

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 23 日現在

機関番号：17201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25660063

研究課題名(和文)光質に影響を受ける根粒菌の運動性と共生能の検証

研究課題名(英文)Effect of light quality on rhizobial motility and symbiosis

研究代表者

永田 真紀(Nagata, Maki)

佐賀大学・農学部・非常勤研究員

研究者番号：80595918

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：根粒菌とマメ科植物は、化学物質の交換により相互認識をすることが知られている。しかし、化学物質の交換だけでなく、根粒菌は土壌中が暗黒であることを利用して、光る根に集まってくるのではないかと仮説を立てた。この仮説を証明するために、1. 根粒菌は光に集まるか? 2. 根粒菌の増殖は光に影響を受けるか? 3. 根への補光により根粒着生がコントロールされるか?の課題に取り組んだ。本課題の成果は次の通りである。根粒菌に青、赤、遠赤色光を照射したところ、いずれの色でも根粒菌の運動性に有意差は見られなかった。一方で、根粒菌は遠赤色光照射により増殖が促進し、青色光照射により増殖が抑制することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Light quantity is important for symbiosis between leguminous plant and rhizobia because host plants supply photoassimilates to symbiont as energy source. Moreover, light quality has the influence on the root nodule formation. We predicted that the light quality might have an influence on the root nodule formation in higher plants. Firstly, we irradiated an LED light (blue, red, far-red) to rhizobia on the semi-liquid nutrient medium to examine the rhizobial motility by the light quality. As a result, in comparison with dark condition, the rhizobial motility by the light quality did not have the significant difference. However, the rhizobial increase was promoted in far-red light condition in comparison with dark condition. From these results, it is suggested that rhizobial photoreceptor did not influence the rhizobial motility, however, rhizobial increase was influenced by far-red light.

研究分野：植物微生物相互作用

キーワード：植物微生物共生

1. 研究開始当初の背景

ダイズ根粒菌やエンドウ根粒菌では光受容体遺伝子が存在することが報告されている (Giraud et al., 2002, Bonomi et al., 2012)。そこでミヤコグサ根粒菌でも光受容体遺伝子を探索したところ、興味深いことに、やはり相同性の高い遺伝子が存在していることが分かった(未発表データ, 下表)。

	ミヤコグサ根粒菌 の光受容体候補遺伝子
青色光受容体	m119655
	m118094
赤色光受容体	m110984

しかし、なぜ、光合成を行わない根粒菌に光受容体が必要なのだろうか？一般に、植物の根は暗い土壌中にあることから、地上部に照射される光の量や質は直接的に影響を与えないと考えられる。しかしながら、植物には、地上部で受け取った光を根に送る光伝送系が存在し、その光には遠赤色光成分が多く含まれることが明らかにされた (Sun et al., 2005)。このことから、土壌中の植物の根は、弱いながら光を発している可能性が高い。根粒菌とマメ科植物の共生では、化学物質の交換により互いを認識することから始まるということが知られている。しかしながら、根粒菌は、化学物質の交換だけでなく、根の発する弱い光を感知することでもマメ科植物の存在を認識しているのではないかという仮説を立てた。本研究課題では、この仮説を証明するために、光の質(光質)の違いが根粒菌の運動性や根粒着生能に与える影響について明らかにし、光合成を行わない根粒菌になぜ光受容体が必要なのか検証する。さらに、光質制御により根粒菌の持つ根粒着生能力を最大限に引き出すための手掛かりを探る。

2. 研究の目的

根粒菌には光受容体が存在することが報告されている。なぜ、光合成を行わない根粒菌に

光受容体が存在するのだろうか？植物では、地上部で受け取った光を根に送る光伝送系の存在が明らかになっている。つまり、土壌中の植物の根は、地上部から送られた光をわずかながら発していることが考えられる。根粒菌とマメ科植物は、化学物質の交換により互いを認識することが知られている。しかし、化学物質の交換だけではなく、根粒菌は土壌中が暗黒であることを利用して、光る根を探して集まってくるのではないかという仮説を立てた。この仮説を証明するために、(1) 根粒菌は光に集まるか？(2) 根粒菌の増殖は光に影響を受けるか？(3) 根に対する補光により根粒着生がコントロールされるか？の3つの小課題に取り組む。

