

## マメ科植物と微生物との共生に及ぼす光の質と量の影響

### Effect of light quality and quantity on symbiosis between higher plant and symbiont

(日本植物学会推薦)

代表研究者 佐賀大学 鈴木 章弘 Saga University Akihiro SUZUKI  
協同研究者 鹿児島大学 内海 俊樹 Kagoshima University Toshiki UCHIUMI

Plants require light for photosynthesis and also to monitor light quality and quantity for optimal survival. Here, we show that sensing the red/far red (R/FR) ratio positively influences arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis development through jasmonic acid (JA) and strigolactone (SL) signaling. By transferring white light-grown *Lotus japonicus* MG20 inoculated with *Rhizophagus irregularis* to conditions of differing R/FR ratio, we found that in high R/FR, the infection rate of AM fungi significantly increased compared to plants grown in low R/FR. Furthermore, when MG20 was grown in high R/FR, transcripts for JA-related genes and marker genes for the AM-symbiosis were elevated compared to low R/FR treated plants. Moreover, adding JA not only enhanced transcription of the same genes, but also increased fungal hyphal length. Similarly, root exudates derived from high R/FR treated MG20 induced JA-responsive genes and also promoted AM hyphal elongation considerably more than exudates derived from low R/FR treated plants. We found that root exudates from high R/FR treated plants contained more (+)-5-deoxystrigol than low R/FR-derived exudates. These results indicate that exudates from high R/FR treated plants promote AM infection by inducing fungal hyphal elongation, branching, and concomitantly mycorrhizal colonization due to enhanced synthesis and secretion of JA and SL.

#### 研究目的

高等植物は微生物と共生することによって個体の成長に必要な栄養を得るなどのメリットを享受している。したがって、効率的な共生関係を確立することは植物の成長ひいては作物生産にとって非常に重要である。そして最近の研究から、マメ科植物と微生物との共生において、その感染過程の共通性が指摘されている。

マメ科植物は炭素源として光合成産物を根粒菌へ供給していることから、今までは根粒形成は主に光の量によって制御されていると考えられてきたが、代表研究者等は根粒形成が光の質によっても制御されていることを世界に先駆けて報告した (A. Suzuki et al. *PNAS*, 2011)。すなわち、根粒形成が赤色光受容体であるフィトクロムを介した赤色光/遠赤色光 (R/FR) 比受容反応であり、マメ科植物は避陰反応 (植物が他の植物の陰に入った時に茎を伸ばして日向へ

逃れようとする反応) が起きるような光合成に不利な条件下では、根粒形成を積極的に抑制していることを見いだした。そしてこのような事実は「菌根菌の感染も光の質 (波長) によって制御されている」可能性を示唆している。そこで本研究では菌根菌共生が光の質や量によって影響を受けるかどうかを調査した。

#### 研究経過

R/FR 比の違いによる菌根菌の感染率 マメ科のモデル植物であるミヤコグサ (*Lotus japonicus* Miyakojima MG20) を白色光下で2週間生育させ、光合成器官の発達を促した。次にそれらを低 R/FR 条件 (R/FR 値は 0.1) または高 R/FR 条件 (R/FR 値は  $\infty$ ) へと移動させ、菌根菌 (*Rhizophagus irregularis*) を接種して2週間後の感染率を調査した。その際、低 R/FR と高 R/FR で光合成光量子束密度は一定とし

て、菌根菌感染率は根をトリパンブルー染色することで評価した。その結果、低 R/FR 区での感染率は、高 R/FR 区と比較して有意に低くなった。R, FR は光受容体のフィトクロームで受容されることが知られているため、次にミヤコグサのフィトクローム B 変異体 (*phyB*) を用いて、野生型植物との間で感染率に違いがあるかどうかを調査した。その結果、白色光下で生育させた *phyB* 変異体では、野生型 MG20 よりも感染率が有意に低下していた。これらの事実は、根粒形成のみならず菌根菌との共生も R/FR 比受容反応であることを示している。ところで、根粒菌との共生は一部の例外を除いてマメ科植物に限定されるが、菌根菌との共生となると陸上植物の 80% 以上が確立していると考えられている。そこでマメ科以外の高等植物と菌根菌との共生関係も R/FR 比受容反応であるかどうかを調査した。ミヤコグサの場合と同様に、ナス科のトマト (*Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom) を低 R/FR 条件または高 R/FR 条件へ移動させ菌根菌接種後の感染率を調べたところ、期待された通りトマトの場合でも低 R/FR 区での感染率は、高 R/FR 区と比較して有意に低くなった。つまり、マメ科、非マメ科の如何に関わらず、菌根菌感染は光の質にも影響を受けるということである。そして念のため、菌根菌共生のマーカ遺伝子の発現も調査したところ、ミヤコグサにおける *LjSbtM1* 遺伝子やトマトの *SIPT4* 遺伝子の発現は低 R/FR 条件で有意に低くなっていることが確認できた。

