

植物根圏での代謝物の動態及び機能に関する研究



京都大学生存圏研究所 杉山 暁史

はじめに

根圏は、「植物根から影響を受ける土壌」と定義される根の周りの微小な領域である。根圏という概念は1904年にドイツの科学者Hiltnerが提唱して以来、土壌微生物の活性が高く、植物の生育に重要であるということが広く受け入れられてきた。近年、次世代シーケンサー技術の発展により根圏の微生物叢を包括的に解析することが可能となり、病害や養分吸収に関する根圏微生物が新たに見出されるなど、植物の健全な生長に寄与する根圏微生物叢の研究は世界的に盛んである¹⁾。このように根圏は極めて重要な土壌領域であるが、土壌の中で植物の生育に従って変化するため、圃場環境で根圏と非根圏を区別することは難しい。そのため、根圏に分泌される植物代謝物に関する研究の多くは水耕栽培等、無菌環境で解析されてきた。

根圏での植物微生物相互作用を活用した環境保全型農業を実現するためには、圃場環境を含め実際に植物が生育している環境での根圏における代謝物や微生物の動態を分子レベルで理解することが不可欠である。筆者は、ダイズの根から分泌され根粒形成のシグナルとなるフラボノイドに着目して、(1)フラボノイド輸送機構の解明、(2)根圏域のモデリング、(3)根圏制御因子としての機能について、分子レベルから圃場レベルまで解析した。その概要は以下の通りである。

1. ダイズ根からのダイゼイン分泌

ダイズの分泌するダイゼインやゲニステインは、根から土壌に分泌される主要な特化代謝産物であり、根粒形成過程の最初のシグナルとなる。これらシグナル分子は、根から受動的に分泌されると従前考えられていたが、ダイズ根の細胞膜ベシクルを用いた生化学的な輸送解析により、ダイズ根から根圏へのゲニステインの分泌が、ATP-Binding Cassette (ABC) 型の輸送体による能動輸送であることを明らかにした²⁾。さらに、ダイズ根からのイソフラボン分泌は栄養条件や生育ステージにより

変動し、窒素欠乏下でダイゼインやゲニステイン分泌が10倍以上上昇すること、栄養生長期にアグリコンであるダイゼインが主に分泌され、開花期以降、ダイゼイン分泌は急激に減少することなど、根からの分泌が多面的に調節されることを明らかにした(図1)³⁾。生育初期に顕著に見出される根圏への特化代謝産物の分泌は、ダイズのイソフラボン分泌のみならず、ダイズのサポニン類の分泌、トマト根からのトマチン類の分泌、コーヒーノキ根からのカフェイン分泌にも見出された。このことから、生育初期の代謝物分泌は幅広い植物種に見出される現象であり、植物が生育初期に代謝物を介して根圏を形成することが推測された。

2. 根圏域でのダイゼイン動態のモデル化

根から分泌された植物代謝物の根圏中の動態を明らかにするため、根圏でのダイゼインの動態をモデル化することを試みた。まず、水耕栽培で得られた各生育ステージのダイゼイン分泌量と、標品のダイゼインとその配糖体の分解速度から土壌での安定性を求めた。ダイゼイン分泌量が減少する生育後期は、ダイゼインの安定性(半減期7.5日)と配糖体の分泌(配糖体は半減期2時間以内で速やかにダイゼインとなる)により、生育期間を通して根圏の濃度がほぼ一定に保たれることが示唆された。実際にダイズ圃場で根圏のダイゼイン量を測定したところ、生育後期においても生育初期と同程度の蓄積が認められた⁴⁾。次いで、根圏域での代謝物の動態をシミュレーションするために、土壌物理学分野で水やイオンの移動の解析に用いられている流体モデルを取り入れることとした。移流分散方程式を用いたダイゼイン移動の支配方程式に、土壌分配実験や土壌物理解析により実験的に得られたパラメータを導入することで、根圏でのダイゼインの移動をシミュレーションし、ダイゼインの移動は根から数ミリの極めて微小な領域にとどまると算出された。さらにこれを実証するために、ダイズを根箱栽培して検証した結果、このシミュレーション結果が正しいことが確

