

博士学位論文審査報告書

申請者氏名	平岩 (横山) 綾 (ひらいわ (よこやま) あや)
学位の種類	博士 (環境科学)
論文題目	ウリ類炭疽病菌におけるホメオボックス転写制御因子の機能解析
学籍番号	1556005
学歴	平成 25 年 4 月 1 日 滋賀県立大学大学院環境科学研究科 環境動態学専攻博士前期課程入学 平成 27 年 3 月 31 日 同上修了 平成 27 年 4 月 1 日 同上博士後期課程進学 平成 30 年 3 月 31 日 同上単位取得満期退学

論文審査委員会	委員長	滋賀県立大学環境科学研究科	教授	鈴木一実
	委員	滋賀県立大学環境科学研究科	准教授	入江俊一
	委員	滋賀県立大学環境科学研究科	講師	泉津弘佑

論文の内容の要旨

植物に病気を引き起こす病原体は菌類、細菌、ウイルス、線虫など多岐にわたるが、このうち植物病原菌類は植物病害の病原体の約 8 割を占めるといわれている。植物病原菌類の病原性発現機構 (病原菌はどのようにして宿主植物に感染して発病を引き起こすのか) の解明は殺菌剤の新規ターゲットの発見や環境負荷の少ない病害防除技術の開発につながると考えられ、食糧生産性の向上や環境保全に貢献することが期待される。植物病原菌類の病原性発現機構の解析には、病原菌がもつ病原性関連遺伝子の単離および同定が重要である。病原性発現に関与している新規な病原性関連遺伝子が解明できれば、その遺伝子産物の機能を阻害する化合物の選抜といった新しい農薬の創生につながる基礎的な実験系を構築することが可能となる。

炭疽病菌は多くの作物に炭疽病を引き起こす重要な病原菌であり、各種農作物に多大な被害を与えている。この菌は宿主への侵入器官として、分生胞子から伸びた発芽管の先端にドーム型のメラニン化した付着器を形成する。付着器の直下から貫穿糸が伸長してクチクラ層を貫通した後、貫穿糸の先端から侵入菌糸が形成され、植物組織内を蔓延する。その際、炭疽病菌などのヘミバイオトロフィックな病原菌は宿主への侵入初期にバイオトロフィック (共生) 状態の侵入菌糸を形成し、その後、ネクロトロフィック (殺生) 状態に移行して、宿主細胞を破壊し、感染を成立させることが知られている。付着器形成やクチクラ侵入についても未解明の部分が多く残されているが、侵入菌糸のバイオトロフィーからネクロトロフィーへの切り替えについても、とくに近年注目されている解析対象である。

本論文では前述したような植物病原菌の病原性発現機構の解明を目的として、クチクラ侵入する植物病原菌のモデルであるウリ類炭疽病菌 (*Colletotrichum orbiculare*) を供試菌とした。本菌を *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation (AtMT) 法によって形質転換したところ、病原性欠損の新規原因遺伝子としてホメオボックス遺伝子が

論文の審査結果

本論文は植物病原菌の病原性発現機構の解明を目的として、植物病原菌のモデルであるウリ類炭疽病菌を AtMT 法によって形質転換し、得られた病原性欠損変異株の原因遺伝子であるホメオボックス遺伝子に注目し、ホメオボックス遺伝子 (*CoHox1* および *CoHox3*) の機能解析を行ったものである。

本論文では相同組み換えによって *CoHox1* および *CoHox3* 遺伝子破壊株を作出し、分生胞子の形態分化、宿主葉での病原性などの表現型の解析を実施した。その結果、*CoHox1* および *CoHox3* がともにウリ類炭疽病菌の宿主植物への感染や病原性発現に重要な因子であること、すなわち *CoHox1* および *CoHox3* 遺伝子が重要な病原性関連遺伝子であることを明らかにした。さらに、*CoHox1* 遺伝子破壊株では宿主葉組織内への侵入は認められるものの宿主細胞内での侵入菌糸の進展が観察されなかった。しかも、それにもかかわらず、長期間葉組織内で生存していることが明らかとなった。これらの結果から、*CoHox1* 遺伝子破壊株は侵入能力を保持しているが、宿主内での侵入菌糸のバイオトロフィーからネクロトロフィーへの移行に欠損がある可能性が示唆された。一方、*CoHox3* 遺伝子破壊株は付着器形成に異常が認められ、付着器特異的遺伝子の発現が認められなかった。このことから、*CoHox3* 遺伝子破壊株は付着器の形成、とくに付着器の成熟に欠損があると結論付けた。遺伝子破壊株がこのような特徴的な表現型を示す病原性関連遺伝子はこれまでに他の植物病原菌でも報告がなく、本論文で得られた知見は学術的な価値が高いと判断される。

植物病原菌におけるホメオボックス遺伝子の機能解析に関する研究例は少なく、病原性発現における役割あるいは各ホメオボックス遺伝子の機能分化については不明な点が多い。本研究では *CoHox1* 遺伝子および *CoHox3* 遺伝子がウリ類炭疽病菌の重要な病原性関連遺伝子であることを見出した。これらの遺伝子を端緒とすることで、これまで知見が乏しい植物病原菌におけるホメオボックス遺伝子の機能、とくに病原性発現におけるホメオボックス遺伝子の役割が明確になることが期待される。さらに、これらのホメオボックス遺伝子が発現制御する遺伝子群を解析することにより、病原性に関与する遺伝子ネットワークが網羅的に明らかにされる可能性も高い。これらの新しい知見は植物病害における新しい防除技術や新規の殺菌剤の開発を進める上できわめて重要かつ有益な知見を提供すると考えられる。

これらの知見および成果は、以下の論文として発表されている。

Yokoyama A, Izumitsu K, Sumita T, Tanaka C, Irie T, Suzuki K (2018) Homeobox transcription factor *CoHox3* is essential for appressorium formation in the plant pathogenic fungus *Colletotrichum orbiculare*. *Mycoscience* 59: 353–362

Yokoyama A, Izumitsu K, Irie T, Suzuki K (2019) The homeobox transcription factor *CoHox1* is required for the morphogenesis of infection hyphae in host plants and pathogenicity in *Colletotrichum orbiculare*. *Mycoscience* 60: 110–115

小幡善也, 横山 綾, 泉津弘佑, 入江俊一, 鈴木一実 (2019) ウリ類炭疽病菌においてホメオボックス転写制御因子 *CoHox2* は分生胞子形成および剛毛形成を制御する 日本植物病理学会報 85 (印刷中)

以上のことから、審査委員会は本論文が博士 (環境科学) を授与するに値するものと認めた。