

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月16日現在

機関番号：17201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21657017

研究課題名（和文） フィトクロムシグナリングを介した根粒数調節機構の解析

研究課題名（英文） Root nodulation is controlled by sensing the R/FR ratio through phytochrome signaling

研究代表者

鈴木 章弘 (SUZUKI AKIHIRO)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号：50305108

研究成果の概要（和文）：

ミヤコグサの *phyB* 変異体は、野性型ミヤコグサ MG20 よりも根粒数が少なかった。また光合成器官を発達させるため、一定期間白色光下で生育させたミヤコグサ MG20 を用いて、赤色光 (R) の光量子速度を一定にし、遠赤色光 (FR) の値を増減させて根粒着生試験を行うと、低 R/FR 条件 (R/FR=0.1) では根粒数が有意に減少した。そして、ジャスモン酸応答遺伝子の発現が、白色光下での *phyB* 変異体と低 R/FR 条件下の MG20 において抑制されていることを明らかにした。そこで、MG20 と *phyB* 変異体の根におけるジャスモン酸濃度の比較をおこなった。その結果、根粒菌接種7日後では、ジャスモン酸の濃度に両者での違いは見られなかったが、活性型ジャスモン酸であるジャスモノイルイソロイシンの濃度は、*phyB* 変異体において有意に減少していることが明らかになった。またこの時の *JARI* 遺伝子の発現は *phyB* 変異体において低下していたことから、*phyB* 変異体では、*JARI* 遺伝子の活性が低下することでジャスモン酸からジャスモノイルイソロイシンへの変換が阻害され、これが根粒形成へ影響を及ぼしていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Light is critical for supplying carbon to the energetically expensive, nitrogen-fixing symbiosis between legumes and rhizobia. In this study, I show that Phytochrome B (*phyB*) is part of the monitoring system to detect suboptimal light conditions, which normally suppress *Lotus japonicus* nodule development following *Mesorhizobium loti* inoculation. I found that the number of nodules produced by *L. japonicus phyB* mutants is significantly reduced compared to that of wild-type MG20. To explore causes other than photoassimilate production, the possibility that local control by the root genotype occurred was investigated by grafting experiments. The results showed that the shoot and not the root genotype is responsible for root nodule formation. To explore systemic control mechanisms exclusive of photoassimilation, we moved wild-type MG20 plants from white light to conditions that differed in their ratios of low or high red (R)/far-red (FR) light. In low R/FR light, the number of MG20 root nodules dramatically decreased compared to plants grown in high R/FR even though photoassimilate content was higher for plants grown under low R/FR. Also, the expression of jasmonic acid (JA)-responsive genes decreased in both low R/FR light-grown wild-type and in white light-grown *phyB* mutant plants, and correlated with decreased JA-Ile content in the *phyB* mutant. Moreover, both infection thread formation and root nodule formation were positively influenced by JA treatment of wild-type plants grown in low

R/FR light and of white light-grown *phyB* mutants. Together, these results indicate that root nodule formation is photomorphogenetically controlled by sensing the R/FR ratio through JA signaling.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	0	1,600,000
2010年度	900,000	0	900,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	210,000	3,410,000

研究分野：植物生理学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：根粒，共生，フィトクロム，光形態形成，植物微生物相互作用，ジャスモン酸

1. 研究開始当初の背景

地上部で受容された光は、茎から地下部への何らかの物質輸送を介して、根器官の成長を制御することが知られているが、その詳細についてはほとんど明らかになっていない。ましてや根粒形成に対する光シグナルの影響についての詳細な研究報告は皆無である。私は、根粒菌接種後に *phyB* 変異体の根に形成される根粒数が野生型よりも劇的に少ないこと、さらにシュートの遺伝子型が根粒数に影響することを接ぎ木実験によって証明していた。PHYBタンパク質は光合成器官の発達に重要であることから、根粒数が減少した理由の1つは光合成産物の不足が考えられた。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、本研究ではミヤコグサ・ミヤコグサ根粒菌の共生系を用いて、光の質（波長）の違いによって根粒形成が影響を受ける、そのメカニズムに迫ることを目的とした。

3. 研究の方法

①野生型ミヤコグサ MG20 および MG20 をバックグラウンドとする *phytochrome B* 変異体に対して、角1号シャーレを用いて根粒着生試

験をおこなった。培地は、窒素分を含まない B&D 寒天培地とした。

②total RNA の抽出は、キアゲン社の RNA 抽出キットを用い、ジャスモン酸応答性遺伝子の発現は、ロシュ社のライトサイクラーを用いて評価した。

③ジャスモン酸およびジャスモノイルイソロイシン（活性型ジャスモン酸）の濃度は、Ohtsu et al. の方法に従っておこなった。

④植物へ照射する光の波長を変えた実験では、サンヨーメディカル社の赤および遠赤色光の LED ライトを使用した。

4. 研究成果

①ミヤコグサ根粒菌接種後、28日での根粒数は、野生型と比較して2系統の *phyB* 変異体 (0017 および 1428) において有意に減少していた (図1)。

②次に *phyB* 変異体において根粒数が減少した原因を探るために、光合成有効放射である赤色光を一定にして、遠赤色光の有無によって低 R/FR 区と高 R/FR 区を準備し、その条件で野生型 MG20 における根粒形成を評価した。その結果、驚くべきことに光合成に利用できる波長の光量子速密度は同一であるにもかかわらず、低 R/FR 区ではほとんど根粒が形

成されなかった。

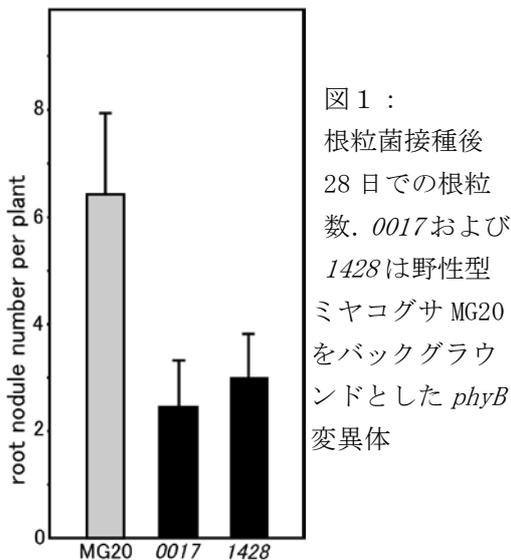


図 1 :
根粒菌接種後
28 日での根粒
数. 0017 および
1428 は野性型
ミヤコグサ MG20
をバックグラウ
ンドとした *phyB*
変異体

③続いて、根粒数が減少していた白色光下での *phyB* 変異体および低 R/FR 区での MG20 において、ジャスモン酸 (JA) 応答性遺伝子の発現を解析した。その結果 3 種類の JA 応答性遺伝子の発現は、根粒形成が抑制されていた植物の根において抑制されていた。

④さらに、同条件の植物における JA およびジャスモノイルイソロイシンの濃度を測定したところ、JA の濃度に有意な差は見られなかったが、ジャスモノイルイソロイシンは、根粒数が減少している場合は有意に減少していた。また、*JARI* 遺伝子発現が、同条件で抑制されていたことから、それによってジャスモノイルイソロイシンの濃度が低下したものと考察された。なぜなら、*JARI* 遺伝子は JA からジャスモノイルイソロイシンへの変換のステップを触媒するからである。

⑤以上の結果から、ジャスモノイルイソロイシン濃度の低下が根粒減少を招いていると考えられたので、実際に *phyB* 変異体において根粒形成が JA 処理によって回復するかどうかを調査した。その結果、0.1 μM JA を添加することによって有意に根粒形成を回復させることができた (図 2)。さらに、根粒形成の指標となる *nin* 遺伝子の発現や感染糸形成も JA 処理によって有意に回復させることができたことから、上記の仮説が正しいことが証明された。

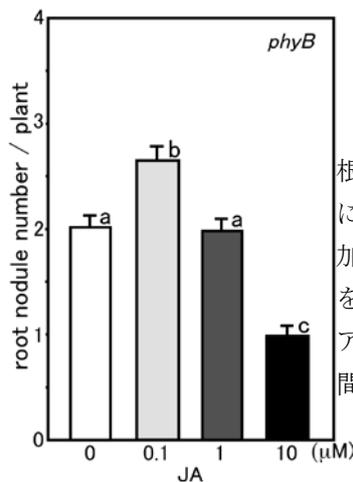


図 2 :
phyB 変異体の
根粒着生試験時
に培地へ JA を添
加して、その影響
を調べた。異なる
アルファベット
間では有意差が
見られた。

⑥通常、植物は低 R/FR 条件下に置かれると茎を伸ばして日陰から逃れようとする避陰反応を発動する。そして根粒形成が多くのエネルギーを必要とするイベントであることを考え合わせると、光条件が適切ではない条件に置かれたマメ科植物では、根粒形成を積極的に抑制するメカニズムが発動していることを示している (図 3)。

