

糸状菌の植物寄生・共生戦略と植物応答の多様性に関する研究

晝間 敬 (奈良先端科学技術大学院大学)

hiruma@bs.naist.jp

はじめに

植物感染微生物の感染戦略は多様であり、共生から寄生まで幅広い。共生菌と寄生菌とは多くの文脈で大きく異なる存在として認識されてきているが、微生物は、実際は環境条件や宿主環境に適した感染戦略を選択する可塑性を有していると考えられる。*Colletotrichum* 属糸状菌 (カビ) には、種々の作物に炭疽病を引き起こす多くの種が存在する。演者は、これまでに、炭疽病菌とシロイヌナズナの相互作用をモデルとして、本属菌の新奇な感染戦略を発見するとともに、病原菌の感染に対して植物が示す多層性を示す重厚な抵抗性応答の鍵因子を同定した。さらに、*Colletotrichum* 属には、アーバスキュラー菌根菌が共生しないアブラナ科植物に共生する種が存在することを発見し、*Colletotrichum* 属菌の植物寄生・共生戦略と植物応答の多様性について、新知見を提供した。

Colletotrichum 属病原菌 (炭疽病菌) の新規侵入戦略に関する研究

炭疽病菌は、胞子発芽管の先端にメラニン化したドーム状の付着器を形成し、その直下の宿主植物細胞に侵入する。このメラニン化した付着器形成は、植物細胞への侵入および病原性の発揮に必須であることが付着器形成能を欠損した菌変異体の解析などから明らかになっており、実際に、メラニン合成をターゲットとした農薬も実農業の場面で効果的に使用されている。一方で、演者は、シロイヌナズナに本来感染できない炭疽病菌 (クワ炭疽病菌) が、アブラナ科植物に特徴的な抗菌物質グルコシノレート合成が低下したシロイヌナズナ *pen2* 変異体では、メラニン化した付着器を介した侵入様式ではなく Hyphal Tip-based Entry (HTE) と名付けた付着器を形成しない侵入様式によって、高頻度で侵入することを見出した (図 1)。さらなる解析により、通常ではメラニン化した付着形成に必要な菌の MAPK カスケードによって抑制されていることが明らかになった。さら

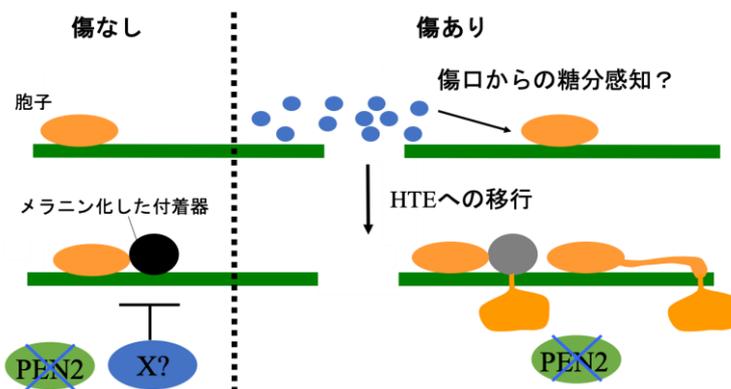


図1. 炭疽病菌の新規侵入戦略

通常は、不適応型炭疽病菌はメラニン化した付着器を形成するものの抗菌物質グルコシノレート合成が低下したシロイヌナズナの *pen2* 変異体に侵入できない。一方で傷口付近では HTE へと移行して侵入菌糸を形成する。同様の現象は、グルコースなどの糖分を加えた場合にも認められることから、炭疽病菌は傷口から漏れ出る糖分などを感知することで、侵入戦略を選択していることが示唆される。

に、シロイヌナズナの傷口周辺の無傷な表皮細胞への侵入の際に、HTE が優先的に選択されることが明らかになった²⁾。この事実は、グルコースなどの糖分添加時に HTE が特に顕著に観察されることとも一致する。以上から、本知見は、炭疽病菌が植物の状態をおそらく傷口から漏出する糖分などを通じて感知して、宿主環境に適した侵入様式を選択すること、すなわち本菌の感染戦略の可塑性の一端を明らかにした研究であると考えている。

Colletotrichum 属病原菌（炭疽病菌）に対する非宿主抵抗性に関する研究

植物は、別の植物種に感染する病原菌に対して強固な抵抗性（非宿主抵抗性）を示す結果、病原菌の侵入を阻止する。演者は、シロイヌナズナの炭疽病菌に対する非宿主抵抗性に必要な植物遺伝子の探索を行ったところ、侵入阻止型の非宿主抵抗性に不可欠なタンパク質リン酸化酵素（EDR1）を同定した。次に、絶対寄生菌であるうどんこ病菌および炭疽病菌に対する侵入阻止型の抵抗性に必要な遺伝子群との関連性を遺伝学的に調査したところ、EDR1 は既存の経路とは独立した新規経路に属することが明らかになった³⁾。さらに、野生型シロイヌナズナと *edr1* 変異体間でのトランスクリプトーム解析を行ったところ、EDR1 が抗菌タンパク質の一種であるディフェンシンの発現をジャスモン酸シグナルに関与する MYC2 を介して制御していることを発見した。一方で、うどんこ病菌に対する侵入阻止型の抵抗性に EDR1 は関与していなかった。以上、植物は病原菌の感染戦略に依存することなく発動する抵抗性経路を活用して病原菌の侵入を阻止しようとするとともに、個々の病原菌の感染戦略に適した仕組みを発達させてきたことが伺えた。

次に、非病原菌が傷等を介してシロイヌナズナ表皮細胞に侵入すると、菌の蔓延を防ぐ細胞死を伴う第2段階の抵抗性応答が発動されること、この抵抗性にはグルタチオンとトリプトファン由来の抗菌二次代謝産物が重要であることを明らかにした(図2)⁴⁾。さらに、グルタチオンとトリプトファン由来の二次代謝産物は非病原菌に対する抵抗性だけではなく、適応型の病原菌に対して植物が抵抗性遺伝子を用いて発動する抵抗性にも必要であることが明らかになった。以上の成果は、シロイヌナズナがグルタチオンとアブラナ科に特異的なトリプトファン由来の抗菌二次代謝産物を活用することで、細胞死を伴う強力な抵抗性を制御していることを示唆するものである。

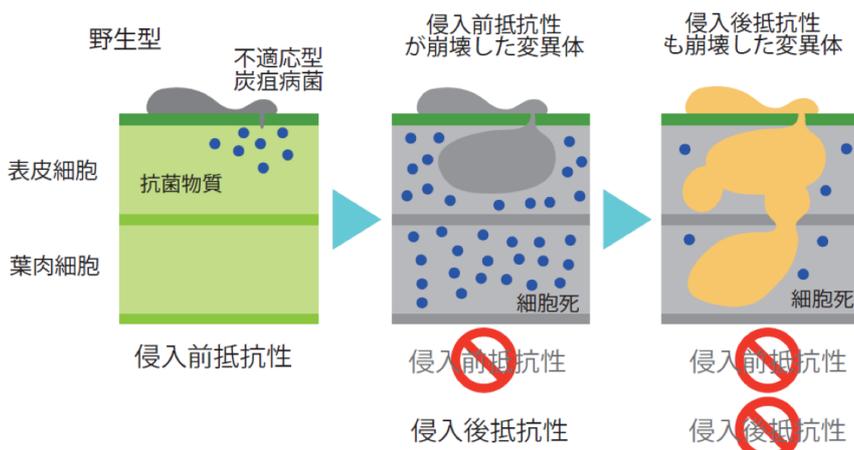


図2. 植物の不適應型炭疽病菌に対する2層からなる植物の非宿主抵抗性

Colletotrichum 属共生菌に関する研究

70-80 パーセント以上の地上の植物種に共生すると考えられているアーバスキュラー菌根菌は、リン、ミネラル、水などを植物に供給することによって、陸上植物の進化と繁栄に貢献してきた。しかし、菌根菌はアブラナ科植物をはじめとする一部の植物には共生しないことが知られており、重要な共生菌を欠いて特殊な根構造も持たないアブラナ科植物が自然界の様々なストレス環境下で適応できた理由については大きな謎であった⁵⁾。演者は、健康な植物の内部に病気を引き起こすことなく感染する内生菌（エンドファイト）の感染戦略に興味を持って研究を行った。その結果、野外のシロイヌナズナ集団と広く相互作用する糸状菌 *Colletotrichum tofieldiae* (*Ct*)がシロイヌナズナをはじめとするアブラナ科植物の根に病気を引き起こすことなく感染することを発見した。さらに、リン欠乏条件下では、*Ct* が植物にリンを供給することを、放射性同位体 ³³P をトレーサーとして用いた実験系によって証明した。興味深いことに、*Ct* によるリン供給は、リンが十分存在する条

件ではほとんど認められなかったことから、*Ct* によるリン栄養の輸送は環境のリン栄養量に依存していることが考えられた。さらに、リン栄養の輸送に強く相関する形で、*Ct* はリン欠乏条件でシロイヌナズナをはじめとするアブラナ科植物の植物生長を著しく促した (図 3) ⁶⁾。この結果は、アブラナ科植物が菌根菌の代わりに *Ct* との共生関係を獲得したことを世界で初めて示したものであり、アブラナ科植物の糸状菌共生を介した適応進化の一端を明らかにした。

さらに、*Ct* 共生シロイヌナズナのトランスクリプトーム解析によって、共生成立時の遺伝子発現様式を解析し、リン欠乏条件下では、*Ct* 感染によ



図3. シロイヌナズナと共生する *Colletotrichum tofieldiae* (*Ct*)
Ct は、シロイヌナズナや他のアブラナ科植物の根に感染し、リン欠乏条件においては植物の第2の根として働くことで、リンを供給し、植物生長を促す。

って抵抗性関連遺伝子の発現が抑制されるとともに、植物生育に関与する遺伝子の発現が誘導されることを見出した。一方、富リン条件下では、近縁の病原菌を接種した場合と同様に抵抗性関連遺伝子の発現が誘導させることを確認した ⁷⁾。興味深いことに、植物の防御関連遺伝子の中には上述のトリプトファン由来の二次代謝産物の合成酵素や制御因子をコードする遺伝子群が多く含まれていた。以上の研究から、アブラナ科植物が *Ct* に対してリン栄養依存的な受容または防御応答を発揮することを実証した。

おわりに

本研究を通じて、*Colletotrichum* 属菌の寄生・共生戦略とそれに対する植物応答の多様性について、新知見を提供するとともに、作物生産に深くかかわる病原菌の制御、有用微生物の利用に向けての基盤情報を提供した。一方で、現時点では植物感染糸状菌の寄生型や共生型の感染戦略を決定する重要因子の情報は明らかではない。今後、感染戦略を規定する重要因子の作用機作が明らかになることで、有用微生物も潜在的に有する寄生性を的確に抑制することも可能となることが期待される。今後は、同一環境・宿主条件下で寄生型から共生型と幅広い感染戦略を有する *Colletotrichum* 属菌のリソースを有している優位性を活かして、植物感染糸状菌の感染戦略を規定する重要因子の同定およびその機能を明らかにしていきたい。さらには、特定の微生物の感染戦略は、宿主植物との相互作用だけではなく、他の土壌・根圏微生物叢との相互作用によっても影響を受ける。今後は、有用微生物の感染戦略に根圏・微生物叢が与える影響などにも注視していく必要がある。

謝辞

本賞の受賞にあたっては、日本植物病理学会から推薦を賜りました。柘植尚志会長をはじめ関係の皆様は厚く御礼を申し上げます。本講演で紹介した研究は、京都大学農学研究科植物病理学研究室、ドイツマックスプランク植物育種学研究所、および、奈良先端科学技術大学院大学植物免疫学研究室で行われたものです。京都大学の高野義孝教授・奥野哲郎教授 (現龍谷大学)・三瀬和之准教授・海道真典助教、マックスプランク研究所の Paul Schulze-Lefert 教授、フランス国立農学研究所の Richard O'Connell 博士ならびに奈良先端科学技術大学院大学の西條雄介准教授をはじめとして、多くの方々のご指導・ご協力を賜りました。心より感謝申し上げます。

引用文献

1. Kubo Y, Takano Y (2013) Dynamics of infection-related morphogenesis and pathogenesis in *Colletotrichum orbiculare*. *J. Gen. Plant Pathol* 79:233-242.
2. Hiruma K, Onozawa-Komori M, Takahashi F, Asakura M, Bednarek P, Okuno T, Schulze-Lefert P, Takano, Y (2010). Entry mode-dependent function of an indole glucosinolate pathway in Arabidopsis for nonhost resistance against anthracnose pathogens. *Plant Cell* 22, 2429-2443.
3. Hiruma K, Nishiuchi T, Kato T, Bednarek P, Okuno T, Schulze-Lefert P and Takano Y (2011). Arabidopsis ENHANCED DISEASE RESISTANCE1 is required for pathogen-induced expression of plant defensins in nonhost resistance, and acts through interference of MYC2-mediated repressor function. *Plant J* 67, 980-992.
4. Hiruma K, Fukunaga S, Bednarek P, Pislewska-Bednarek M, Watanabe S, Narusaka Y, Shirasu K, Takano Y: Glutathione and tryptophan metabolism are required for Arabidopsis immunity during the hypersensitive response to hemibiotrophs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013, 110:9589-9594.
5. Bonfante P, Genre A: Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat Commun* 2010, 1:48.
6. Hiruma K, Gerlach N, Sacristan S, Nakano RT, Hacquard S, Kracher B, Neumann U, Ramirez D, Bucher M, O'Connell RJ, et al.: Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status dependent. *Cell* 2016, 165:464-474.
7. Hacquard S, Kracher B, Hiruma K, Munch PC, Garrido-Oter R, Thon MR, Weimann A, Damm U, Dallery JF, Hainaut M, et al.: Survival trade-offs in plant roots during colonization by closely related beneficial and pathogenic fungi. *Nat Commun* 2016, 7:11362.