

根粒菌とマメ科作物の相互作用

東北大学大学院生命科学研究科教授 南澤 究

はじめに

根粒菌とマメ科植物は典型的な共生と言われています。共生という言葉は現在いろいろな意味で使われていまして、民族が仲よくする民族共生とか、人間と住宅環境を仲よくさせる共生住宅など、一種の社会用語になっています。しかし、共生の語源は19世紀中盤にドイツの植物病理学者が作った科学用語で、共に(Sym)生きる(biosis)つまり、二つの生き物が一緒に生活をしている(Symbiosis)にあります。したがって、植物病原菌も広い意味で植物と共生していることになります。一般にお互いに利益を与え合う相利共生を共生と見なす場合が良くありますが、その利益は温度も含めた種々の環境によって変化しますので、一緒に生活をするという広義の共生の捉え方が正しいと思われれます。

マーグリスの細胞内共生説では、グラム陰性細菌が細胞内共生をしてミトコンドリアになり、ラン藻が葉緑体になったことはよく知られた事実です。一つの細胞だけ見ましても、生物共生というのが地球上の生物の進化に非常に重要な役割を果たしております。もっとルーズな共生も含めて、現在でもそういう共生の試みが生物界では広く行われているというふうに考えられています。

根粒菌とマメ科作物の共生窒素固定の仕組み

根粒菌とマメ科作物の関係はどういうタイプの共生でしょうか。教科書的には宿主のマメ科植物が光合成をして、光合成産物を共生している根粒菌に与えます。根粒菌はそのエネルギーを使って窒素をアンモニアに変える窒素固定を行い、固定した窒素を植物にあげます。つまり炭素と窒素の物々交換をしている栄養共生です(図1)。根粒菌は宿主植物に細胞内共生をし、窒素固定を行うために、構造・機能・相互認識という点で大変巧妙な仕組みがあります。以下に3つに大別しながら説明致します(図2)。

(1) 共生窒素固定に適した構造をつくる

根粒菌とマメ科植物は共生窒素固定に適した構造を作ります。まず、1番目が物質の流れを促進をする構造です。根粒では炭素と窒素の交換がスムーズである必要があります。そのために根粒組織には維管束系が大変発達をしています。根粒組織では、導管および篩管の束になった維管束が根粒菌感染細胞を取り囲むように発達しています。この維管束系は、植物からのエネルギーや根粒菌が固定した窒素を速やかに運ぶために役立っています。

2番目が防御応答の回避です。根粒菌も微生物なので、侵入微生物として植物の防御システムに引っかかる場合があります。それを避けるために、ミトコンドリアや葉緑体などと同じような二重膜構造をつくっています。この二重膜構造により、侵入者である根粒菌と植物細胞の細胞質が直接接触して、植物側の

防御応答を起こさないようになっています。

3番目は共生窒素固定における酸素パラドックスの回避です。窒素固定酵素ニトロゲナーゼは、地球大気が還元的である時代の酵素でありまして、酸素に非常に弱いのです。しかしながら、根粒菌もマメ科作物もどちらもエネルギーをつくるために酸素呼吸をしなければなりません。この矛盾を解消するために、根粒にはレグヘモグロビンという酸素運搬タンパク質が多量に生産されます。つまり、ニトロゲナーゼを失活しないくらいの低い酸素分圧で、大量の酸素を供給することができる仕組みになっています。

(2) 宿主植物が根粒菌を飼いならす。

根粒菌などの共生窒素固定微生物の研究をしておりますと、宿主植物が根粒菌を飼い慣らしていることが良く分かります。

根粒菌は共生していないときは大方の炭素源（例えば糖）なら何でも食べます。ところが、共生状態になるとリンゴ酸しか食べなくなります。リンゴ酸というのは、TCA サイクルの有機酸ですので、即エネルギーになる良い基質でありまして、共生根粒菌はリンゴ酸だけを食べるように代謝系全部チェンジをします。そのかわり植物側が一生懸命ショ糖からリンゴ酸に分解して渡すという作業をします。

