

## 「植物は策士!? 瞠目の異種間コミュニケーション」

経塚淳子<sup>1</sup>, 澤進一郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東北大学大学院生命科学研究科  
〒980-8577 仙台市青葉区片平 2-1-1

<sup>2</sup> 熊本大学大学院先端科学研究部  
〒860-8555 熊本市中央区黒髪 2 丁目 39 番 1 号

Junko Kyozyuka<sup>1</sup>, Shinichiro Sawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,  
2-1-2 Katahira, Aoba-ku, Sendai, 980-8577, Japan

<sup>2</sup> Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University,  
Kurokami, 2-39-1, Kumamoto, 860-8555, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.12b1.00202

植物として、他の生物に無関心なまま生きているわけではない。細菌、菌類、動物、他の植物など、さまざまな異種と個別の関係を築いている。地球上には多様なエコシステムが形成されているが、どのようなエコシステムにおいても植物はさまざまな生物と相互作用を築き、中心的な役割を果たしている。

植物は 5 億年以上前に陸上に進出した。最初に陸上生活を始めたコケ植物が繁茂したことにより、陸上に動物が成育する環境が整ったと考えられているが、植物の陸上進出では植物と菌との共生が重要であった。その後、シダ植物、裸子植物が出現し、繁栄した。新生代になると裸子植物やシダ植物は衰退し、花をつくる被子植物が爆発的に多様化し繁栄するようになった。昆虫などが被子植物の蜜や果実を利用したことにより、受粉や種子散布の様式は多様化した。植物と動物は相互作用をしながら独自の進化をとげ、現在みられるような多様な植物種とそれらを取りまく生き物達の世界が作り上げられたのである。植物にとって異種は、花粉を運んでくれる「ヘルパー」であり、居候する「やっかいもの」であり、共生する「仲間」であり、感染する「病源」であり、時には「獲物」である。他者との相互作用、すなわち、うまく折り合いをつけて生き抜くために欠かせないのがコミュニケーション能力である。植物が分類群の枠を超えて他種とのあいだで発達させた多様で巧みなコミュニケーションの例はたくさん知られているが、その仕組みが分子レベルで解明された例は少ない。本特集では、植物と他種との巧妙で奇妙で奇抜なコミュニケーションの実際やその分子レベルでの解明への取り組みやその成果について紹介する。

沓掛らの総説では、植物組織内にゴール（虫こぶ）を形成し、そこに籠って植物の栄養を摂取しながら生きるアブラムシに関して、アブラムシが植物の成長プログラムを乗っ取り、都合のいいように植物の形態形成を操り、さらに植物にゴール内の環境維持（すなわち掃除）にも貢献させるという関係のメカニズムを明らかにするための展望を紹介する。

須田の総説では、ハエトリソウと獲物である昆虫との駆け引きの制御について、これまでの研究から最新の知見までを、獲物からの刺激受容から連なる一連の捕虫・消化・吸収の分子メカニズムに着目して紹介する。

ツイと吉田の総説では、寄生植物のコシオガマに注目し、寄生植物の宿主侵入におけるエチレンジグナルの役割について中心的に解説し、寄生植物の吸器の形成と侵入時におこる宿主植物の相互作用についても紹介する。

安田と西條の総説では、病原細菌と植物とのコミュニケーションに着目し、環境に応答して病原性が変化するメカニズムについて紹介する。高湿度の環境条件下では病原菌の植物体内への侵入、植物体内での増殖が促進され、植物は病気にかかりやすくなる。この現象の基盤となっているのは植物と病原菌との水をめぐる攻防であるということが明らかになってきた。そこで、その研究の展開を概説する。

大田と澤の総説では、線虫の植物への感染という多細胞植物-多細胞動物相互作用に関して、研究の歴史や意義、研究の現状、筆者らの研究成果について概説する。

経塚の総説では、植物の陸上進出において重要であったとされている植物と *Arbuscular Mycorrhizae* (AM 菌) との共生について紹介する。種子植物は AM 菌とのコミュニケーションのためにストリゴラクトンを分泌するが、ストリゴラクトンは植物ホルモンとしても作用する。このようなストリゴラクトンの二面的な機能の意義や起源について解説する。

