

平成 30 年 5 月 15 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18648

研究課題名(和文)植物における色素体の動態と病原菌応答に関する研究

研究課題名(英文)Studies on Colletotrichum-induced dynamic response of plant plastids

研究代表者

入枝 泰樹(Irieda, Hiroki)

信州大学・学術研究院農学系・助教

研究者番号：00749244

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：炭疽病菌接種後のシロイヌナズナ表皮細胞表層側への色素体出現率は野生型植物 Col-0よりpen2変異体で高く、本現象がPEN2関連免疫より下層で起こることが示唆された。また、適応型菌(アブラナ科炭疽病菌)より不適応型菌(クワ炭疽病菌、ウリ類炭疽病菌)接種時に色素体応答は強く、非宿主抵抗性に関与する可能性がある。

炭疽病菌の侵入菌糸形成不全株は色素体応答を誘導するが、貫穿糸形成不全株は全く誘導しなかった。また、炭疽病菌の侵入点に形成されるパピラはCol-0とpen2の両方で同程度であった。以上より、炭疽病菌の侵入行動ではなく侵入に付随する行為を植物が認識して本現象を誘導すると示唆された。

研究成果の概要(英文)：In Arabidopsis, the inoculation of Colletotrichum fungi induces plastids at the epidermal surface. The frequency of plastid response was higher in pen2 mutant than that in wild-type Col-0, suggesting that the plastid response tends to occur when the PEN2-mediated immunity is compromised. Non-adapted fungi, *C. tropicale* and *C. orbiculare*, induced plastid response more frequently compared to the adapted one, *C. higginsianum*. I speculate a potential involvement of this phenomenon in the nonhost resistance of Arabidopsis against Colletotrichum.

The penetration-deficient mutants of Colletotrichum did not induce plastid response. By contrast, mutants which can penetrate but cannot form invasive hyphae sufficiently induced plastid response. On the other hand, papilla formation at the penetration site in Col-0 and pen2 plants was similar. These results suggest that Arabidopsis recognizes fungal behavior associated with penetration, rather than penetration itself, and activate plastid response.

研究分野：植物病理学

キーワード：糸状菌-植物間相互作用 色素体応答

1. 研究開始当初の背景

植物細胞の葉緑体(色素体)は光合成を行う細胞小器官であるが、一方で、植物免疫においても重要な役割を担うことが知られている。しかし、分化、分裂、細胞内移動など、色素体そのものの動態と植物免疫応答との関連性に関する知見はこれまで報告されていない。

植物の色素体は、光合成によりエネルギーを生産する葉緑体や澱粉を貯蔵するアミロプラスト、カロテノイドなどの色素を蓄積する有色体など、植物固有の細胞小器官の総称であり、それぞれが、未分化の原色素体から分化した一形態として植物の様々な生理機能に關与している。原色素体は植物の成長とともに組織や器官の分化に合わせて各色素体へと分化するが、特に、植物の葉には葉緑体が多く存在する。葉の細胞のうち、実際に葉緑体が含まれるのは表皮細胞の内側に存在する葉肉細胞であり、表皮細胞には気孔の孔辺細胞を除くとほとんど葉緑体は存在せず、未分化の色素体が細胞の底面や側面にわずかに観察される程度である(図1)。しか

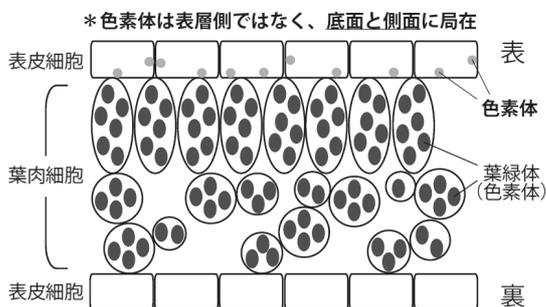


図1. 葉の構造と色素体

し、植物病原系状菌である炭疽病菌を接種したシロイヌナズナ子葉の表皮細胞表層側に、通常は観察されない色素体が観察された報告があり、申請者が追加解析を行ったところ、色素体の出現が確認された(図2)。この現象について、病原菌応答の結果である可能性が示唆されるが、その詳細は不明である。