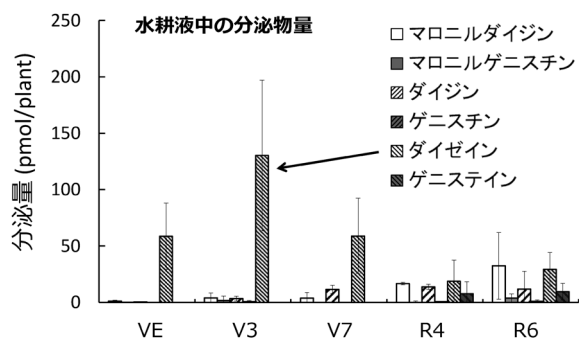


図1. ダイズ水耕栽培でのイソフラボン分泌の解析

V: 栄養成長期, R: 生殖成長期。ダイゼインの分泌は栄養成長期に多い。VEは1週齢であり、その後2週毎に24時間サンプリングした。

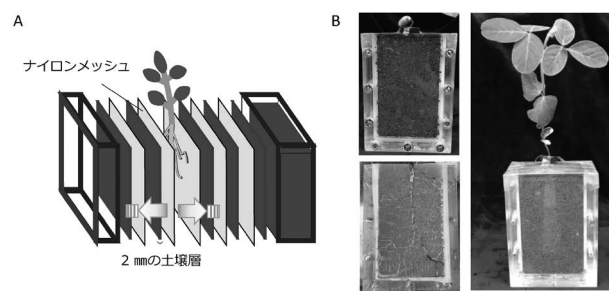


図2. 根箱でのダイズ栽培

A. ナイロンメッシュで2mmの土壌層を作り、ダイズを栽培。
B. ダイズ栽培過程。ダイズの根はナイロンメッシュで隔離されるが、代謝物は土壌へ移動する。

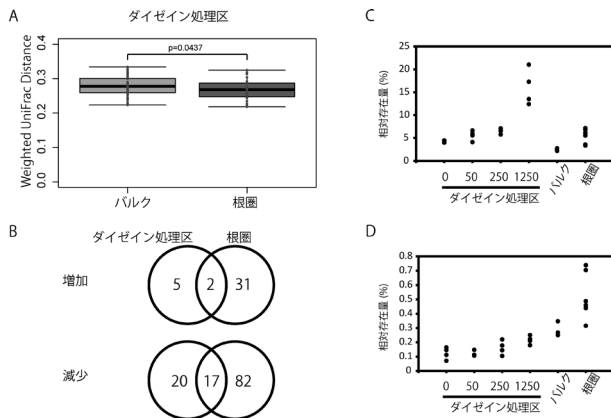


図3. ダイゼインの根圏微生物叢への影響

A. ダイゼイン処理土壌はダイズ根圏の微生物叢に近づく。B. ダイゼイン処理区とダイズ根圏で共通して増加または減少したファミリーの数。C. コマモナス科の相対存在量。D. マイクロバクテリウム科の相対存在量。

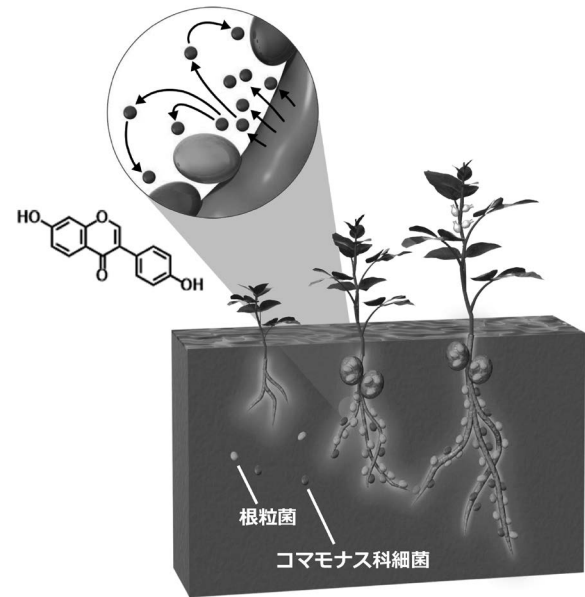


図4. ダイゼインによる根圏微生物叢形成のモデル

かめられた(図2)⁵⁾。移流分散方程式による根圏代謝物シミュレーションがダイゼインの動態推定に適応可能であることを明らかにしたが、このシミュレーションは他の植物代謝物の根圏での動態解析にも広く用いることができるため、今後様々な代謝物の根圏での動態と機能解明への活用が期待される。