# ゴールで生活するアブラムシの安全快適な住まいづくりと社会生活

沓掛磨也子<sup>1</sup>, 植松圭吾<sup>2</sup>, 深津武馬<sup>1</sup>

<sup>1</sup>産業技術総合研究所

<sup>2</sup>総合研究大学院大学

〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 6

## Secure and comfortable fortress of gall-dwelling aphids and their social life

Mayako Kutsukake<sup>1</sup>, Keigo Uematsu<sup>2</sup>, Takema Fukatsu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

<sup>2</sup>SOKENDAI, The Graduate University for Advanced Studies

1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki, 305-8566, Japan

Keywords: evolution, gall, honeydew, manipulation, social aphid

DOI: 10.24480/bsj-review.12b2.00203

### 1. はじめに

多くの動物は巣の中で生活を営む。最近、ヒトの世界では「巣ごもり生活」が脚光を浴びているが、どんなに籠もろうとしても、まったく外に出ない生活というのは案外難しいのではないだろうか。本稿で紹介するアブラムシ類には、ゴールとよばれる植物組織からなる巣の中で、長期にわたり、究極の巣ごもり生活を実現している種が存在する。長い巣ごもり生活で生じる困難を、アブラムシはどのような方法で解決しているのだろうか。ここでは、昆虫と植物の間で繰り広げられてきた巧妙かつ高度な進化的戦略について紹介する。

### 2. アブラムシのゴールと社会性

ゴールとは、虫こぶ、虫癭（ちゅうえい）ともよばれ、昆虫などにより植物上に形成される特殊な構造物である。ゴールの形態は、「こぶ」のような単純なものから、複雑かつ精巧な形をしたものまで実にさまざま、観察する人の目を楽しませてくれる（図 1A, 図 2）。このようなゴールは、昆虫が植物の特定の部位に物理的または化学的な刺激を与えることにより形成される。刺激を受けた若い植物組織は、肥大化または奇形化し、通常ではけっして現れない形に成長する。一方、昆虫はゴールの内部で植物組織を摂食（または吸汁）しな

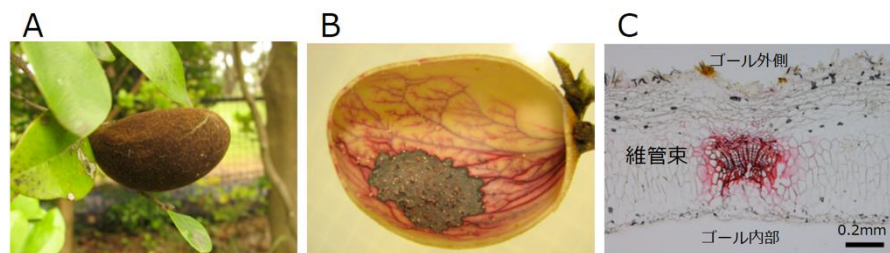


図 1. モンゼンイスアブラムシの閉鎖型ゴール

(A) ゴール外観 (B) サフラニン溶液を吸収したゴール内部の様子 (C) Bの組織切片像 (画像はKutsukake et al. 2019から転用)

から生活する。よって、ゴールは外敵から身を守るための巣であり、また豊富な栄養源である。ゴールの形態はアブラムシの種ごとに異なっているが、同じ種がつくるゴールの形は安定しており再現的である。このことは、ゴール形成がアブラムシ側の何らかの遺伝的因子によって厳密に制御されていることを示している。ゴールが異常な形をした植物組織であることを考えると、アブラムシ由来の因子が、植物の発生プログラムをハイジャックし、自分の都合の良いように植物の形態形成を操作したと考えられる。

このような理由から、ゴールの形態は、植物における昆虫の「延長された表現型」とみなされている (Stern 1995, Inbar et al. 2004)。

アブラムシは地球上に約 5,000 種存在するが、そのうちゴールを形成する種は 10% にも満たないと言われている (Blackman & Eastop 2000, Wool 2005)。一方、アブラムシには、個体間で分業をおこない社会生活を営む種が存在する。そして、一部例外はあるものの、すべての社会性アブラムシが、ある季節になると植物上にゴールをつくることから、ゴール形成と社会性進化には密接な関わりがあると考えられている (Aoki 1987, Foster & Northcott 1994, Stern & Foster 1996, Pike & Foster 2008)。ゴールは外敵から身を守り、エサを供給してくれる大切な巣である一方、ひとたび外敵や病原体に襲われれば全滅する危険がある。そのような危険を避けるため、一部の個体が兵隊に分化し、自己犠牲的にゴールを守っているのである。兵隊の主な仕事は、外敵を攻撃することであるが、それ以外にも、ゴール内で生じる様々な労働に従事する。ここではゴール内での清掃行動に着目する。

