

植物病原糸状菌の寄生性分化・ホストジャンプ機構に関する研究

井上 喜博（京都大学大学院農学研究科）

inoue.yoshihiro.6m@kyoto-u.ac.jp

はじめに

植物病原微生物によって引き起こされる病害は、安定的な作物・食糧生産の脅威の一つとなっている。植物病害の大部分は植物病原性糸状菌によって引き起こされるが、植物とその病原菌の間には特異性（宿主特異性）が広く認められ、多くの病原菌は特定の宿主植物のみに病原性を示す系統に寄生性分化している。演者はこれまでに、いもち病菌や炭疽病菌を用いて、植物病原糸状菌における植物属レベルでの宿主特異性決定機構の遺伝的・分子的基盤を解明するとともに、新規病原体であるコムギいもち病菌のフィールドにおける創出機構を明らかにし、植物病原糸状菌の寄生性分化および宿主適応進化に関する新たな知見を提供した。

いもち病菌の寄生性分化・ホストジャンプ機構の解析

いもち病菌 *Pyricularia oryzae* は、栽培植物を中心に様々なイネ科植物に感染し、いもち病を引き起こす植物病原糸状菌の一種である。本菌は種としての宿主範囲は広いものの、個々の系統について見てみると、*Oryza* 属植物に寄生するイネいもち病菌群、*Setaria* 属植物に寄生するアワいもち病菌群といった具合に、植物属に対する寄生性を異にする菌群に分化している¹⁾。これら菌群の中には、1980年代にブラジルで突如出現したコムギいもち病菌のように、近年新たに分化したと考えられる菌群も存在する。本研究ではコムギいもち病菌（コムギ菌）に着目し、*P. oryzae* における植物属レベルでの寄生性分化機構および新菌群分化機構の解明を試みた。まず、コムギ菌とコムギに感染できないエンバクいもち病菌（エンバク菌）との比較遺伝・ゲノム解析および遺伝子導入・破壊実験を実施した結果、エンバク菌が保有する *PWT3* および *PWT4* 遺伝子と、それぞれを特異的に認識するコムギの抵抗性遺伝子 *Rwt3* および *Rwt4* との相互作用によって、いもち病菌とコムギの間の親和性/非親和性が決定されることを明らかにした²⁾。すなわち、宿主側の抵抗性遺伝子による菌側の遺伝子（非病原力遺伝子と呼ばれる）の認識および抵抗性誘導が、宿主特異性の障壁として機能していることを示した（図1）。

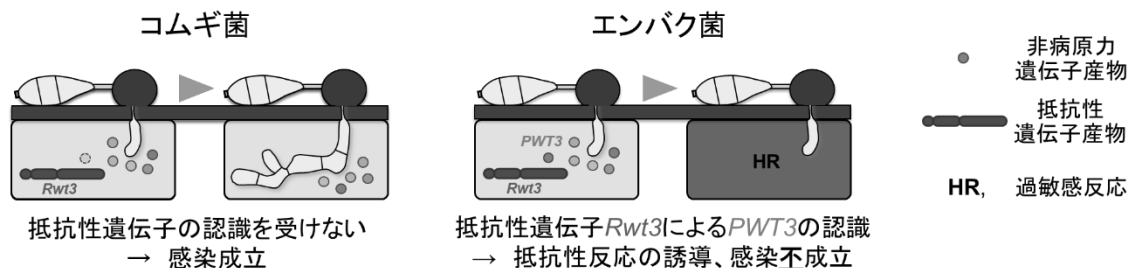


図1. 抵抗性遺伝子-非病原力遺伝子間相互作用によるコムギ-いもち病菌間の親和性/非親和性決定機構

さらに、様々な宿主から採集されたいもち病菌系統の *PWT3* および *PWT4* 遺伝子型を調査した結果、コムギ菌特異的に *PWT3* 遺伝子に多様な機能欠失変異が存在することが判明した (図2)。以上の結果より、*PWT3* の機能喪失によって *Rwt3* による認識を回避することで、コムギへホストジャンプした「コムギいもち病菌」が創出されたことが示唆された。