3. 根圏微生物叢形成因子としてのダイゼインの機能

ダイゼインは根粒形成のシグナルとして機能することが1980年代に報告されているが、根粒形成がほとんど起こらない生育後期までその根圏濃度は維持される。そこで筆者は、ダイゼインがダイズ根圏微生物叢の形成に寄与するという仮説を立てた。圃場土に根圏と同濃度となるようダイゼインを経時的に処理し、微生物叢を圃場で生育したダイズ根圏の微生物叢と比較したところ、ダイゼイン処理により微生物叢はダイズ根圏の微生物叢に近づくことが明らかになった。ダイゼイン処理により微生物の多様性は減少し、コントロール区と比較して相対存在量が減少したファミリーが多く認められた。一方、ダイゼイン処理によって増加したファミリーは7つあり、そのうち、コマモナス科とマイクロバクテリウム科は、ダイゼイン処理区とダイズ根圏に共通して増加した⁵⁾。特にコマモナス科はダイゼイン処理区で相対存在量が10%を超え、根圏においても多く存在した(図3)。これらの結果から、ダイズがダイゼインの分泌を介して根粒菌との共生関係を構築するのみならず、根圏微生物叢を形成することが示唆された(図4)。

おわりに

ダイゼインをモデルとした一連の研究により、ダイズが代謝物の分泌を介して根圏を形成する過程の一端が明らかになってきた。ダイゼインをモデルとしたこれらの解析系は他の植物代謝産物の根圏機能の解析にも活用でき、筆者らはソヤサポニンやトマチンの根圏機能の解析を進めている。また、ダイズ圃場での根圏微生物叢の解析により、ダイズの根圏微生物叢は生育過程において変動することを明らかにしている^{6,7)}。植物が根圏への代謝物の分泌を介して根圏環境を制御するメカニズムが解明できれば、根圏での植物微生物相互作用を活用した環境保全型の農業に貢献すると期待される。そのためには、根圏への分泌機構の解明や、植物代謝物により増加する微生物の単離と

機能解析、代謝物と微生物を組み合わせた Synthetic community系の確立等の課題がある。今後も植物が根圏に分泌する様々な代謝物の機能解析を進め、基礎と応用の両面に貢献する研究を進めていきたい。

(引用文献)

- 1) A. Sugiyama: *Journal of Advanced Research* **19**, 67-73 (2019)
- 2) A. Sugiyama, N. Shitan & K. Yazaki: *Plant Physiology* **144**, 2000-2008 (2007)
- 3) A. Sugiyama, Y. Yamazaki, K. Yamashita, S. Takahashi, T. Nakayama & K. Yazaki: *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **80**, 89-94 (2016)
- 4) A. Sugiyama, Y. Yamazaki, S. Hamamoto, H. Takase & K. Yazaki: *Plant and Cell Physiology* **58**, 1594-1600 (2017)
- 5) F. Okutani, S. Hamamoto, Y. Aoki, M. Nakayasu, N. Nihei, T. Nishimura, K. Yazaki & A. Sugiyama: *Plant, Cell and Environment* (2020)
- 6) A. Sugiyama, Y. Ueda, T. Zushi, H. Takase & K. Yazaki: *PLoS ONE* **9**, e100709 (2014)
- 7) 杉山暁史, 矢崎一史: *化学と生物* **53**, 576-577 (2015)

謝辞 本研究は、京都大学大学院農学研究科、京都大学生存圏研究所で行われたものです。本研究を行う機会を与えてくださり、温かいご指導ご鞭撻を賜りました京都大学教授 矢崎一史先生に厚くお礼申し上げます。また、学生時代から現在に至るまで数多くのご指導、ご助言を賜りました京都大学名誉教授 關谷次郎先生、神戸薬科大学教授 土反伸和先生に深謝いたします。実験室から圃場へ、さらに情報科学的解析と、根圏代謝物を巡る研究を進める中で、様々な分野の先生方にご指導、ご協力頂きました。全ての方々のお名前を挙げることはできませんが、親身に相談に乗って頂き共同研究させて頂いた先生方、並びに、実験施設、実験材料を提供して頂いた先生方に心から御礼申し上げます。また本研究を支えてくださいました研究室のスタッフならびに共に研究を行ってきた在学生の皆様、修了生の皆様に感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました矢崎一史先生、ならびにご支援賜りました学会の先生方に厚く御礼申し上げます。