3. 研究の方法

(1) 光質による根粒菌の運動性の制御

LED ライト(青, 赤, 遠赤)で光質を制御し、根粒菌の運動性の違いを調査した。0.8% イーストマンニトール寒天培地にミヤコグサ根粒菌 *Mesorhizobium loti* MAFF303099 株 (1×10^7 cells/mL) を滴下培養し、培養部分から 1cm 離れた地点に LED ライトを照射した。一定期間後、LED ライト ($25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ または $90 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) の違いにより運動性が変化しているかを調査した。

(2) 光質による根粒菌の増殖速度への影響

LED ライトで光質を制御し、根粒菌の増殖速度の違いを調査した。これにより、根粒菌の増殖速度を促進する光質を決定した。イーストマンニトール液体培地でミヤコグサ根粒菌を培養し、根粒菌濃度を 1×10^7 cells/mL に調整した。調整した根粒菌培養液を LED ライト ($25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ または $90 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) 照射下に静置し、48、72、96、120、144 時間と経時的に根粒菌培養液の濁度を計測した。

(3) 根に対する補光による根粒着生への影響

根粒菌を接種したマメ科植物の根へ LED ライトにて補光し、植物体の根粒着生数を測定し

た。これにより、光質により影響を受けた根粒菌がマメ科植物に対し、どのような共生能を示すか明らかにする。0.8 % 水寒天培地で発芽させたミヤコグサ *Lotus japonicus* MG20 の実生を 1.5 % B&D 寒天培地に移植し、白色条件下で一週間生育させた。その後、 1×10^7 cells/mL に調整したミヤコグサ根粒菌をミヤコグサ根に接種し、地下部の一部に遠赤色光を照射し 3 週後に根粒着生数と根粒着生位置を調査した。

4. 研究成果

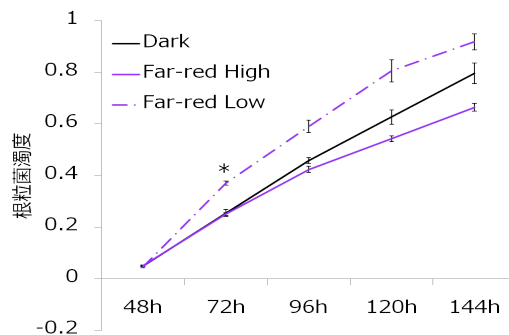
(1) 光質による根粒菌の運動性の制御

半流動性培地にミヤコグサ根粒菌を滴下培養し、培養部分から 1cm 離れた地点に青、赤および遠赤色の LED ライト照射条件下、LED ライトの色の違いにより運動性が変化しているかを調査した。その結果、通常の暗条件下で生育させた場合と有意な差は見られず、いずれの光条件下でも光に対する忌避行動なども確認出来なかった。この結果から、ミヤコグサ根粒菌の運動性には光質は影響を与えないことが明らかになった。つまり、ミヤコグサ根粒菌は特定の波長を好んで集まることはないことが分かった。

(2) 光質による根粒菌の増殖速度への影響

青、赤および遠赤色の LED ライトで光質を制御し、根粒菌の増殖速度の違いを調査した。 1×10^7 cells/mL に調整した根粒菌培養液を $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (Low) または $90 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (High) のそれぞれの色の LED ライト照射下に静置し、48、72、96、120、144 時間と経時的に根粒菌培養液の濁度を計測した。その結果、興味深いことに青色 LED ライト照射下では根粒菌の増殖が抑制されることが明らかとなった。しかしながら、青色光照射下で培養していたミヤコグサ根粒菌を暗条件下へ移動すると増殖することから、青色光によってミヤコグサ根粒菌が死滅したわけではないことが分かった。一方で、 $25 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の弱い遠赤色