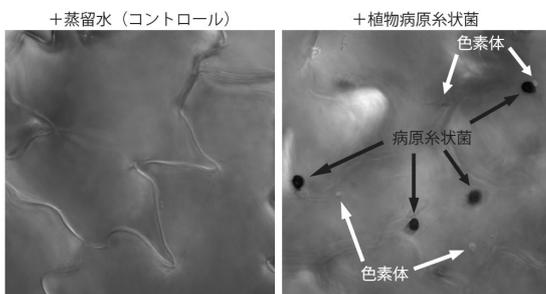


図2. 病原菌接種後のシロイヌナズナ表皮細胞表層における色素体の出現

植物免疫において中心的な役割を果たすサリチル酸や活性酸素種は葉緑体(色素体)において生成される。また、サリチル酸と同様に、植物免疫に重要な植物ホルモンであるジャスモン酸の生合成も葉緑体を起点に始まる。さらに近年、病原体の感染情報が葉緑体に伝わり、免疫転写プログラムを活性化す

るとい葉緑体を経由した新しい免疫制御機構も報告されている。葉緑体が植物免疫において重要な器官であることは明白であるが、これまでの植物免疫に関する葉緑体(色素体)の知見は、葉緑体内部の代謝系に焦点を当てた研究が中心である。

色素体は、10億年以上も前に、独立した生物であった光合成細菌が真核細胞内に取り込まれ、共生することで誕生した細胞小器官である。そのため、独自のゲノムをもつだけでなく、独自の分化、分裂様式によって植物細胞内で複製、増殖する。さらに、ダメージを与えるような過度の光から逃避するために、植物細胞内を移動して位置を変えることが知られている(光定位運動)。これら色素体の動態に関する研究は世界的にも精力的に進められている。しかし、光合成器官としての葉緑体が見せる形態変化や色素体分裂装置の分子機構など、「個」としての色素体の動態を追求する研究が中心であり、植物細胞内における色素体の分化、分裂、細胞内移動と病原菌に対する植物免疫応答の関連性に言及した研究はこれまでにない。

2. 研究の目的

植物の表皮細胞は、病原菌と最初に接触し攻撃を受ける細胞であるが、一方で、病原菌を最初に認識する細胞でもある。炭疽病菌接種後に、シロイヌナズナ表皮細胞表層側において色素体出現する分子機構として、色素体の a) 分化、b) 分裂、c) 細胞内移動の三点が考えられる(図3)。本研究では、病原系状菌

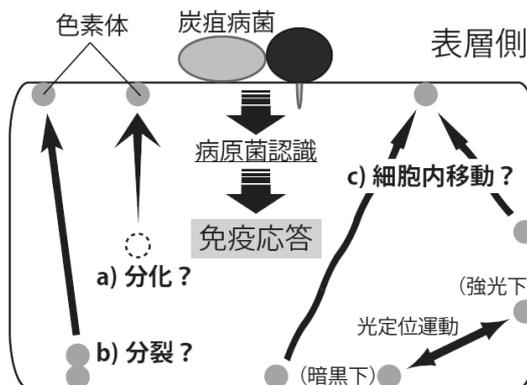


図3. 表皮細胞内における色素体の動態

接種後のシロイヌナズナ表皮細胞表層側に色素体出現する現象に着目し、病原菌応答型の色素体の分化、分裂、細胞内移動等に関する新たな知見を得ることを目指す。分子遺伝学および細胞生物学的解析を用いて、植物免疫における色素体動態の寄与を明らかにする。本研究における主な課題は以下の二点である。

- (1) 病原菌接種後の表皮細胞表層側における色素体の出現は、病原菌応答の一部であるか。
- (2) 色素体の動態(分裂、分化、細胞内移動等)は植物免疫に關与しているか。

これらの課題を解決するために、色素体の分化、分裂、細胞内移動に關与する遺伝子のシロイヌナズナ変異体を用いて、表皮細胞表層側における色素体の動態、および様々な炭疽病菌に対するシロイヌナズナの抵抗性への影響を検証する。そして、「色素体の動態」と「植物免疫」との関係を明らかにし、これまでに報告例のない新規の病原菌応答型植物免疫機構の存在について直接的な証明を目指す。

### 3. 研究の方法

本研究では、シロイヌナズナにおける色素体の動態解析と植物病原菌に対する病害抵抗性解析を並行して行い、色素体を介した新規の病原菌応答型植物免疫の解明を目指す(図4)。