### 3. 開放型ゴールにすむアブラムシのゴール清掃とワックス生産

巣ごもり生活での困難の一つに、巣内の衛生環境を維持することが挙げられる。生物は生きて以上、排泄物や不要なゴミを排出するが、それらを適切に処理しなければ、病原菌が発生したり、生活空間が著しく制限されたりして危険にさらされる。衛生環境の維持には、巣の構造も重要である。アブラムシのゴールには、外部に通じる開口部をもつ開放型ゴールと、開口部がまったくない閉鎖型ゴールの 2 種類が存在する。開放型ゴールの開口部は、ゴールの下部 (地面に近い方) にあいており、アブラムシが排泄する甘露や、脱皮殻、死体といったゴミは、この開口部から外に捨てられる。このような仕事はゴール清掃とよばれ、主に兵

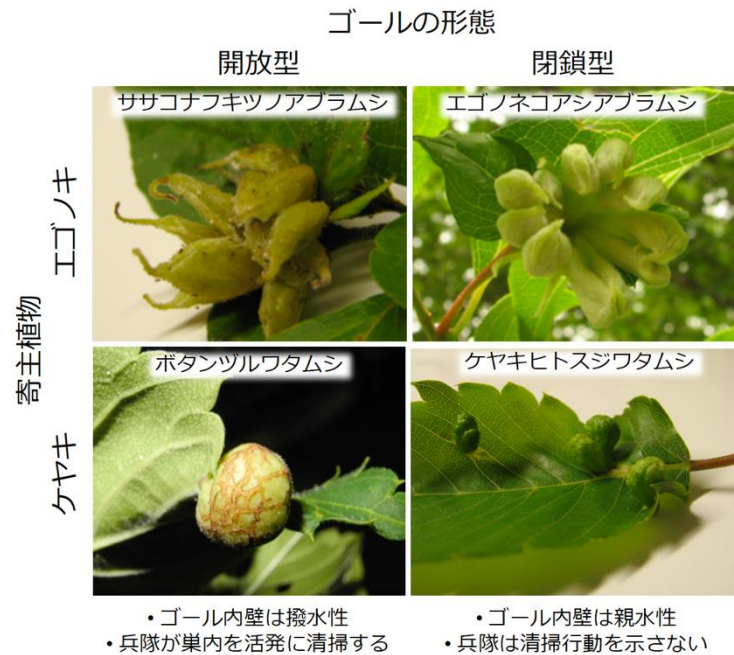


図2. さまざまなアブラムシの開放型/閉鎖型ゴール (画像はKutsukake et al. 2019から転用)

隊によっておこなわれる (Aoki 1980, Aoki & Kurosu 1989, Benton & Foster 1992, Uematsu et al. 2018)。ゴール内の清掃はアブラムシの生存にとって重要である。野外のゴールを枝ごと上下逆向きにして、わざと掃除できないようにしたところ、内部のアブラムシはほとんど死亡してしまった (Benton & Foster 1992)。その死因は、アブラムシ自身が出した甘露であった。甘露はアブラムシの排泄物で、液状でしばしば糖分を高濃度で含み粘性があるため、ゴール内で大量に蓄積すると、アブラムシは付着したり溺れたりして死んでしまう。このような事故を未然に防ぐため、通常ゴール内の甘露は、アブラムシが背板から産生する粉状のワックスに包まれた甘露球として、周りに付着することなくゴール内に存在している (Pike et al. 2002, Uematsu et al. 2018)。これにより、兵隊はトラップされることなく、甘露球を安全かつ効率的に開口部まで運ぶことができるのである。

#### 4. 閉鎖型ゴールの植物組織による甘露の吸収除去の発見

一方、閉鎖型ゴールの場合、有翅のアブラムシがゴールから飛び立つ直前まで開口部が開かないため、最低でも数ヶ月間、種によっては1年以上も外界から完全に隔離されている。いったいどのようにして、アブラムシは蓄積する甘露に溺れることなく、この長期にわたる巣ごもり生活を生き延びているのだろうか。この疑問は長年にわたり謎のままであったが、筆者らの研究により、その答えが明らかになった (Kutsukake et al. 2012)。ここで登場するモンゼニスアブラムシについて紹介したい。本種は常緑樹であるイスノキに完全閉鎖型ゴールを形成する社会性アブラムシで、ゴールは2年以上の期間にわたり、完全に閉鎖している (図 1A) (Kurosu et al. 2009)。ゴール内には数百匹、最大で2,000匹以上のアブラムシが生活している。ところが驚いたことに、ゴールの内部には、多数のアブラムシと大量の粉状ワックスは存在するものの、甘露はどこにも蓄積していなかった。ゴールからアブラムシを取り出してしばらく観察すると、アブラムシは確かに甘露を排出した。このことから、ゴール内の甘露は何らかの方法で処理されていることが示唆された。そこで、ゴール組織が甘露を吸収したのではないかという仮説を立て、これについて検討した。野外のゴールに食紅液を1 mlを注入して、翌日ゴール内を調べたところ、液はまったく残っておらず、ゴール組織が赤く染まっていた。次にサフラニン溶液を用いて同様に実験したところ、ゴール壁が葉脈状に染色された。つまり、注入した溶液はゴール内壁に吸収され、維管束を通じて排出されるしくみが明らかになった (図 1B, C)。続いて、ゴールがショ糖液を吸収するかどうかについても調べた。水の場合は16ゴール中15ゴールで100%の量が吸収されたのに対し、2%ショ糖溶液は10ゴール中8ゴールで90%以上が吸収された。4%ショ糖溶液では10ゴール中6ゴールで35-90%が吸収され、8%ショ糖溶液では11ゴールすべてで40%以下しか吸収されなかった。このことは、ショ糖濃度が上がるとゴール組織による吸収率は減少することを示している。ちなみに、モンゼニスアブラムシの甘露を糖分析したところ、0.5%以下のグルコースが検出された。これは十分にゴールに吸収される濃度であり、また一般的なアブラムシの甘露に比べるときわめて低い濃度であった。このことから、モンゼニスアブラムシは、甘露がゴールに吸収されるように自身の生理状態を調節し、甘露の糖濃度を低く抑えている可能性が考えられた (Kutsukake et al. 2012)。

### 5. アブラムシにおけるゴール吸水機能の獲得の進化

このような閉鎖型ゴールにおける吸水性は、モンゼンイスアブラムシだけでなく、それ以外の種においても見つかった (図 3)。モンゼンイスアブラムシが属するムネアブラムシ族においては、近縁種のイスノフシアブラムシの閉鎖型ゴールも吸水した。また、それ以外の種についても、いずれも甘露が蓄積していない閉鎖型ゴールであることから、同様に吸水していると考えられた。別のグループにおいては、ツノアブラムシ族のエゴノネコアジアブラムシ (第 6 章参照) や、ワタムシ族のケヤキヒトスジワタムシ (第 7 章参照) の閉鎖型ゴールも吸水性を示した (Kutsukake et al. 2012, Uematsu et al. 2018)。以上をまとめると、アブラムシにおける閉鎖型ゴールの吸水性は、少なくとも独立に 3 回進化したと考えられる (図 3) (Kutsukake et al. 2019)。

