

農薬であるメラニン合成阻害剤に耐性をもつ 新奇的な植物病原糸状菌の発見とその生態解析

所属： 信州大学 学術研究院（農学系）

助成対象者：入枝泰樹

概要

植物病原糸状菌である炭疽病菌やイネいもち病菌は、感染器官である付着器を介して植物に侵入する。本過程では、付着器のメラニン化が必須のステップとされ、植物病理学分野における定説となっている。実際に、メラニン化を阻害する化合物は農薬として活用されている。本研究では付着器を介した植物侵入にメラニン化を必須としないコスモス炭疽病菌 *Colletotrichum fioriniae* を同定することに成功した。同定菌の付着器特性を解析した結果、既報の炭疽病菌とは異なり、多くの付着器関連機能がメラニン化に依存せず維持されおり、定説を覆す新奇炭疽病菌であることが判明した。本成果は、炭疽病菌の植物侵入過程において、付着器のメラニン化が必ずしも必須ではないことを示している。

abstract

Plant pathogenic fungi such as the anthracnose fungi *Colletotrichum* species and the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* develop appressorium to invade host plants. It has been an established theory in the plant pathology field that an appressorial melanization is essential to penetrate the plant tissue. Indeed, melanization inhibitors were used as agrochemicals to prevent these fungal infection. Surprisingly, we here identified and characterized cosmos anthracnose fungus *Colletotrichum fioriniae* capable of invading

plants via nonmelanized appressorium. We also found that many appressorium-associated infection-related functions of this pathogen did not depend on the melanization of the appressorium. Collectively, we demonstrated that appressorial melanization is not always necessary for plant invasion by *Colletotrichum* fungi.

研究内容

【背景】

炭疽病菌（*Colletotrichum* 属菌）やイネいもち病菌は付着器と呼ばれるドーム型の特殊な感染器官を形成し、付着器内部の膨圧の高まりを利用して植物細胞に侵入後、農作物に甚大な感染被害を引き起こす植物病原糸状菌である（Cannon *et al.*, 2012）。本過程では付着器のメラニン化が膨圧の発生に寄与するとされ、メラニン合成阻害剤がこれら病原糸状菌に対する有効性の高い農薬として実際に活用されている。すなわち、メラニン化付着器を介した植物侵入様式における耐性菌が出現しない限り、本属菌に対するメラニン合成阻害剤の有効性は保証されと考えられる。多くの関連する先行研究も炭疽病菌の付着器を介した植物侵入にメラニン化が必須の条件であることを強く示しており、当該研究分野における定説となっている。

【目的】

興味深いことに、トウモロコシ炭疽病菌 *Colletotrichum glaminicola* における付着器内部の膨圧発生にメラニン化が必要ないという報告がある（Ludwig *et al.*, 2014）。しかし、そのメラニン合成欠損株は正常な膨圧を付着器内部に発生してはいるものの、やはり植物細胞への侵入能は欠損しており、当該菌のメラニン化していない付着器では細胞壁剛性（細胞壁分解酵素に対する耐性）が低下していることが示されている（Ludwig *et al.*, 2014）。このトウモロコシ炭疽病菌の報告例は、植物侵入に付着器のメラニン化が必須であるという定説を支持する一方で、付着器内部の膨圧発生にメラニン化が必要ないという点においてこれまでの報告と異なっている。つまり、炭疽病菌の種類によって、付着器のメラニン化が植物侵入に果たす役割が異なる可能性が考えられ、これまでの定説についても再検証する必要性が浮上した。

【結果】

そのような状況下で、申請者は、これまでの定説を覆し得る炭疽病菌株を発見した。コスモスより分離されたコスモス炭疽病菌 *Colletotrichum fioriniae* は、植物上で典型的な付着器形成とメラニン化を示す。しかし、他の炭疽病菌がメラニン合成阻害剤の影響下で宿主植物への感染能を失うなか、本菌は宿主コスモス（子葉および花卉）への感染能をほぼ維持していた。このコスモス炭疽病菌の病原性試験結果は大変興味深く、植物病理学の教科書に記載されている「病原糸状菌（炭疽病菌やイネいもち病菌）の付着器を介した宿主植物侵入がメラニン化に依存する」というこれまでの定説に従わないものであった。

そこで、本菌の植物侵入過程における付着器関連機能を、農薬（カルプロパミドおよびピロキロン、ともに作用点が異なる）によるメラニン化阻害の有無により解析した。その結果、メラニン化を阻害された付着器における内部膨圧と細胞壁剛性のどちらもほぼ維持されており、さらに植物への侵入能も阻害されていなかった。農薬を用いたメラニン化阻害実験だけでは、農薬の効果が不十分である可能性を完全に除去できない。そのため、プロトプラスト-PEG法を用いたコスモス炭疽病菌の形質転換技術を新たに確立し、染色体の相同組換えによりメラニン生合成関連遺伝子 *SCD1* を破壊した $\Delta scd1$ 変異体（アルビノ変異体）を作出した。その結果、コスモス炭疽病菌のアルビノ変異体では、ドーム型の付着器の形成が確認されたが、メラニン化は全く起こらなかった。このアルビノ変異体を用いて、付着器の機能を解析した結果、農薬によるメラニン化阻害実験と同様に、アルビノ変異体の非メラニン化付着器における内部膨圧と細胞壁剛性のどちらもほぼ維持されていた。さらに、アルビノ変異体における植物への侵入能も確認された。

以上より、メラニン化に依存しない従来定説を覆す炭疽病菌としてコスモス炭疽病菌を新規に同定した。

【今後】

現在、コスモス炭疽病菌の他にも非メラニン化付着器から植物に侵入する炭疽病菌の候補株（サクラ炭疽病菌 *Colletotrichum nymphaeae*）を同定している。今後、さらに多くの炭疽病菌株の情報を収集することで、炭疽病菌の付着器を介した植物侵入とメラニン化の役割に関する新しい知見を得ることを目指す。コスモス炭疽病菌のように既存の農薬の効かない病原菌が存在することを、学会等を通じて関連分野内に既に発表しているが、今後得られる成果も統合した論文を作成し、広く発信することで既存の農薬に依存した過度の

安心感に対して警鐘を鳴らす役割を継続して果たす。

引用文献

- Cannon, P. F., Damm, U., Johnston, P. R., and Weir, B. S. (2012) *Colletotrichum* – current status and future directions. *Stud. Mycol.* 73: 181-213.
- Ludwig, N., Löhrer, M., Hempel, M., Mathea, S., Schliebner, I., Menzel, M., Kiesow, A., Schaffrath, U., Deising, H. B., and Horbach, R. (2014) Melanin is not required for turgor generation but enhance cell-wall rigidity in appressoria of corn pathogen *Collectotrichum graminicola*. *Mol. Plant-Microbe. Interact.* 4: 315-327.

本助成に関わる成果物

[論文発表]

該当なし

[口頭発表]

工藤健央，武末和穂，入枝泰樹．付着器のメラニン化に依存せず植物に侵入できる炭疽病菌の特性解析．令和3年度日本植物病理学会大会．2021年3月

*** 学生優秀発表賞を受賞**

[ポスター発表]

工藤健央，武末和穂，入枝泰樹．メラニン化に依存せず付着器から植物に侵入できるコスモス炭疽病菌の特性解析．令和2年度日本植物病理学会関東部会．2020年9月

*** 学生優秀発表賞を受賞**

[その他]

該当なし