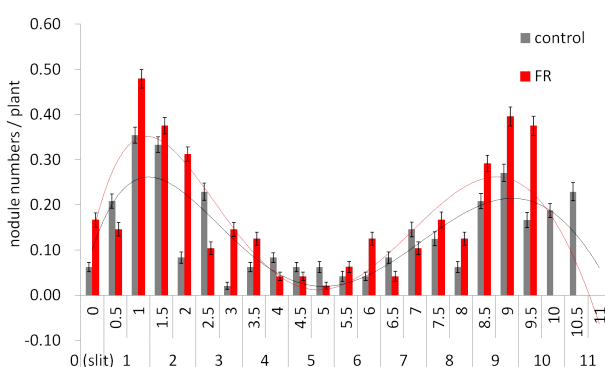
光の LED ライト照射下では、暗条件下や $90 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ の強い遠赤色光照射条件下と比較してミヤコグサ根粒菌の増殖速度が培養開始後 72 時間で有意に促進されることが明らかになった。その後、培養開始 144 時間後まで、弱い遠赤色光条件下でミヤコグサ根粒菌の増殖が促進される傾向が確認できた。



これらの結果から、光質の違いによりミヤコグサ根粒菌の運動性に違いは見られないが、増殖には影響を与えることが明らかになった。

(3) 根に対する補光による根粒着生への影響

(2) 光質による根粒菌の増殖速度への影響の実験結果から、弱い遠赤色光をミヤコグサの地下部へ照射することによって、ミヤコグサの根粒着生数が増加すると予測した。ミヤコグサ実生を白色光下で生育させた後、根粒菌を接種し、地上部は植物育成用蛍光灯を、地下部には遠赤色光を照射して 3 週後に根粒着生位置や根粒着生数を調査した。縦軸に植物体あたりの根粒着生数を取り、横軸に遠赤色光照射位置からの距離をとりグラフ化した。その結果、遠赤色光を照射しなかった場合と比較して遠赤色光照射位置に近い場所に根粒着生数が増える傾向が確認できた。



しかしながら、遠赤色光照射位置より遠い場

所でも根粒着生数が多くなる傾向が見られるなど植物体によるばらつきも多いため引き続き調査が必要であると考え。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

永田真紀、鈴木章弘、光質が根粒菌の感染を制御する、化学と生物、査読無、52 巻、2014、136-138

〔学会発表〕(計 5 件)

永田真紀ら、ナス科植物トマトにおける光質による菌根菌感染の制御、日本動物学会・日本植物学会・日本生態学会生物系三学会九州支部会、2013年5月18-19日、熊本

永田真紀ら、菌根菌感染に対する光の影響、植物微生物研究会第23回研究交流会、2013年9月7-9日、愛知

永田真紀ら、Control of mycorrhizal colonization by red/far-red ratio in tomato、第18回国際窒素固定会議、2013年10月14-18日、宮崎

永田真紀ら、Arbuscular mycorrhizal colonization are controlled by red/far-red ratio through jasmonic acid signaling、2014年7月6-10日、ギリシャ

永田真紀ら、光質が与える植物ホルモン合成への影響、植物微生物研究会第24回研究交流会、2014年9月19-21日、佐賀

〔図書〕(計 2 件)

Nagata M、Hirsch AM、Suzuki A、Wiley-Blackwell、Biological Nitrogen Fixation Book Chapter65 Lotus japonicus nodulates when it sees red、2014、1168(Chapter 65)

Nagata M、Suzuki A、In tech、Advances in Biology and ecology of nitrogen fixation Chapter 6 Effects of phytohormones on nodulation and

nitrogen fixation in leguminous plants、2014、111-128、DOI: 10.5772/57267

〔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 永田 真紀 (Nagata Maki)
佐賀大学 農学部 非常勤博士研究員
研究者番号: 80595918

(2)研究分担者 なし()
研究者番号:

(3)連携研究者 なし()
研究者番号: