

## 戦略的国際共同研究プログラム(SICORP)

日本－欧州共同研究

終了報告書 概要

1. 研究課題名：「ストレス条件下における植物機能亢進による作物収量の向上」
2. 研究期間：2017年4月～2021年3月
3. 主な参加研究者名：  
日本側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	榊原 均	教授	名古屋大学 大学院 生命農学研究科	全体の統括、 ホルモン作用 研究
研究参加者	木羽 隆敏	准教授	名古屋大学 大学院 生命農学研究科	窒素ストレス 応答研究
研究参加者	小嶋 美紀子	専門技 術員	理化学研究所 環境 資源科学研究センタ ー	植物ホルモン 定量解析
研究参加者	竹林 裕美子	テクニ カルス タッフ	理化学研究所 環境 資源科学研究センタ ー	植物ホルモン 定量解析
研究期間中の全参加研究者数			7 名	

## 相手側チーム

	氏名	役職	所属	研究分担
研究代表者	POLLMANN Stephan	Professor	Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid, Spain	全体の統 括、トラン スクリプト ーム解析
主たる 共同研究者	OELMÜLLER Ralf	Professor	Friedrich Schiller University Jena, Germany	<i>P. indica</i> 接 種実験の統 括
主たる 共同研究者	KRAPP Anne	Director	INRA- AgroParisTech, Institute of Jean- Pierre Bourgin, Versailles, France	窒素栄養ス トレス応答 解析
主たる 共同研究者	LUDWIG-MÜLLER Jutta	Professor	Dresden University of Technology, Germany	オーキシン 関連解析
主たる 共同研究者	VICENTE- CARBAJOSA Jesús	Associate Professor	Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid, Spain	転写因子機 能解析
研究参加者	SCHOLZ Sandra S.	Postdoctoral	Friedrich Schiller	窒素ストレ

		Researcher	University Jena, Germany	ス応答解析
研究期間中の全参加研究者数		13名		

#### 4. 国際共同研究の概要

植物内生真菌である *Piriformospora indica* の感染が引き起こす、植物の成長促進と種々のストレス耐性向上に関わる鍵遺伝子を、国際協働によるオミックス解析と機能解析により同定することを目的に共同研究を行なった。シロイヌナズナを用いて感染後のトランスクリプトーム変化、ホルモノーム変化を詳細に解析するとともに、栄養欠乏などのストレス条件下での *P. indica* 感染によるトランスクリプトーム変化の違いを比較解析した。その結果、*P. indica* 感染による根系成長促進に関連する因子として、オーキシン代謝系とカルシウムシグナル伝達系を見出した。具体的には、オーキシン代謝経路が *P. indica* 感染時におけるオーキシン恒常性維持に重要な役割を果たすことを明らかにした。また、感染により特徴的に誘導されるカルシウムシグナル系遺伝子を見出した。種々の解析の結果、*P. indica* 感染によりこの遺伝子発現が上昇することで、植物と *P. indica* の相互作用の確立や内生関係の維持を促進し、また根系成長を正に制御することを示唆した。窒素栄養ストレスに対する耐性向上については、上述のカルシウムシグナル系遺伝子下流に窒素欠乏下で誘導される窒素獲得系遺伝子群があり、これら遺伝子の発現を上昇させることが原因の 1 つである可能性を示した。以上の知見をもとに *P. indica* による成長促進と栄養ストレス耐性亢進機構のモデルを構築した。研究期間中に 6 回の合同ミーティングと 2 回の国際ワークショップを開催し、大学院生、若手研究者も含めた交流を行なった。

#### 5. 国際共同研究の成果

##### 5-1 国際共同研究の学術成果および実施内容

シロイヌナズナへの *P. indica* 接種後のトランスクリプトーム変化、ホルモノーム変化を詳細に解析し、*P. indica* 感染による根系成長促進に関連する因子として、オーキシン代謝系とカルシウムシグナル伝達系を見出した。具体的には、*P. indica* 感染によるオーキシン生合成活性化に対する代謝経路の誘導が、オーキシン作用の恒常性維持に重要な役割を果たすことを明らかにした。また、鍵遺伝子候補としてカルシウムシグナル伝達系遺伝子を同定し、その下流にある遺伝子発現の調節により、成長促進や窒素栄養ストレス耐性を向上させるというモデルを構築した。