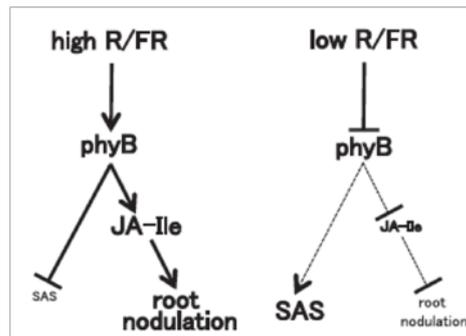


図 3 : 光の質によって根粒形成が制御されるメカニズム

高 R/FR 条件では *phyB* は避陰反応 (SAS) を抑制し、ジャスモノイルイソロイシン濃度を高く保つことで根粒形成を促進する。一方、低 R/FR 条件では、*phyB* は SAS を促進し、ジャスモノイルイソロイシン濃度を低くすることで根粒形成を抑制する。図中の大きな文字は促進を、小さな文字は抑制を示す。

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)

- ① Tamaki Shigeyama, Akiyoshi Tominaga, Susumu Arima, Tatsuya Sakai, Sayaka Inada, Yusuke Jikumaru, Yuji Kamiya, Toshiki Uchiumi, Mikiko Abe, Masatsugu Hashiguchi, Ryo Akashi, Ann M. Hirsch and Akihiro Suzuki
Additional cause for reduced JA-Ile in the root of a *Lotus japonicus phyB* mutant. Plant Signaling and Behavior (in press)
- ② Akihiro Suzuki, Lalith Suriyagoda, Tamaki Shigeyama, Akiyoshi Tominaga, Masayo Sasaki, Yoshimi Hiratsuka, Aya Yoshinaga, Susumu Arima, Sakae Agarie, Tatsuya Sakai, Sayaka Inada, Yusuke Jikumaru, Yuji Kamiya, Toshiki Uchiumi, Mikiko Abe, Masatsugu Hashiguchi, Ryo Akashi, Shusei Sato, Takakazu Kaneko, Satoshi Tabata, Ann M. Hirsch
Lotus japonicus nodulation is photomorphogenetically controlled by sensing the R/FR ratio through JA signaling. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA vol.108, 16837-16842. 2011

〔学会発表〕 (計 5 件)

- ① Akihiro Suzuki, Lalith Suriyagoda, Tamaki Shigeyama, Akiyoshi Tominaga, Masayo Sasaki, Yoshimi Hiratsuka, Aya Yoshinaga, Susumu Arima, Sakae Agarie, Tatsuya Sakai, Sayaka Inada, Yusuke Jikumaru, Yuji Kamiya, Toshiki Uchiumi, Mikiko Abe, Masatsugu Hashiguchi, Ryo Akashi, Shusei Sato, Takakazu Kaneko, Satoshi Tabata, Ann M. Hirsch
Lotus japonicus nodulates when it sees red. 第 17 回世界窒素固定会議, 2011 年 11 月 27 日~12 月 1 日, フリーマントル(オーストラリア)
- ② 重山珠紀, Lalith Suriyagoda, 富永晃好, 佐々木雅代, 平塚芳美, 吉永綾, 有馬進, 東江栄, 酒井達也, 稲田さやか, 軸丸祐介, 神谷勇治, 内海俊樹, 阿部美紀子, 橋口正嗣, 明石良, 佐藤修正, 金子貴一, 田畑哲之, Ann M. Hirsch, 鈴木章弘
根粒形成は JA シグナリングを介した R/FR 比受容反応である
植物微生物研究会第21回研究交流会,
2011 年 9 月 20 日~9 月 22 日, 岡山市

〔図書〕 (計 2 件)

- ① 鈴木章弘, 廣田敦子, 林誠 特集: 根粒菌および菌根菌共生-最近の分子遺伝学の進

歩感染・根粒形成と植物ホルモン, 「植物の生長調節」46, 112-119, 2011

〔その他〕

ホームページ等

<http://extwww.cc.saga-u.ac.jp/~azuki/top.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 章弘 (SUZUKI AKIHIRO)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号: 50305108

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: