

共生菌が植物と共存するメカニズムを解明！ ～共生菌を用いた病害虫防除技術への応用にも期待～

名古屋大学大学院生命農学研究科の竹本 大吾准教授と榎野 友香大学院生（現：横浜植物防疫所）らの研究グループは、共生菌^{*1}が植物と共存するためのメカニズムの解明に成功しました。

自然界において、植物は多様な微生物の助けを借りて栄養を効率的に吸収したり、病原菌や害虫などを撃退したりしていることが知られています。本研究で用いている植物共生菌（エピクロエ属エンドファイト）は、イネ科牧草／芝草の葉、茎、花などの内部で生育し、植物を外敵から守る様々な物質を生産する糸状菌（いわゆるカビ）です（上図）。このような有用な特性を持つ共生菌を農業において積極的に利用しようという研究が世界的に行われており、エピクロエ属エンドファイトも、牧草や芝草の害虫防除に広く活用されています。

一般に、微生物が植物に侵入しようとする、植物は微生物を敵と認識してその感染を抑制します。一方、植物共生菌は、植物にストレスを与えないように生育パターンを厳密にコントロールし、植物の全身に定着します。本研究では、植物共生菌の2つの遺伝子 *Cdc42* と *RacA* が、共生菌の植物中での生育のコントロールに重要な役割を担っていることを発見しました。*Cdc42* は、共生菌が植物全身に感染するための菌の伸長を制御にする一方で、*RacA* は植物中で共生菌が過剰に増えないためのネットワーク構造の形成を助けており、両遺伝子の働きによって共生菌は植物にストレスを与えない生育パターンを確立していることが示されました。

本研究によって、植物共生菌が植物と共存するために持つメカニズムの一端が明らかとなり、農業生産における植物共生菌利用のさらなる促進が期待されます。

この研究成果は、平成 30 年 1 月 26 日（日本時間）米国の科学専門誌「PLOS Pathogens」に掲載されました。

【ポイント】

- ・ イネ科牧草／芝草に感染する共生菌であるエピクロエ属エンドファイトは、植物を害虫や病原菌から守る性質^{*2}があり、牧畜が盛んな国々で牧草の害虫防除に広く活用されている。
- ・ エンドファイトは、植物と共存するために独特な感染メカニズムを持っている。本研究では、共生菌が植物と共存するために必要な2つの遺伝子の役割を明らかにした。
- ・ 共生菌が植物との共生を維持するメカニズムを明らかにすることで、共生菌のもつ植物を守る特性を農業現場で広く活用する技術の確立が期待される。

【研究背景】

植物の内部に共生する微生物はエンドファイトと総称されている。イネ科植物に感染する共生菌であるエピクロエ属エンドファイト（学名：*Epichloë festucae*）は、植物の葉組織の細胞の隙間で生育し、植物の生育にほとんど影響を与えず感染している（図1）。

植物に感染したエンドファイトは植物細胞内で、耐虫性物質、抗菌性物質などを生産し、植物を外敵から守る活性を持っている。一方、エンドファイトは、植物の種に感染し、次世代の植物に感染することで繁殖しており（前ページ図）、両者は共に利益のある共生関係を築いている。

植物に病原菌が感染

すると、植物組織に病原菌が蔓延することで植物成長に悪影響を及ぼし、場合によっては植物が枯死してしまう。一方で、共生菌であるエンドファイトは植物内で植物と協調して成長することで植物を健全に保ち（図2）、両者は友好的な共存関係を確立している。本研究では、「どのようなメカニズムで共生菌は植物と共存しているのか」という点に注目して解析を行った。

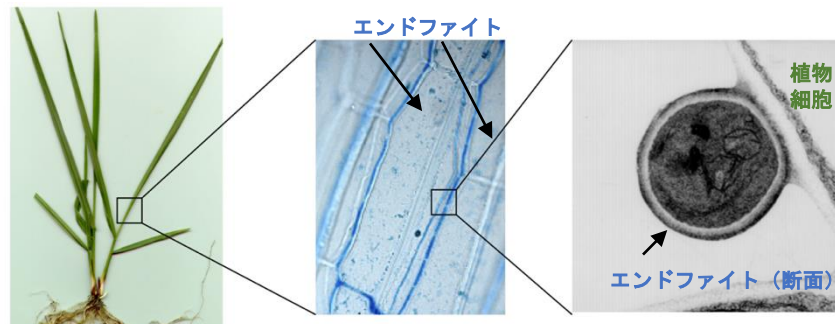


図1: 植物共生菌（エンドファイト）のイネ科植物への感染
中央図の長方形の植物細胞を取り囲んでいる青い糸状の細胞がエンドファイト
右図はエンドファイトの細胞を輪切りにして電子顕微鏡で観察

【研究内容】

本研究では、イネ科牧草であるライグラスに感染するエンドファイトを用いて、「植物と共生するために必要な共生菌の遺伝子」の探索を行った。エンドファイトが植物と共存するためには、1) 植物の生育と同調して生長する、2) 植物にストレスを与えないような生育パターンを保つ、という2つの生育調節機構が必要となる（図2）。

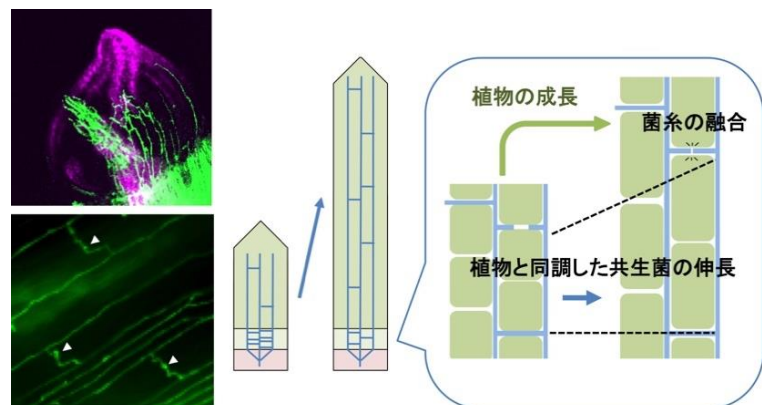


図2: エンドファイトが植物と協調して生育するメカニズム
エンドファイトは植物の生育と同調して菌糸中間を伸ばすことで植物全身への感染を確立する
分岐した菌糸は融合してネットワーク構造を形成することで、植物内の菌糸量を制御していると推定される

本研究の結果、共生菌が植物に安定して感染するために、2つの構造的に極めて類似したタンパク質を作る遺伝子 *Cdc42* と *RacA* (図3) が重要な役割を担っていることが明らかとなった。*Cdc42* と *RacA* は、低分子量 G タンパク質^{*3} と呼ばれる細胞内の活動の ON/OFF を司る分子スイッチとして働くタンパク質である。

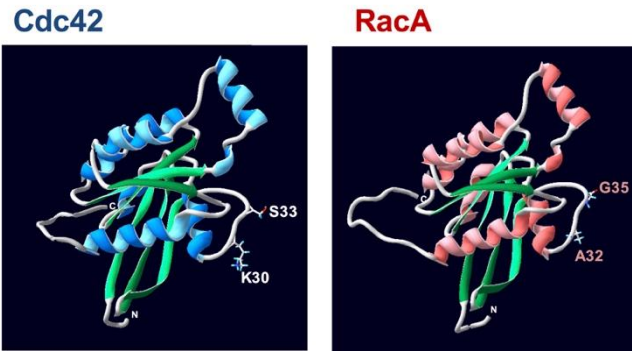


図3: エンドファイト *Cdc42* および *RacA* の推定構造

RacA を失ったエンドファイト (*racA* 欠損株) を植物に感染させたところ、共生菌の枝分かれが増え、菌が植物中でネットワーク構造を形成できなくなった。その結果、植物がストレス

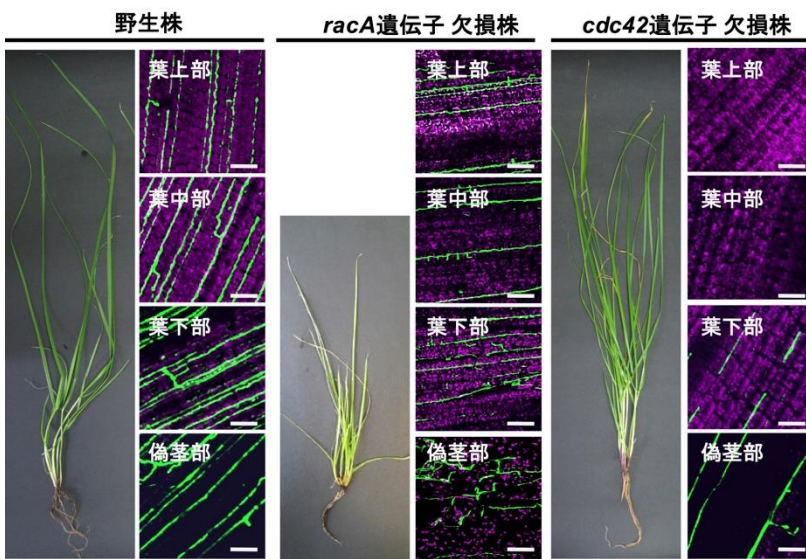


図4: *RacA* あるいは *Cdc42* 遺伝子を失った植物共生菌のイネ科植物への感染。エンドファイトに GFP (緑色蛍光タンパク質) を発現して可視化している紫は植物の葉緑体。エンドファイト野生株は、植物全体で菌糸ネットワークを形成している。*racA* 欠損株は、植物中で異常な枝分かれを作っており、植物がストレスを受けて小さくなっている。*cdc42* 欠損株は植物の下部で菌糸が短くちぎれており、植物全身に感染出来なくなった。

を受けて小さくなり、植物が枯死することもあった(図4)。一方、*cdc42* 欠損株が感染した植物は正常に生育したが、エンドファイトが植物の上部まで感染することが出来なかった。

エンドファイトは植物が成長する際に、菌糸が引っ張られて菌糸中間を伸展させるという独特な方法で植物全身に感染すると考えられており、*cdc42* 欠損株ではこの菌糸伸長が正常に起こらないため菌糸が断片化したと考えられる。

以上の結果から、*Cdc42* と *RacA* は、「植物生育と同調した生長の制御」と「植物にストレスを与えない生育パターンの制御」という、共生菌が植物と共存するために鍵となる2つの生育調節に必要な因子であることが示された。

また、共生菌の細胞内で、*Cdc42* と *RacA* は結合する因子を介して1つの酵素複合体中^{*4}にある可能性が示された(図5)。この複合体は、活性酸素生成酵素を含んでおり、*cdc42* 欠損株では活性酸素生成が増加し、*racA* 欠損株では減少した。このことから、*Cdc42* と *RacA* はお互いに影響を与えあいながら共生菌の感染をコントロールしている可能性が示された。

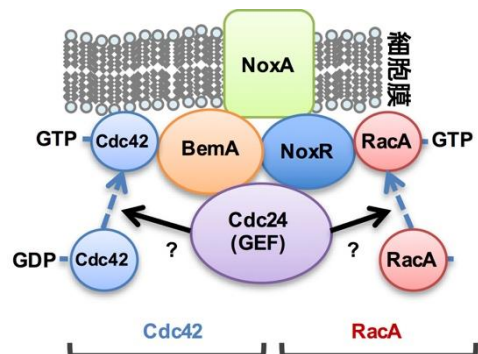


図5: エンドファイト *Cdc42* および *RacA* を含む活性酸素生成酵素の複合体。

【成果の意義】

本研究では、植物共生菌の2つの遺伝子 *Cdc42* と *RacA* が、共生菌の植物中での生育コントロールに重要な役割を担っていることを発見しました。研究対象のエンドファイトは、ペレニアルライグラス、メドウフェスクなど一部の植物種にしか感染できないため、その活用が牧草や芝草などに限られています。本研究では、エンドファイトが植物と共存する基本的なメカニズムが明らかとなりました。今後、様々な植物種に感染する近縁種エンドファイトの探索と合わせて、感染する植物の特異性を決定する機構の解明が進むことで、共生菌をムギ類やイネなどといった重要作物に応用する技術の確立が期待されます。

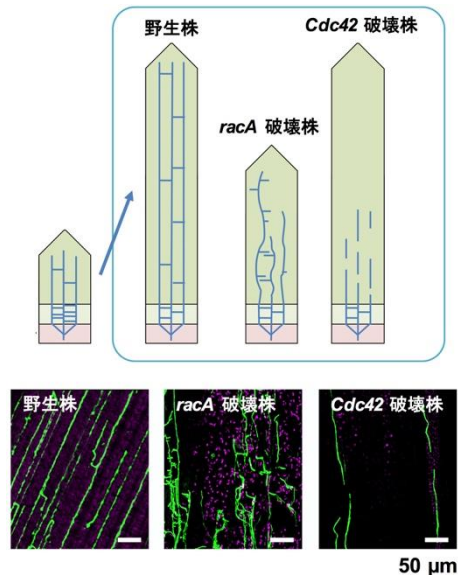


図6: エンドファイト *racA* 破壊株および *cdc42* 破壊株で認められたエンドファイトの共生異常の概略 この結果から、*RacA* が植物内での菌糸ネットワークの形成に、*Cdc42* が植物全体に菌糸を感染させるために必要であることが示された

【用語説明】

*1 共生菌：

植物に悪い影響を及ぼさずに共存する微生物を一般に共生菌と呼ぶ。主な例として、植物の根に感染して植物にリンや窒素などを供給する菌根菌、気体の窒素を固定して供給する根粒菌などが知られている。

*2 植物を害虫や病原菌から守る性質：

本研究で用いているエンドファイトは、植物の地上部組織全体に生息する共生菌で、耐虫性物質（ペラミン、ロリンなど）を産生することで植物の昆虫による食害を抑制する。病原菌の生育を抑制する物質の研究は共同研究により進行中であり、今後、発表予定である。

*3 低分子量 G タンパク質：

ヒトから酵母まで全ての真核生物がもつ低分子量（約 20-25kDa）の GTP（グアノシン三リン酸）に結合するタンパク質の総称。ヒトは 165 種、本研究で用いたエンドファイトは 31 種の低分子量 G タンパク質を持っている。一般に、GTP に結合した活性型と GDP（グアノシン二リン酸）に結合した非活性型、が切り替わることによって細胞内の活動の ON/OFF をすることから、細胞内のスイッチ（分子スイッチ）と呼ばれている。

*4 酵素複合体：

一般に、生体でおこる化学反応を触媒する酵素とその活性をコントロールするタンパク質が結合して存在する状態。複数の酵素が合わさって形成される場合もある。本研究では、細胞膜で活性酸素を生産する酵素である NoxA とその活性をコントロールすると推定される因子（NoxR、BemA、Cdc42、図5）が、*RacA* や *Cdc42* と酵素複合体を形成していることを示唆した。

【論文名】

掲載雑誌：PLOS Pathogens

著者：Kayano, Y., Tanaka, A., and Takemoto, D.

論文タイトル：Two closely related Rho GTPases, Cdc42 and RacA, of the endophytic fungus *Epichloë festucae* have contrasting roles for ROS production and symbiotic infection synchronized with the host plant.

DOI：10.1371/journal.ppat.1006840