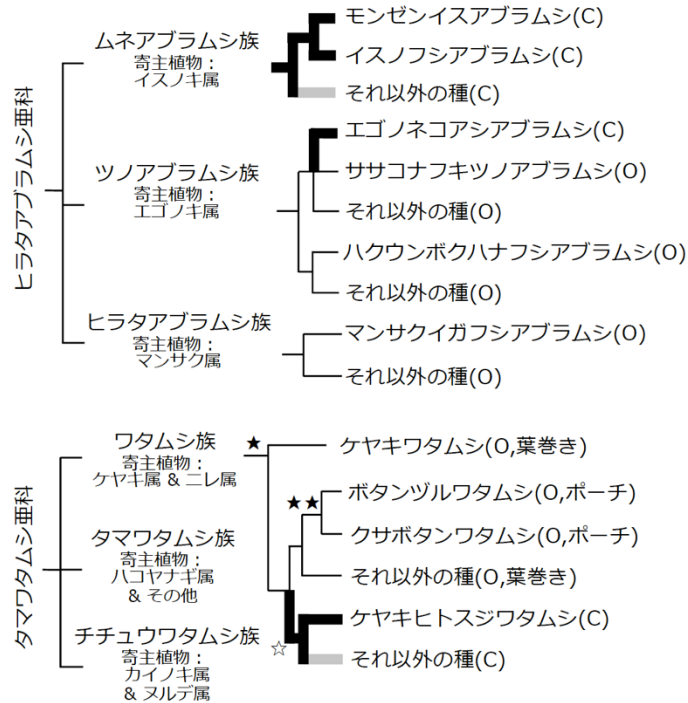


図3. ゴール吸水性/撥水性の進化

黒の太線はゴール吸水性の獲得, グレーの太線はゴール吸水性の獲得が予想されることを示す。  
 ★はゴール内壁の密集したトライコームの獲得, ★★は極めて密集したトライコームの獲得, ☆はトライコームの消失を示す。カッコ内のCは閉鎖型ゴール, Oは開放型ゴールを示す。系統関係はSano & Akimono (2011)とKutsukake et al. (2012)に基づく。

### 6. ゴール吸水性はアブラムシにより誘導される

ところでゴールが吸水するという性質は、植物とアブラムシのどちらによって決定されているのであろうか?ここでは、エゴノネコアジアブラムシとササコナフキツノアブラムシという、同じ寄主植物にゴールを形成する 2 種のアブラムシに着目して、この問題について考えてみたい。これらのアブラムシは、いずれもエゴノキにゴールを形成する近縁種である。ゴールはバナナの房に似た外観をしており (図 2)、サブゴールと呼ばれる 10 個程度の小房で構成され、それぞれの小房で 50-100 匹程度のアブラムシが生活している (Kurosu & Aoki 1988, Kurosu & Aoki 1990, Kurosu & Aoki 1994)。ゴールの形成過程もよく似ており、いずれも葉の付け根にある腋芽から形成され、ゴールの継続期間は 3 ヶ月程度である。2 種のゴールの大きな違いは、開口部の有無である。エゴノネコアジアブラムシは閉鎖型、ササコナフキツノアブラムシは開放型のゴールを形成する。兵隊によるゴール清掃については、ササコナフキツノアブラムシの兵隊は活発に清掃するのに対し、エゴノネコアジアブラムシの兵隊はこの行動を示さない (Kurosu & Aoki 1988, Kurosu et al. 1990)。そこで、これら 2 種のゴール吸水性

について調べた。野外で実験したところ、エゴネコシアブラムシのゴールは注入した水を確かに吸収した (Kutsukake et al. 2012)。続いて、ゴール内壁の性質を比較したところ、エゴネコシアブラムシの閉鎖型ゴールの内壁は水になじむ性質 (親水性) を示したのに対し、ササコナフキツノアブラムシの開放型ゴールの内壁は水を弾く性質 (撥水性) を示した (図4)。さらに、透過型電子顕微鏡による観察から、親水性を示したエゴネコシアブラムシゴールの内壁表面層は、不連続かつスポンジ様の構造なのに対し、撥水性を示したササコナフキツノアブラムシのゴール内壁表面は、厚くて強固なクチクラ層で覆われていることがわかった (図4)。これらの結果から、2種のゴールは、内壁表面の植物クチクラ層の形状が異なっており、これにより、内壁による吸水性や水に対する親和性が決定されていることが強く示唆された。さらに重要な点として、植物が同一であることから、このようなゴールの内部形態や生理状態の違いを生み出しているのは、アブラムシ側であるということが明らかになった。

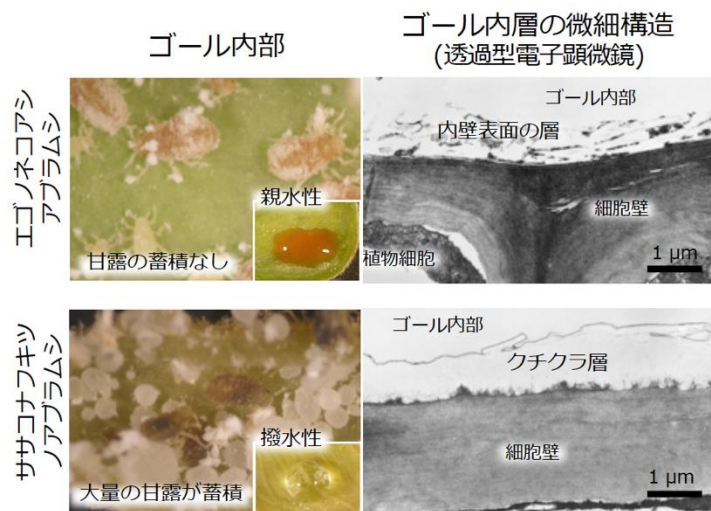


図4. ツノアブラムシ族2種のゴール内部の様子と内壁表面のクチクラ層 (画像はKutsukake et al. 2019から転用)