2番目が固定窒素の移譲です。言い換えると、宿主植物の固定窒素の横取り戦略です。共生している根粒菌が必要な窒素源は、実は宿主植物がアミノ酸の形で上げているということが最近わかりました。根粒菌のアミノ酸取込みポンプを止めてしまうと、宿主植物への固定窒素の放出を止めてしまいます。つまり、宿主植物からアミノ酸をもらっていると、根粒菌は窒素固定を続けて固定窒素をどんどん外に出す。要はそういうお人よし行為をするのは植物がだましているということが分かってきました。

3番目が、共生者の数を一定にするという宿主側のコントロール問題です。根粒超着生型変異ダイズでは根が全部根粒になり、宿主の方が疲弊してしまいます。地上部で働く *har1* という宿主遺伝子が壊れると根粒超着生現象が起こります。詳細の解明はこれからですが、今のところの説明は、根粒が形成されるとシグナルが地上部に行きまして、地上部の方でそのシグナルを変換しまして、根粒組織形成を抑制するフィードバックがかかり、根粒数を一定に保つという仕組みが生理・遺伝学の実験でわかっております。

(3) 相手確かめる。

根粒菌とマメ科植物では、共生を行なう前に相手確かめるということを行います。これは両者の宿主特異性が高いということの仕組みなわけですが、植物から根粒菌へまずフラボノイドシグナルを放出し、根粒菌がそのシグナルを受け取ると根粒菌から植物へこれから感染するから準備をなさいというオリゴ糖の *Nod factor* というシグナルを出します。最終的には交信し相手を確認してから植物側が本格的な準備を始めるという仕組みになっておりまして、この初期相互作用は、微生物と植物の相互認識機構のモデルとして 20 年

来有名な話なのでご存じの方多いと思います。

根粒菌の優良形質と土着根粒菌

農業上あるいは環境科学的に考えて、根粒菌のどのような性質が望ましいのかについて明らかにするのが、応用上重要であります。例えば、窒素固定効率の高い根粒菌あるいは宿主域が広い根粒菌はマメ科作物の生産という面で望ましいことは明らかです。また、環境保全面での利用も考えられます。

根粒菌は微生物接種資材として長い歴史がありますが、その効果については二つのケースに分かれます。一つは、土着根粒菌がない処女地では根粒菌を接種することによって劇的な増収が起こります。ところが、土着根粒菌が生息していると多くの場合明瞭な接種効果が見られません。日本や中国などのダイズの原産地にはダイズ根粒菌がもともと土着菌として生息しており、接種菌と土着菌の競合が宿主作物との関係で複雑に起きます。

Bradyrhizobium japonicum と *Bradyrhizobium elkanii* はどちらもダイズ根粒菌の仲間なのですが、両者の競合条件下では、栽培ダイズ、野生ダイズ、熱帯牧草のサイラトロに対して非常に異なった根粒形成率を示します。栽培ダイズは圧倒的に *B. japonicum* が好きで、野生ダイズは中立で、サイラトロの方はやっぱり *B. elkanii* が大好きだという形になるわけです。実際のフィールドでは厳密な宿主特異性以外にこのような宿主親和性と言われる関係がありまして、共生成立を規定している宿主親和性因子の存在が推定されます。

競合的根粒形成とエチレン

リゾビトキシンというのは、根粒菌 *B. elkanii* が生産する低分子の物質で、ダイズのみクロロシスを起こすことが知られています。いろいろ調べておりましたら、リゾビトキシンは植物ホルモンであるエチレン生合成の強力な阻害剤でした（図3）。エチレンは気体状の植物ホルモンで、植物の生育をコントロールしておりますが、根粒形成も阻害します。*B. elkanii* のリゾビトキシン生合成遺伝子を破壊しますと、わずかですがサイラトロへの根粒形成を低下させます。面白いことは、競合条件ではその差が広がり、リゾビトキシンは宿主植物のエチレンレベルを低下させて、牧草サイラトロに対して競合条件下の根粒形成を促進する物質であることが分かりました。

現在、根粒菌 *B. elkanii* のリゾビトキシンの生合成系遺伝子を調べておりますが、イネの白葉枯れ病菌のゲノムに根粒菌とほとんど同じ遺伝子の並びがあるということが最近分かりました。病原菌もやはり何か感染を促進するために同じような戦略を使っていることがうかがえます。

リゾビトキシンはエチレン生合成中間体の ACC (1-アミノシクロプロパン-1-カルボキシレート) を合成する酵素の阻害剤で生産菌は *B. elkanii* のみです。では他の根粒菌はどうしてリゾビトキシンを生産しないのだろうと置いていたところ、今度は ACC を分解する ACC デアミナーゼ遺伝子を持っていることが分

かりました（図3）。ACCデアミナーゼは、エチレン生合成中間体ACCを分解することによって最終的にエチレンの生成量を低下させます。両方とも方策は別なのですが、結果としては宿主植物のエチレンレベル低下という同じ効果によって、競合的な根粒形成を促進することが分かりました。リゾビトキシンやACCデアミナーゼは、このようにして宿主への親和性因子として働いていると考えられます。

ダイズ根粒菌の異化的硝酸還元とN₂O代謝

ダイズ根粒菌は共生窒素固定細菌ですが、硝酸還元、亜硝酸還元、一酸化窒素還元、酸化窒素(N₂O)還元という一連の脱窒系の遺伝子をセットで持っていました。根粒中ではレグヘモグロビンにより酸素分圧が低くなります。そうすると、窒素固定系や共生のための遺伝子が誘導され、嫌気呼吸系である脱窒遺伝子群も誘導されます。そこで、根粒菌がN₂Oも吸収還元されるか調べました。N₂Oは温室効果ガス、オゾン層破壊ガスです。

その結果N₂O還元酵素遺伝子*nosZ*保有ダイズ根粒菌は、根圏のN₂Oを強力に吸収し、その還元生成物としてN₂ガスを放出します（図4）。*nosZ*遺伝子を持っていない菌はN₂O吸収は起きません。実験室では、根粒はN₂Oとか硝酸とか亜硝酸とかそういうものをクリーンアップできます。しかし、環境科学の分野ではマメ科作物を栽培するとN₂O発生が多くなるという報告がここ20年来ずっとあるのです（図4）。実験室と圃場でこのようなN₂Oパラドックスが起こる理由について現在研究をしていますけれども、その一つの原因は多分根粒の周りの根粒根圏の土壤微生物が根粒から窒素と有機物をもらってN₂Oを生成しているからであると推定しています。一方、*nosZ*保有ダイズ根粒菌はN₂Oを吸収しています。結局、これらの発生と吸収のバランスによって根粒根圏のN₂Oの出入りが決まっていると考えられます。最終的にこれらの成果を硝酸呼吸の能力を強化した株で、地球環境に優しい根粒菌接種資材についても研究を進めていきたいと考えております。

おわりに

根粒菌とマメ科植物の共生窒素固定の仕組みと利用可能性の紹介をしてきました。両パートナーの相互作用は、根粒菌や宿主植物の間の種々の相互作用因子に担われておりますが、それらの働きは環境条件により変化します。寒冷圏という低温条件では一般的に相互作用は鈍くなり、カナダの民間企業ではフラボノイドの種子投与により低温時の根粒形成を促進して、収量増まで達成したという報告があります。今後、こういった視点も含めて、共生窒素固定の促進や環境保全の研究を進めることが重要ではないかと思えます。

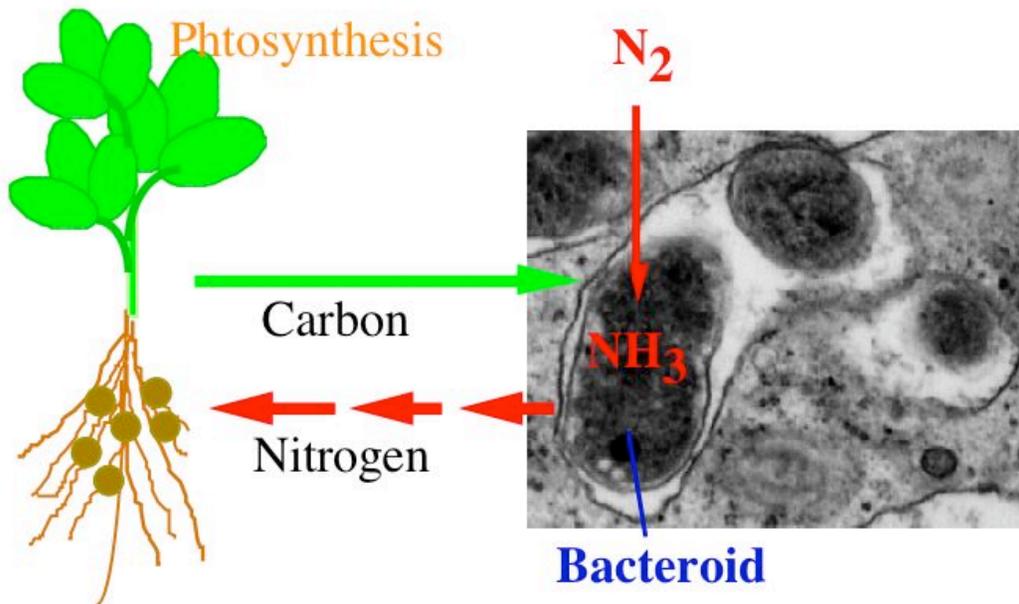


図1 根粒菌とマメ科植物の栄養共生

根粒菌とマメ科植物の共生の仕組み

- (1) 共生窒素固定の適した構造を作る。
 - 1) 物質の流れを促進：維管束の発達
 - 2) 防御システムから逃れる：二重膜構造
 - 3) 矛盾した酸素環境：レグヘモグロビン
- (2) 宿主植物が根粒菌を飼いならす。
 - 1) 贅沢な食事を用意する。
 - 2) 固定窒素を貰うために根粒菌にアミノ酸をあげる。
 - 3) 根粒のつけすぎに御用心
- (3) 相手を確認める。
 - 1) 植物から根粒菌へのシグナル
 - 2) 根粒菌から植物への感染シグナル
 - 3) 交信して相手を確認してから、根粒を作る準備

図2 根粒菌とマメ科植物の共生の仕組み

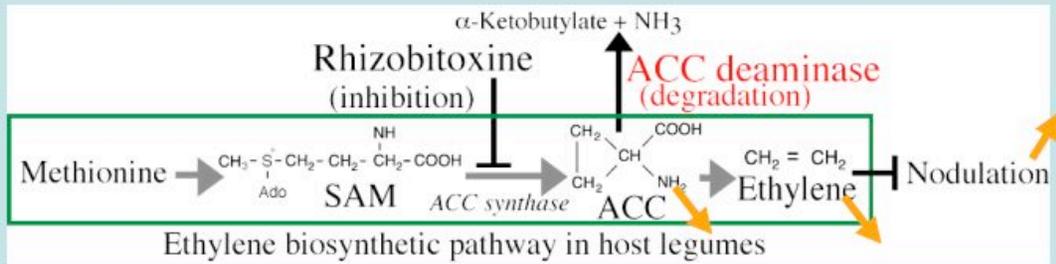


図3 リゾビトキシンとACCデアミナーゼによる植物のエチレン生合成阻害機構

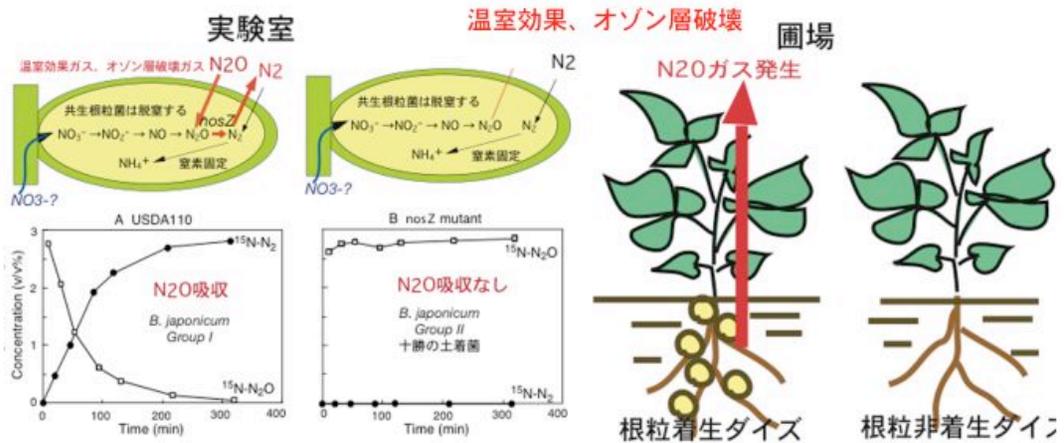


図4 ダイズ根粒の N_2O パラドックス