

病原菌分泌タンパク質を用いた新規育種法の開発と
病害抵抗性品種の作出

岡山県農林水産総合センター生物科学研究所・特別研究員 中野 真人

■ 目的

青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)は、ナス科作物を中心に200種類以上の植物を加害する植物病原細菌である。青枯病の防除においては病害抵抗性品種が利用されてきたが、遺伝的に同一な抵抗性品種の連続使用により、新たな病原性を獲得した菌株が出現し、甚大な被害を引き起こしている。そのため、青枯病の防除に有効な抵抗性品種の開発が農業現場で強く求められている。

植物は病害抵抗性タンパク質と呼ばれる細胞内受容体により病原菌の非病原力(Avr)エフェクターを感知し、非常に強い免疫応答を誘導する。本研究では、青枯病菌に対する植物の免疫機構を明らかにするために、ナス科のモデル植物であるベンサミアナタバコ(*Nicotiana benthamiana*)を用いて、青枯病菌の新規Avrエフェクターの探索を行うとともに、このエフェクターを認識する抵抗性遺伝子を同定することを目的とした。

■ 方法

アグロバクテリウム法により青枯病菌のエフェクターをベンサミアナタバコ葉で一過的に発現させ、植物の免疫応答が誘導されるかどうかを継時的に解析した。活性酸素種(ROS)の生成は化学発光プローブL-012を用いて検出した。防御関連遺伝子の発現はリアルタイムPCRを用いて比較解析した。

■ 結果および考察

青枯病菌の新規Avrエフェクターを同定するために、ROSの生成を指標としたAvrエフェクターのスクリーニングを実施した。青枯病菌RS1000株が有する約70種類のエフェクターについて調べたところ、ROSの生成を顕著に誘導するエフェクターとしてROI1(ROS inducer 1)を見出した。ROI1エフェクターはサリチル酸情報伝達経路のマーカー遺伝子等の発現量を亢進した。これらの結果から、Avrエフェクターの候補として同定したROI1エフェクターは、ベンサミアナタバコにおいてROSの生成や防御関連遺伝子の発現といった免疫応答を誘導することが明らかになった。

ROI1エフェクターがベンサミアナタバコに認識されるAvrエフェクターかどうかを明らかにするために、青枯病菌RS1000株の $\Delta roi1$ 変異株を作出し、ベンサミアナタバコにおける表現型を観察した。野生株を接種したベンサミアナタバコにおいて萎凋症状は認められなかったが、 $\Delta roi1$ 変異株を接種したベンサミアナタバコでは全ての個体が枯死した。この結果から、ベンサミアナタバコに認識される青枯病菌のAvrエフェクターはROI1であることが明らかになった。

■ 結語

本研究では、ナス科のモデル植物であるベンサミアナタバコにおいて、青枯病菌のAvrエフェクターの探索とその認識機構の解析を行った。植物免疫応答を指標としたAvrエフェクターの網羅的スクリーニングを実施し、免疫応答を顕著に誘導する新規AvrエフェクターとしてROI1を見出した。また、抵抗性遺伝子群のノックダウン植物を用いた解析から、当該エフェクターを特異的に認識する青枯病抵抗性遺伝子を世界で初めて特定した。今後は、本抵抗性遺伝子が病害防除上有用かどうかを検証し、本抵抗性遺伝子を活用した防除方法を構築する予定である。