##### 5-2 国際共同研究による相乗効果

おおよそ半年に 1 度のペースで計 6 回の合同ミーティングを開催した。日本側と欧州側の PI と Co-PI の所属機関でそれぞれ 1 回ずつ開催し、各研究室の若手研究者や大学院生もミーティングに参加することで交流を深めた。さらにイエナとベルサイユでの合同ミーティング時に国際ワークショップ「Plant performance under stress」を開催した。

##### 5-3 国際共同研究成果の波及効果と今後の展望

本国際共同研究で同定した鍵遺伝子候補は、内生菌の定着や維持に加え、窒素の効率的な取り込み制御にも関わることから、今後作物への展開に期待が持たれる。人材育成についても、日本側、欧州側双方から多くの若手研究者、技術者、大学院生が参画し、有意義な交流を進めることができた。

Strategic International Collaborative Research Program (SICORP)  
Japan – Spain, Germany, France Joint Research Program  
Executive Summary of Final Report

1. Project title : 「Improving crop yield by enhanced plant performance under stress conditions」
2. Research period : April 2017 ~ March 2021
3. Main participants :

Japan-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Hitoshi SAKAKIBARA	Professor	Nagoya University	Overall supervision, hormone action study
Collaborator	Takatoshi KIBA	Associate Professor	Nagoya University	Nitrogen stress response study
Collaborator	Mikiko KOJIMA	Expert Technician	RIKEN Center for Sustainable Resource Science	Phytohormone analysis
Collaborator	Yumiko TAKEBAYASHI	Technical Staff	RIKEN Center for Sustainable Resource Science	Phytohormone analysis
Total number of participants throughout the research period:				7

Partner-side

	Name	Title	Affiliation	Role in the research project
PI	Stephan POLLMANN	Professor	Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid, Spain	Overall supervision, transcriptome analysis
Co-PI	Ralf OELMÜLLER	Professor	Friedrich Schiller University Jena, Germany	Supervision of <i>P. indica</i> inoculation
Co-PI	Anne KRAPP	Director	INRA-AgroParisTech, Institute of Jean-Pierre Bourgin, Versailles, France	Nitrogen-deficient stress response analysis
Co-PI	Jutta LUDWIG-MÜLLER	Professor	Dresden University of Technology, Germany	Auxin study
Co-PI	Jesús VICENTE-CARBAJOSA	Associate Professor	Centro de Biotecnología y	Transcription factor study

			Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid, Spain	
Collaborator	Sandra S. SCHOLZ	Postdoctoral Researcher	Friedrich Schiller University Jena, Germany	Nitrogen-deficient stress response analysis
Total number of participants throughout the research period:				13

#### 4. Summary of the international joint research

We conducted an international collaborative study to identify key genes involved in plant growth promotion and tolerance to various environmental stresses caused by infection with the endophytic fungus *Piriformospora indica*. The transcriptome and hormone changes after *P. indica* infection in Arabidopsis were comprehensively analyzed. As a result, we found that auxin metabolism and calcium signaling systems were related to the root system growth promotion by *P. indica* infection. Specifically, we found that the auxin metabolic pathway plays an important role in maintaining homeostasis of auxin action under *P. indica* colonization. In addition, our results suggest that calcium signaling genes are involved in the promotion of root system growth, establishment and maintenance of plant-*P. indica* interactions, and up-regulation of nitrogen-uptake genes in *P. indica*-infected Arabidopsis. Based on our findings, we made a model for the mechanism underlying plant growth promotion and nitrogen-deficient stress tolerance by *P. indica*. During the research period, six joint meetings and two international workshops were held, where young researchers could interact. We will continue our collaborative relationship to further develop our international joint research.

#### 5. Outcomes of the international joint research

##### 5-1 Scientific outputs and implemented activities of the joint research

We comprehensively analyzed the transcriptome and hormone changes after inoculation of Arabidopsis with *P. indica*, and found that auxin metabolism and calcium signaling pathways are related to the growth promotion of the root system by *P. indica* infection. Also, we found that the calcium signaling factor is involved in efficient nitrogen uptake. We made a model in which the regulation of gene expression downstream of the calcium signaling factor enhances root system growth promotion and tolerance to nitrogen-deficient stress.

##### 5-2 Synergistic effects of the joint research

Six joint meetings were held at a pace of approximately once every six months. Young researchers and graduate students from our laboratories participated in the meetings to deepen exchanges. In addition, two international workshops "Plant performance under stress" were held in Jena and Versailles.

##### 5-3 Scientific, industrial or societal impacts/effects of the outputs

In addition to the establishment and maintenance of plant-*P. indica* interactions, the key gene candidates we identified are also involved in the efficient nitrogen uptake. Thus, they are expected to be applied to crops in the future. In terms of social impact, many young researchers, technicians, graduate students from both the Japanese and European sides participated, and they were able to promote meaningful exchanges.

## 国際共同研究における主要な研究成果リスト

### 1. 論文発表等

\*原著論文（相手側研究チームとの共著論文）発表件数：計 0 件

・査読有り：発表件数：計 0 件

・査読無し：発表件数：計 0 件

該当なし

\*原著論文（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの論文）：発表件数：計 5 件

・査読有り：発表件数：計 9 件（日本側研究チームのプロジェクトリーダーを二重下線、研究参加者を一重下線で示す）

1. Kiba T, Inaba J, Kudo T, Ueda N, Konishi M, Mitsuda N, Takiguchi Y, Kondou Y, Yoshizumi T, Ohme-Takagi M, Matsui M, Yano K, Yanagisawa S, Sakakibara H, “Repression of nitrogen starvation responses by members of the Arabidopsis GARP-type transcription factor NIGT1/HRS1 subfamily” *Plant Cell*, **2018**, 30(4), 925-945 doi: 10.1083/jcb.201506172
2. Maeda Y, Konishi M, Kiba T, Sakuraba Y, Sawaki N, Kurai T, Ueda Y, Sakakibara H, Yanagisawa S, “A NIGT1-centred transcriptional cascade regulates nitrate signalling and incorporates phosphorus starvation signals in Arabidopsis” *Nat Commun.*, **2018**, 9(1), 1376 doi: 10.1038/s41467-018-03832-6.
3. Kiba T, Takebayashi Y, Kojima M, Sakakibara H. “Sugar-induced de novo cytokinin biosynthesis contributes to Arabidopsis growth under elevated CO<sub>2</sub>” *Scientific Reports*, **2019**, 9, 7665 doi: 10.1038/s41598-019-44185-4
4. Nakamichi N, Kudo T, Makita N, Kiba T, Kinoshita T, Sakakibara H, “Flowering time control in rice by introducing Arabidopsis clock-associated PSEUDO-RESPONSE REGULATOR 5”, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2020**, 84, 970-979 doi: 10.1080/09168451.2020.1719822
5. Ohtaka K, Yoshida A, Kakei Y, Fukui K, Kojima M, Takebayashi Y, Yano K, Imanishi S, Sakakibara H., “Difference between day and night temperatures affects stem elongation in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings via regulation of gibberellin and auxin synthesis”, *Front. Plant Sci.*, **2020**, 11: 577235

・査読無し：発表件数：計 0 件

該当なし

\*その他の著作物（相手側研究チームとの共著総説、書籍など）：発表件数：計 1 件（日本側研究チームのプロジェクトリーダーを二重下線、研究参加者を一重下線で示す）

1. Pérez-Alonso MM, Guerrero-Galán C, Scholz SS, Kiba T, Sakakibara H, Ludwig-Müller J, Krapp A, Oelmüller R, Vicente-Carbajosa J, Pollmann S., “Harnessing symbiotic plant-fungus interactions to unleash hidden forces from extreme plant ecosystems”, *J. Exp. Bot.*, **2020**, 71(13), 3865-3877 doi: 10.1093/jxb/eraa040.

\*その他の著作物（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの総説、書籍など）：発表件数：計 1 件（日本側研究チームのプロジェクトリーダーを二重下線で示す）

1. Sakakibara H, “Quantitative and qualitative tuning of cytokinin actions for plant growth regulation”, *Regul Plant Growth & Dev.* (植物の生長調節) **54(2)**, 137-142

### 2. 学会発表

\*口頭発表（相手側研究チームとの連名発表）

発表件数：計 0 件（うち招待講演：0 件）

\* 口頭発表（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表）

発表件数：計 5 件（うち招待講演：4 件）（日本側研究チームのプロジェクトリーダーを二重下線、研究参加者を一重下線で示す）

1. Kojima M, “Highly sensitive and high-throughput phytohormone quantification platform”, Technical Workshop of Phytohormone Analysis, Yokohama, 2017/9/15
2. Sakakibara H, “Advantage of phytohormone profiling in plant physiology research”, KAAB International Symposium, Niigata, 2017/9/25（招待講演）
3. Sakakibara H, “Quantitative and qualitative tuning of cytokinin actions for plant growth optimization”, EIG-CONCERT Workshop Plant Performance Under Stress I, Jena, Germany, 2018/9/25（招待講演）
4. Sakakibara H, “Structural variation of cytokinin controls the action specificity in shoot growth and development”, ITbM International Symposium, Nagoya, 2018/10/5（招待講演）
5. Sakakibara H, “Structural variation of cytokinin controls the action specificity”, IPGSA 2019, Paris, France, 2019/6/25（基調講演）

\* ポスター発表（相手側研究チームとの連名発表）

発表件数：計 0 件

\* ポスター発表（相手側研究チームを含まない日本側研究チームの発表）

発表件数：計 2 件（日本側研究チームのプロジェクトリーダーを二重下線、研究参加者を一重下線で示す）

1. Surjana A, Takahata M, Ueda N, Kojima M, Sakakibara H, “Characterization of biosynthesis pathway and function of novel cytokinins produced by *Rhodococcus fascians*” IPGSA 2019, Paris, France, 2019/6/26
2. Kiba T, Kamiya M, Takebayashi Y, Kojima M, Sakakibara H, “A mechanism for xylem loading of cytokinin mediated by ABCG14”, IPGSA 2019, Paris, France, 2019/6/26

### 3. 主催したワークショップ・セミナー・シンポジウム等の開催

1. テクニカルワークショップ「Plant hormone analysis」主催者：榊原 均（理研・グループディレクター）、理研横浜キャンパス、横浜、日本、2017年9月15日、参加人数 15 名程
2. 国際ワークショップ「Plant performance under stress I」、主催者：Oelmüller R（イエナ大学・教授）、マックスプランク研究所、イエナ、ドイツ、2018年9月25日、参加人数 50 名程
3. 国際ワークショップ「Plant performance under stress II」、主催者：Krapp A（INRA ベルサイユ・所長）、INRA ベルサイユ IJPB、ベルサイユ、フランス、2019年6月24日、参加人数 60 名程
4. ワークショップ「EIG-CONCERT Workshop」主催者：Jutta Ludwig-Müller（ドレスデン工科大学・教授）、ドレスデン工科大学、ドレスデン、ドイツ、2019年12月6日、参加人数 15 名程

### 4. 研究交流の実績（主要な実績）

【合同ミーティング】

- ・2017年9月14日：第1回 IPSC、理研横浜キャンパス、横浜、日本
- ・2018年3月8,9日：第2回 IPSC、マドリード工科大学、マドリード、スペイン

- ・2018年9月24日：第3回 IPSC、イエナ大学、イエナ、ドイツ
- ・2019年6月25日：第4回 IPSC、INRA、ベルサイユ、フランス
- ・2019年12月6日：第5回 IPSC、ドレスデン工科大学、ドレスデン、ドイツ
- ・2021年3月8日：第6回 IPSC、Zoom によるオンライン会議

【学生・研究者の派遣、受入】

- ・2017年9月：第1回 IPSC ミーティングに、スペイン、フランス、ドイツから4名の若手研究者が参加し、交流を行なった。
- ・2018年9月：日本から木羽准教授が、イエナ大学を訪問し、*P. indica* 接種実験と栄養ストレス条件の議論を行なった。
- ・2019年6月：日本側大学院生が第4回 IPSC ミーティングに帯同し、相手側若手研究者と交流を行った。

5. 特許出願

研究期間累積出願件数：0 件

6. 受賞・新聞報道等

受賞：

- ・ American Society of Plant Biologists (ASPB) Enid MacRobbie Corresponding Membership, Hitoshi Sakakibara, 2020.7.13
- ・ Clarivate Analytics Highly Cited Researcher, Hitoshi Sakakibara, 2017, 2018, 2019, 2020

7. その他

【アウトリーチ活動】

- ・2018年8月30,31日：JST フェア（東京ビックサイト）において、本研究プロジェクトの内容についてポスター展示と紹介を行った。
- ・2019年3月21日：名古屋大オープンレクチャー（名古屋大学）において、「植物の中の会話のはなし」というタイトルの講演を行い、植物ホルモンの重要性や植物と微生物との相互作用について、*P. indica* にも触れつつ講演した。