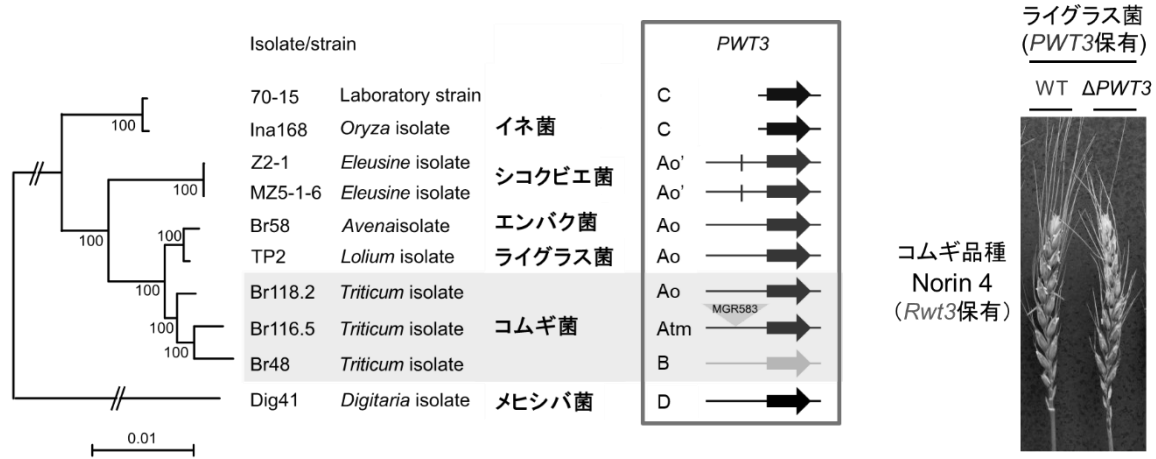


図2. コムギ菌 lineage 特異的な *PWT3* 変異 (左) とライグラス菌 *PWT3* 破壊株のコムギへの病原性獲得 (右)

コムギいもち病菌の病原性因子とそれを認識する抵抗性遺伝子の発見

コムギいもち病は1980年代にブラジルで初めて出現して以降、南米のみでのコムギ病害として知られていたが、近年、アジアやアフリカでもその被害が確認されるなど、世界的にコムギ生産の脅威となりつつある³⁾。コムギのいもち病抵抗性育種に向けて、約600のコムギ在来品種を対象にいもち病抵抗性コムギ系統の探索を行ったところ、約20のいもち病抵抗性系統を見出した。抵抗性の遺伝解析およびアレル分析を行った結果、これらはいずれも同一の抵抗性遺伝子を保有することが判明し、これを *Rmg8* と命名した^{4,5)}。*Rmg8* は様々なコムギいもち病菌株に対して有効であった一方、その抵抗性はいもち病菌の病原性因子 *PWT4* により抑制されること、またその抑制に対抗する形で、コムギが倍数性進化の過程で *PWT4* を認識する抵抗性遺伝子 *Rwt4* を獲得したことも明らかとなった^{6,7,8)}。

さらに、コムギいもち病菌の宿主適応機構を理解すべく、コムギに感染できないイネいもち病菌 (イネ菌) とコムギ菌との交配雑種集団を用いた解析より、コムギ菌のコムギ感染に必須な病原性因子として *ACE1* 二次代謝産物クラスター遺伝子群を同定した⁹⁾。コムギ菌において *ACE1* を欠損させると、コムギへの病原性および表皮細胞への角皮侵入成功率が劇的に低下したことから、本クラスター由来の二次代謝産物を用いてコムギ菌はコムギの侵入阻止型抵抗性を抑制し、効率的なコムギへの感染を成立させていることが示唆された。他方、イネにおいては、*ACE1* (クラスター由来二次代謝産物) を認識する抵抗性遺伝子 *Pi33* が知られている¹⁰⁾。コムギ菌の *ACE1* ホモログをイネ菌に導入するとイネの *Pi33* により認識を受けること、また、コムギ菌が *ACE1* を欠損するとコムギへの病原性が劇的に低下することから、イネの *Pi33* をコムギに導入すれば、持続性の高い (durable な) いもち病抵抗性遺伝子として利用しうることを見出した⁹⁾。今後、*Pi33* の単離とコムギへの導入による効果検証が待たれる。