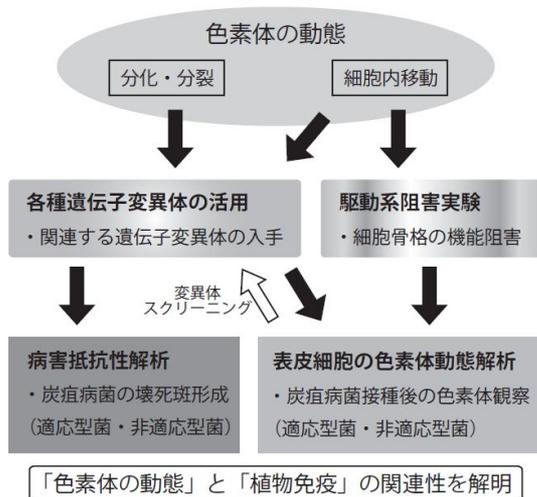


図4. シロイヌナズナを用いた本研究の概要

分子遺伝学的に同定されている、色素体の動態(分裂、分化、細胞内移動)に異常を生じるシロイヌナズナ変異体を用いて、植物病原系状菌(炭疽病菌)に対する抵抗性の評価および表皮細胞表層側における色素体の動態解析を行う。接種源には、シロイヌナズナを宿主および非宿主とする炭疽病菌を用い、比較する。また、色素体の細胞内移動は細胞骨格アクチンに依存することから、アクチン重合阻害実験等も行う。以上のように、色素体の動態解析からのアプローチにより、色素体を介した植物免疫応答の包括的な理解を進める。

### 4. 研究成果

- (1) 炭疽病菌接種により誘導されるシロイヌナズナ表皮細胞での色素体出現に対して、共焦点レーザー顕微鏡によるZ-stack解析を実施したところ、色素体は炭疽病菌の感染器官(付着器)が存在する表皮細胞の表層側へと特異的に出現していることが明らかになった。
- (2) シロイヌナズナ表皮細胞表層側への色素体出現率は、野生型植物より *pen2* 植物で高く、本現象が *PEN2* 経路の下層で機能して

いることが示唆された。

(3) 適応型炭疽病菌(アブラナ科炭疽病菌)より不適応型炭疽病菌(クワ炭疽病菌、ウリ類炭疽病菌、他)接種時の方が色素体出現率が高く、色素体応答は非宿主抵抗性に關与する可能性が浮上した。また同時に、適応型炭疽病菌は本現象をある程度抑制していると推定された。

(4) シロイヌナズナ *pen2* 変異体の色素体応答は、ウリ類炭疽病菌の貫穿系形成不全株に対しては全く誘導されなかったが、本菌の侵入菌系形成不全株に対しては誘導が起こった。この結果より、炭疽病菌の侵入行動もしくはその付随行為を認識して色素体応答が起こることが示唆された(図5)。また、炭疽

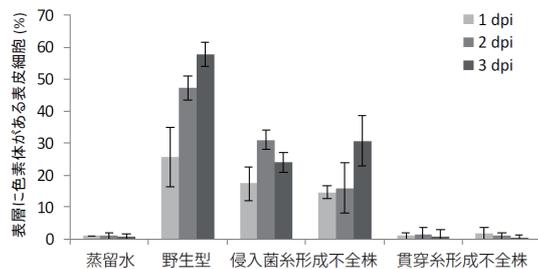


図5. 炭疽病菌の植物侵入と色素体応答

病菌の侵入点において物理的障壁として形成されるパピラ(植物免疫の一種)を解析した結果、シロイヌナズナ野生型と *pen2* 変異体の両方で同程度のパピラが確認された。この結果は色素体応答とパピラ形成に關がないことを示しており、炭疽病菌の侵入行動そのものではなく、付随行為を認識している可能性が高いことが示唆された。

(5) 色素体の動態(分裂、分化、細胞内移動)に關与するシロイヌナズナ遺伝子変異体のうち、色素体分裂関連遺伝子の変異体の適応型炭疽病菌(アブラナ科炭疽病菌)に対する色素体応答と病害抵抗性解析を行った。しかし、色素体出現率に若干の低下がみられたのみで本菌の壊死斑形成にもほとんど影響はみられなかった。このことから、適応型菌に対する病害抵抗性に色素体分裂関連遺伝子はほとんど影響しないことが示唆された。

本研究で取り扱ったシロイヌナズナ表皮細胞色素体の炭疽病菌に対する応答は、これまでに報告例のない新しい植物の生理現象として当該分野にインパクトを与えた。今回、炭疽病菌の感染の可否やシロイヌナズナ免疫関連変異体に着目した解析を実施したが、今後、植物免疫との直接的な関連性が明らかになれば大きなブレイクスルーになると期待される。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計1件)

入枝泰樹，高野義孝，塩見大輔，炭疽病菌  
が誘導するシロイヌナズナ色素体の新規応  
答，第 16 回糸状菌分子生物学コンファレン  
ス，2016

6．研究組織

(1)研究代表者

入枝 泰樹 (IRIEDA, Hiroki)  
信州大学・学術研究院農学系・助教  
研究者番号：00749244