベルで調査した。

#### (2) 異なる菌種を用いた菌根のリン獲得能の調査

2 種類の AM 菌 *Rhizophagus irregularis* (Ri 区), *Rhizophagus clarus* (Rc 区) を接種したミナトカモジグサを栽培し、25、40 日後の根と内生菌糸のトランスクリプトームを解析し、生育期間中における植物体と AM 菌の相互作用を遺伝子発現レベルで分析した。植物体のリン濃度も合わせて分析し、植物のリン獲得量と菌根形成の関係性を調査した。

#### (3) 根分けを用いた菌根形成による土壤中リン獲得機構の分子制御機構の調査

片方の区画に AM 菌 *Rhizophagus irregularis* DAOM197198 を接種した感染個体および非接種の非感染個体を作成することで、同一個体での菌根の形成によるリン獲得機構の制御について調査した。それぞれの根のトランスクリプトーム解析および根圏土壤のリンの形態別評価を実施し、リン獲得形質と菌根形成の関係性を調査した。

### 4. 研究成果

#### (1) 養分状態の違いが菌根形成とリン獲得経路に及ぼす影響の生育期間を通じた調査

発現変動遺伝子の抽出および共発現ネットワーク解析を実施したところ、菌根形成特異的なリン酸輸送体の遺伝子と強く共発現をする遺伝子群が存在した。それら遺伝子はリン酸欠乏だけでなく、窒素の欠乏にも応答した発現を示しており、窒素条件が菌根形成時のリン獲得の制御機構にも強く関わることを示唆された。また、転写因子や機能未知遺伝子も多く含まれており、これら遺伝子群の中に菌根形成時のリン獲得を制御する新規機構に関わる候補遺伝子が存在している可能性が示唆された。

#### (2) 異なる菌種を用いた菌根のリン獲得能の調査

地上部の生育とリン状態は AM 菌接種により改善され、その接種効果は Rc 区で Ri 区より高かった。根の遺伝子発現量に対し共発現ネットワークを実施した結果、AM 菌感染に関わる遺伝子群 (AM モジュール) を同定した。これらモジュールの中には、菌根形成特異的なリン酸輸送体や

脂質合成・輸送関連遺伝子が含まれていた。AM モジュール中の遺伝子プロファイルは Rc 区と Ri 区でその多くが共通していたが、Alkaloid 合成や Caroten 合成に関わる遺伝子が特異的に Rc 区に多く含まれていた。Rc 区と Ri 区の感染個体では、AM 菌感染に関わる植物ホルモンの制御が異なることが示唆された。

### (3) 根分けを用いた菌根形成による土壤中リン獲得機構の分子制御機構の調査

同一個体の感染根(MR)と感染していない根(nMR)では根の新鮮重量は有意な差は見られず、菌根菌の感染は MR でのみ認められた。網羅的な遺伝子発現の調査の後、遺伝子共発現ネットワーク解析を実施し既知の AM 菌共生関連遺伝子が濃縮した遺伝子群(菌根モジュール)とリン可給化に関わる遺伝子やリン酸輸送体が濃縮した遺伝子群(根リン獲得モジュール)を見出した。菌根モジュールは MR で nMR に比べて有意に高く、逆に根リン獲得モジュールは nMR で MR と比べて有意に高い値を示しており(図 1)、菌根の形成によるリン獲得のトレードオフが明らかとなった。また、MR では nMR に比べて、無機態リン酸濃度が有意に高く、MR では nMR と比べて、菌根経路からのリン酸獲得によりリン酸濃度が高まることで、根によるリンの吸収や可給化が局所的に抑制されている可能性が示唆された。一方で根圏土壌における酸性ホスファターゼ(APase)活性は MR で nMR に比べて有意に高い値を示しており、AM 菌による APase 分泌が MR でのリンの可溶化に寄与する可能性も示された。