ウリ類炭疽病菌の宿主特異性成立機構の解析

一般に、植物病原菌は、「エフェクター」と総称される様々なタンパク質を自身から分泌・宿主植物内へと送り込み、その抵抗性機構を攪乱・崩壊させる。このことから、エフェクターが植物病原菌の宿主特異性の成立において重要な役割を担っていると推定されるが、これを遺伝子・分子レベルで証明した報告はほとんどない。そこで演者らは、キュウリ、スイカ、メロンなどのウリ科作物を宿主とするウリ類炭疽病菌 (*C. orbiculare*) を対象に、宿主特異性を決定するエフェクターの同定および宿主特異性成立機構の解明を試みた。ウリ類炭疽病菌 5 菌株について感染場面での RNA シークエンス解析を行い、どの株においてもキュウリへの感染場面でその発現が顕著に誘導されるエフェクター様遺伝子を選抜し、網羅的な標的破壊解析を行った。選抜した 27 遺伝子についてそれぞれ標的破壊株を作出した結果、4 つの遺伝子の破壊株において、野生株と比較して、キュウリに対する病原性の明確な低下が見出され、これら遺伝子を *Effector Proteins for Cucurbit infection (EPC)1*、*EPC2*、*EPC3*、および *EPC4* と命名した¹¹⁾。さらに 4 種の遺伝子をすべて破壊した 4 重遺伝子破壊株を作出し解析した結果、4 重遺伝子破壊株はウリ科作物であるキュウリおよびメロンに対する病原性をほぼ失っており、これら 4 つのエフェクター (*EPC1*~*EPC4*) が本病原菌の病原性において非常に重要な役割を担っていることが明らかとなった (図 3)。ウリ類炭疽病菌はウリ科以外にもナス科に属するベンサミアナタバコにも例外的に感染することが知られている。4 重遺伝子破壊株は、ウリ科作物に対する病原性はほぼ失っているのに対し、ベンサミアナタバコへの病原性は野生株と同等であった (図 3)。これらの結果より、同定した 4 つのエフェクター (*EPC1*~*EPC4*) はウリ類炭疽病菌のウリ科作物に対する宿主特異性成立の鍵因子であることが明らかとなった。またこれら遺伝子は、転写因子 TFV1 によってウリ科植物感染時特異的に発現誘導されることを明らかにし、「宿主特異的エフェクター発現制御機構」の存在を示した^{11,12)}。

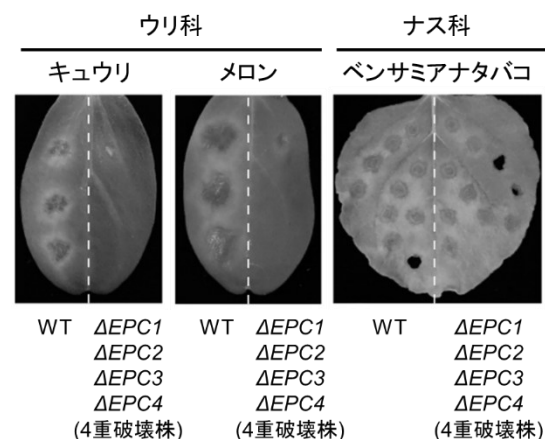


図 3. ウリ類炭疽病菌野生型(WT)および *EPCs* 4 重遺伝子破壊株のウリ科・ナス科植物への病原性

おわりに

本研究を通じて、植物病原糸状菌における寄生性分化および宿主適応進化の機構に関する新たな遺伝学的・疫学的知見を提供するとともに、それぞれの病原菌の宿主適応に関わる重要な病原性エフェクター因子を同定するに至った。これらの結果は、ある病原菌にとっての「非宿主」植物が保有する抵抗性遺伝子が、その「宿主」作物の抵抗性育種における潜在的な遺伝資源となり得ることを示唆しており、今後の耐病性育種や病害防除法の開発への応用が期待される。また、各病原菌の病原性エフェクター因子が標的とする宿主因子を同定・解析を進めることにより、エフェクターによる攻撃を受けないような形に標的因子の改変を行