**ジャスモン酸 (JA) 処理による菌根菌感染率の回復** 次にミヤコグサやトマトの根において感染率が低下していた低 R/FR 条件で、ジャスモン酸 (JA) のマーカ遺伝子の発現を解析したところ、*LjJAR1* 遺伝子や *SIAOS* 遺伝子が有意に減少していることが確認できた。そこで低 R/FR 条件で感染率が低下したところへ JA を添加して、感染率が回復するか否かを調査した。その結果、ミヤコグサ、トマトのいずれにおいても 0.5  $\mu$ M JA で処理した場合に菌根菌の感染は有意に回復していた。つまり低 R/FR 条件では JA の生産が減少してその結果、菌根菌の感染率が低下していたことになる。

**根滲出液中の JA の作用** ところで、JA は根から分泌されて菌根菌共生を制御しているのだろうか？ それを確かめるために、ミヤコグサ MG20 を白色光下で 10 日間水耕栽培し、その植物を低 R/FR 条件または高 R/FR 条件へ移動させ、2 日後の水耕液を回

収した。そして水耕液を 50 倍濃縮してミヤコグサの芽生えに与え、2 日後の JA マーカ遺伝子の発現を調査した。その結果、*LjJAR1* および *LjPDF1.2* いずれの遺伝子においても高 R/FR 水耕液で処理した場合に比べ、低 R/FR 水耕液で処理した場合に発現が有意に低くなっていた。この結果は、低 R/FR で育てた植物の水耕液と比較して高 R/FR で育てた植物の水耕液の方が多くの JA を含んでいることを示している。次にこれらの水耕液が持つ生理活性にどのような違いがあるのかを調査した。菌根菌の菌糸成長を観察するための M 培地へ、50 倍濃縮した水耕液を塗布し、そこへ菌根菌の胞子を接種した。そして3週間後に菌糸の伸張を測定したところ、高 R/FR で処理した植物から回収した水耕液を塗布した場合の方が、有意に菌糸が伸長した。また水耕液ではなく、JA を単独で M 培地へ塗布して菌糸の伸張を調べたところ、未処理の対照区と比較して 0.5  $\mu$ M JA を塗布した場合の方が、有意に菌糸が長くなった。以上の結果は、低 R/FR で生育させた植物と比較して、高 R/FR 条件で処理した植物の根からはより多くの JA が分泌されており、それが菌根菌の伸張を促しているということを示している。

**ミヤコグサ根滲出液中のストリゴラクトンの動態および作用** ところで高等植物と菌根菌共生において、植物ホルモンのストリゴラクトンが菌根菌の菌糸分岐に関与していることが知られている。そして上記の実験で調製した水耕液にもストリゴラクトンが含まれているものと考えるのが自然である。そうすると、光条件によって分泌されるストリゴラクトンの量に違いがあるのではないかとという疑問が湧く。この可能性について調査した。ミヤコグサを高 R/FR 条件または低 R/FR 条件で栽培し、ストリゴラクトン合成の *carotenoid cleavage dioxygenase* をコードする *LjCCD7* と *LjCCD8* 遺伝子の発現を調査した。その結果いずれの遺伝子の発現も高 R/FR と比較して低 R/FR 区で栽培した植物で劇的に抑制されていた。つまり高 R/FR で育てた植物の根においてより多くのストリゴラクトンが生産されているということになる。それでは根滲出液中のストリゴラクトンの量は違いがあるのだろうか？ 上述した方法でミヤコグサを水耕栽培して、5-デオキシストリゴールを CE/TOFMS によって相対的に定量した。その結果、低 R/FR 区と比較して高 R/FR 条件で育てたものの方が有意に多くの 5-デオキシストリゴールを根から分

泌していることが明らかになった。さらに低 R/FR および高 R/FR 条件下で栽培したミヤコグサ MG20 と *phyB* 変異体についても 5-デオキシストリゴールの量を測定したところ、いずれの処理区でも *phyB* 変異体において有意に低い値を示した。

## 考察

以上の実験結果をまとめると次のようになる。植物が太陽光を直接受容できる高 R/FR は光合成に適した光条件である。その時は生体内での JA 生産が活発化して根粒菌の共生が促進される (A. Suzuki et al. *PNAS*, 2011)。更にその条件ではストリゴラクトンの生産も盛んになっており、生産された JA とストリゴラクトンは根から土壤中へ分泌され、それらが菌根菌の菌糸伸張や菌糸分岐を促進することで菌根菌の宿主植物への感染の効率を上昇させている。一方、宿主となる植物が他の植物の陰にある場合は、葉の中のクロロフィルが赤色光を効率よく吸収するために照射される光の R/FR 比は低くなる。その条件下では、根において生産される JA やストリゴラクトンの量が高 R/FR 条件と比較して少なくなり、根粒菌の感染のみならず、菌根菌の菌糸伸張や分岐が促進されず、結果として菌根菌の感染効率が低くなる。トマトの JA 欠損変異体では菌根菌感染が野生型と比較して阻害されているという報告があるが、我々が得た結果は、それを支持している (M. Tejeda-Sartorius et al. *Physiol Plant*, 2008)。また、シロイヌナズナにおいてストリゴラクトンの合成は光によって誘導されることが報告されており (Y. Tsuchiya et al. *Nature Chemical Biol*, 2010)、光合成に有利な光条件でストリゴラクトンの合成が活発になるという我々の研究結果とも合致する。植物は光合成に不利な条件では、光を得るために持てるエネルギーを避陰反応に投入し、逆に光合成に有利な光条件では、そのエネルギーを微生物との共生に利用するという、エネルギーの最適分配のメカニズムであると考えられる。光の質と量をモニターすることは、根粒菌や菌根菌との適切な共生状態を築くために必要なことなのである。

## 参考文献

1. A. Suzuki, L. Suriyagoda, T. Shigeyama, A. Tominaga, M. Sasaki, Y. Hiratsuka, A. Yoshinaga, S. Arima, S. Agarie, T. Sakai, S. Inada, Y. Jikumaru,

Y. Kamiya, T. Uchiumi, M. Abe, M. Hashiguchi, R. Akashi, S. Sato, T. Kaneko, S. Tabata and A.M. Hirsch, *Lotus japonicus* nodulation is photomorphogenetically controlled by sensing the red/far red (R/FR) ratio through jasmonic acid (JA) signaling. *PNAS*, 108, 16837-16842, 2011.

2. M. Tejeda-Sartorius, O. Martinez de la Vega, J.P. D. Iano-Frier : Jasmonic acid influences mycorrhizal colonization in tomato plants by modifying the expression of genes involved in carbohydrate partitioning. *Physiol Plant* 133, 339-353, 2008.
3. Y. Tsuchiya, D. Vidaurr, S. Toh, A. Hanada, E. Nambara, Y. Kamiya, S. Yamaguchi, P. McCourt : A small-molecule screen identifies new functions for the plant hormone strigolactone. *Nature Chemical Biol*, 6, 741-749, 2010.

## 研究の発表

### 口頭発表

1. 鈴木章弘, 永田真紀, 山本直也, 重山珠紀, 穴井豊昭, 有馬進, 酒井達也, Ann M. Hirsch : 高等植物への菌根菌感染は光の質と量によって制御される, 日本作物学会第 234 回講演会, 川崎, 2013 年 3 月
2. 永田真紀, 山本直也, 有馬進, 穴井豊昭, 鈴木章弘 : 菌根菌感染に対する光の影響, 第 23 回植物微生物研究交流会, 岡崎, 2013 年 9 月
3. Akihiro Suzuki, Naoya Yamamoto, Maki Nagata, Tamaki Shigeyama, Toyooki Anai, Susumu Arima, Ann M. Hirsch : Both root nodulation and arbuscular mycorrhization are photomorphogenetically controlled by sensing the red/far red (R/FR) ratio through jasmonic acid (JA) signaling. Miyazaki, Japan, 18<sup>th</sup> International Congress on Nitrogen Fixation, October 2013.

### ポスター発表

1. Akihiro Suzuki, Naoya Yamamoto, Maki Nagata, Tamaki Shigeyama, Toyooki Anai, Susumu Arima, Ann M. Hirsch : Control of mycorrhizal infection by Red/Far-Red (R/FR) ratio through jasmonic acid (JA) signaling. Providence, USA, Plant Biology

2013, July 2013.

誌上発表

1. Maki Nagata, Naoya Yamamoto, Tamaki Shigeyama, Yohei Terasawa, Toyoaki Anai, Tatsuya Sakai,

Sayaka Inada, Susumu Arima, Ann M. Hirsch and Akihiro Suzuki : Mycorrhizal colonization is controlled by sensing the red/far red ratio through enhanced secretion of jasmonic acid and strigolactone. (submitted)