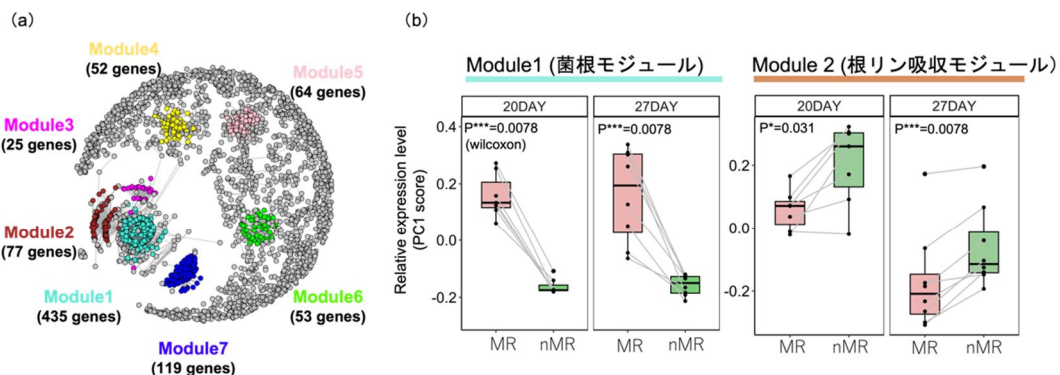


図1 遺伝子共発現ネットワークにより得られたモジュール(遺伝子群)構造 (a) と 菌根モジュールと根リン吸収モジュールの主成分スコアの変動 (MR:菌根、nMR:非菌根) (b)

以上をまとめると、菌根形成植物における養分応答的、菌根菌種特徴的、根局所的な AM 菌の感染状況に応じたリン獲得の制御機構について遺伝子発現レベルで明らかにすることができた。今後は、得られた成果をもとに遺伝子機能解析を実施することで、菌根形成植物体のリン獲得機構の解明へとつながることが期待される。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Kan Ayane, Maruyama Hayato, Aoyama Nao, Wasaki Jun, Tateishi Yoshiko, Watanabe Toshihiro, Shinano Takuro	4. 巻 68
2. 論文標題 Relationship between soil phosphorus dynamics and low-phosphorus responses at specific root locations of white lupine	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Soil Science and Plant Nutrition	6. 最初と最後の頁 526 ~ 535
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00380768.2022.2104103	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 永山航平・菅井徹人・佐藤匠・神山拓也・市橋泰範・渡部敏裕・信濃卓郎・丸山隼人
2. 発表標題 ミナトカモジグサ菌根共生系におけるリン獲得の菌種特徴的分子機構
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2022年度東京大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅井徹人・永山航平・丸山隼人・佐藤匠・神山拓也・熊石紀恵・市橋泰範
2. 発表標題 異なるアーバスキュラー菌根菌が接種されたミナトカモジグサにおける 遺伝子共発現ネットワークの比較
3. 学会等名 菌根研究会2022年度大会 (JCOM2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永山航平・熊石紀恵・市橋泰範・渡部敏裕・信濃卓郎・丸山隼人
2. 発表標題 ミナトカモジグサにおける菌根形成と直接経路リン吸収の分子制御
3. 学会等名 菌根研究会2022年度大会 (JCOM2022)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sugai Tetsuto, Maruyama Hayato, Nagayama Kohei, Satou Takumi, Kumaishi Kie, Ichihashi Yasunori
2. 発表標題 Integrated network analyses exploring the strategies to soil nutritional environments in symbiotic relationship between plant-microbiome
3. 学会等名 PMRN2022(Plant Microbiota Research Network 第2回オンラインシンポジウム) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永山航平・菅井徹人・佐藤匠・熊石妃恵・市橋泰範・渡部敏裕・信濃卓郎・丸山隼人
2. 発表標題 ミナトカモジグサの生育および養分状態に応じたリン獲得の分子制御機構
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2021年度北海道大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菅井徹人・丸山隼人・佐藤匠・神山拓也・市橋泰範
2. 発表標題 異なる菌根菌接種によるミナトカモジグサのリン獲得形質への影響
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2021年度北海道大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菅井徹人・丸山隼人・永山航平・佐藤匠・熊石妃恵・市橋泰範
2. 発表標題 異なる土壌リン・窒素条件下で生育したミナトカモジグサにおける根のトランスクリプトーム及びマイクロバイオームの統合的ネットワーク
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅井徹人・丸山隼人・佐藤匠・神山拓也・市橋泰範
2. 発表標題 異なるアーバスキュラー菌根菌接種がミナトカモジグサの成長と根系形質へ及ぼす影響
3. 学会等名 第53回根研究集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菅井徹人・永山航平・佐藤匠・市橋泰範・丸山隼人
2. 発表標題 土壌のリン・窒素バランスに対するミナトカモジグサの生長と菌根形成応答
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2020岡山大会（オンライン大会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

北海道大学 作物栄養学研究室 <a href="https://plantnutritionhu.wixsite.com/index">https://plantnutritionhu.wixsite.com/index</a> 北海道大学作物栄養学研究室 MARUYAMA Hayato Lab. <a href="https://integ.synfoster.hokudai.ac.jp/lab/maruyama/">https://integ.synfoster.hokudai.ac.jp/lab/maruyama/</a>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

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