## 7. 開放型ゴールの撥水性を向上させるトライコームの発達

最近、もう一つ別の興味深い現象が発見された。ボタンヅルワタムシは、ケヤキの葉に開放型ゴールをつくるアブラムシである (図2)。兵隊は清掃行動を示し、開口部から甘露をゴール外に捨てる。このゴールの内部を観察したところ、通常では見られないほど多数の毛状突起 (トライコーム) が発達しており、その密度は、同じ葉の非ゴール領域と比べて約 30 倍に達するほどであった (図5) (Uematsu et al. 2018)。さらに調べたところ、このトライコームは、アブラムシのワックスとともに、ゴール内部の撥水効果を高めることに寄与していた。撥水性の指標である接触角は、無処理のゴール内壁で 150 度と高い撥水性を示したのに対し、ワックスを有機溶媒で溶かして取り除いたゴール内壁に対しては 130 度と減少した。葉の非ゴール領域 (トライコーム, ワックスともになし) では 90 度以下と撥水性はさらに弱まった (Uematsu et al. 2018)。このように、ボタンヅルワタムシのゴールにおいては、トライコームとアブラムシのワックスが同時に存在することで内部の撥水効果を高め、アブラムシが甘露を効率的に運搬できるしくみになっていた。このような生物表面におけるミクロスケールでの階層構造は、しばしば撥水効果をもたらす。ハスの葉に見られる高い撥水性はその代表例であり、「ロータス効果」として知られている (Barthlott & Neinhuis 1997)。ボタンヅルワタ

ムシのゴールで明らかになった密集したトライコームは、近縁種のクサボタンワタムシの開放型ゴールにおいても観察されたが、ケヤキヒトスジワタムシの閉鎖型ゴールにおいては見られなかった (図 2, 3, 5)。ケヤキワタムシの葉巻きタイプの開放型ゴールにおいては、ボタンヅルワタムシの開放型ゴールの半分程度であった (Uematsu et al. 2018)。このように、同じケヤキの葉に形成されるゴールにおいても、トライ

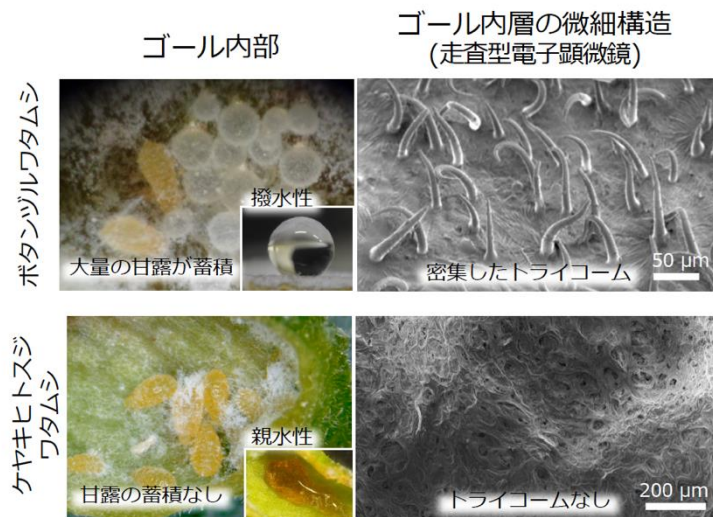


図5. ワタムシ族2種のゴール内部の様子と内壁表面のトライコーム (画像はKutsukake et al. 2019から転用)

コームの発達程度はアブラムシの種により異なっていた。つまり、開放型ゴールにおけるトライコームもまた、ゴール形成アブラムシによる「延長された表現型」と言えるであろう。