うことで発病を抑える、新たな病害防除戦略への応用も期待される。

謝辞

本賞の受賞にあたり、日本植物病理学会よりご推薦を賜りました。高橋英樹会長ならびに関係者の皆様に厚く御礼を申し上げます。本講演で紹介した研究を遂行するにあたり、神戸大学の土佐幸雄名誉教授、京都大学の高野義孝教授には終始懇切なご指導を賜り、心より感謝申し上げます。さらに、神戸大学 中屋敷均教授、池田健一准教授、帯広畜産大学 中馬いづみ准教授、京都大学 吉田健太郎教授、Trinh Thi Phuong Vy 博士をはじめとして、多くの方々のご指導・ご協力を賜りました。心より御礼申し上げます。また神戸大学および京都大学の学生諸氏のほか、多くの関係者の皆様にご助言・ご協力をいただきました。ここに感謝の意を表します。

引用文献

1. Kato H., Yamamoto M., Yamaguchi-Ozaki T., Kadouchi H., Iwamoto Y., Nakayashiki H., Tosa Y., Mayama S. and Mori N.: *J. Gen Plant Pathol.* 66:30-47 (2000).
2. Inoue Y., Vy T.T.P., Yoshida K., Asano H., Mitsuoka C., Asuke S., Anh V.L., Cumagun C.J.R., Chuma I., Terauchi R., Kato K., Mitchell T., Valent B., Farman M. and Tosa Y.: *Science* 357:80-83 (2017).
3. Singh P.K., Gahtyari N.C., Roy C., Roy K.K., He X., Tembo B., Xu K., Juliana P., Sonder K., Kabir M.R. and Chawade A.: *Front. Plant Sci.* 12:710707 (2021).
4. Anh V.L., Anh N.T., Tagle A.G., Vy T.T.P., Inoue Y., Takumi S., Chuma I. and Tosa Y.: *Phytopathology* 105:1568-1572 (2015).
5. Wang S., Asuke S., Vy T.T.P., Inoue Y., Chuma I., Win J., Kato K. and Tosa Y.: *Phytopathology* 108:1299-1306 (2018).
6. Anh V.L., Inoue Y., Asuke S., Vy T.T.P., Anh N.T., Wang S., Chuma I. and Tosa Y.: *Mol. Plant Pathol.* 19:1252-1256 (2018).
7. Inoue Y., Vy T.T.P., Tani D. and Tosa Y.: *New Phytol.* 229:488-500 (2021).
8. Inoue Y., Vy T.T.P., Asuke S., Mitsuoka Y. and Tosa Y.: *J. Gen. Plant Pathol.* 87:201-208 (2021).
9. Vy T.T.P., Inoue Y., Asuke S., Chuma I., Nakayashiki H. and Tosa Y.: *Commun. Biol.* 7:1-10 (2024).
10. Bohnert H.U., Fudal I., Dioh W., Tharreau D., Nottoghem J.-L. and Lebrun M.-H.: *Plant Cell* 16: 2499-2513 (2004).
11. Inoue Y., Vy T.T.P., Singkaravanit-Ogawa S., Zhang R., Yamada K., Ogawa T., Ishizuka J., Narusaka Y. and Takano Y.: *New Phytol.* 238:1578-1592 (2023).
12. Zhang R., Inoue Y., Singkaravanit-Ogawa S., Ogawa T., Mise K., Mine A. and Takano, Y.: *New Phytol.* 246:237-250 (2025).