## 8. まとめと今後の展望

ゴールで生活するアブラムシの排泄物処理の問題については、ゴール形態に対応した2つの戦略が存在することが明らかになった。開放型ゴールにおいては、甘露はゴール内のアブラムシによって排出される。ゴール内壁は、厚い植物クチクラ層とアブラムシ由来ワックスで覆われ、高い撥水性を示す。これにより、アブラムシは甘露を容易に運搬することができる。一方、閉鎖型ゴールにおいては、植物組織が甘露を吸収して除去する。ゴール内壁の表面は親水性で、スポンジ状の層を通して植物組織に吸水される。興味深いことに、これまでに調べたアブラムシのゴールは、閉鎖型ゴールはいずれも吸水性かつ親水性を示し、開放型ゴールはいずれも撥水性を示した (図 2, 3)。このように、ゴールの形態と吸水性の関係は完全にリンクしていたことから、この関係は生態学的に非常に重要であると考えられる。閉鎖型ゴールは防衛面では優れているものの、排泄物やゴミを外に捨てられないという重大な欠点があった。これに対して、アブラムシは閉鎖型ゴールにおいて吸水性を進化させることにより、この問題を解決し、防御と衛生維持を両立させたのであろう。このような視点で考えると、閉鎖型ゴールにおけるゴール吸水は、アブラムシによる「植物を介した間接的な社会行動」と解釈することができる。また、すでに述べた通り、閉鎖型ゴールにおける吸水性は、これまでに少なくとも3回独立に進化してきた。今後、まだ調べられていないタマワタムシ族やチチュウワタムシ族のゴールについて調査を進めることにより、ゴール吸水性の進化の全体像を明らかにすることができるであろう。

もう一つの興味深いことは、ゴール吸水に関わる植物クチクラや、撥水性を高めるトライコームの分子発生メカニズムである。ゴールは、幹母とよばれるゴール創設虫が植物組織に口針 (針状の口器) を挿入し、唾液を連続的に注入することにより形成される。この唾液中に



は何らかの生理活性分子が含まれており、植物の細胞分裂や増殖を活性化し、植物の形態や生理状態を自分の都合の良いように改変していると考えられる (Stone & Schönrogge 2003, Raman et al. 2005)。そのようなゴール形成に関わる因子として、エフェクターの関与が指摘されているが、詳細についてはまだ不明な点が多い (Giron et al. 2016)。また、ゴール形成中の虫の体や唾液腺にはオーキシンやサイトカニンが高濃度で蓄積していることが報告されており、昆虫由来の植物ホルモンがゴール形成に関与しているのではないかと考えられている (Mapes & Davies 2001, Tooker & De Moraes 2011a, Tooker & De Moraes 2011b, Yamaguchi et al. 2012)。今後、アブラムシの唾液腺で発現するエフェクターや植物ホルモンに関する解析が、ゴール形成メカニズムの解明にとって重要なポイントになると思われる。一方、植物クチクラやトライコームの分子発生メカニズムについては、シロイヌナズナを始めとするモデル植物で研究が進んでいる (Kunst & Samuels 2009, Yeats & Rose 2013, Pattanaik et al. 2014)。これらのモデル生物において得られている知見を利用して、候補遺伝子からアプローチすることも可能であろう。本稿で紹介した、同じ寄主植物上に異なる性質のゴールをつくる2種間での比較 (エゴネコアシアブラムシとササコナフキツノアブラムシ, ボタンヅルワタムシとケヤキヒトスジワタムシ) から、ゴールの吸水性や撥水性に関わる因子を昆虫と植物の両面から明らかにすることができるかもしれない。このようなアプローチを通じて、ゴール形成の分子基盤の解明に迫っていきたいと考えている。

## 引用文献

- Abbot, P., & Chapman, T. (2017). “Sociality in aphids and thrips” in *Comparative Social Evolution*, eds. D. R. Rubenstein, and P. Abbot. (Cambridge, UK: Cambridge University Press), 124–153.
- Aoki, S. (1980). Occurrence of a simple labor in a gall aphid, *Pemphigus dorocola* (Homoptera, Pemphigidae). *Kontyû* 48, 71–73.
- Aoki, S. (1987). “Evolution of sterile soldiers in aphids” in *Animal Societies: Theories and Facts*, eds. Y. Ito, J. L. Brown, and J. Kikkawa (Tokyo, Japan: Japan Scientific Societies Press), 53–65.
- Aoki, S., & Kurosu, U. (1989). Soldiers of *Astegopteryx styraci* (Homoptera, Aphididoidea) clean their gall. *Jpn J. Entomol.* 57, 407–416.
- Barthlott, W., & Neinhuis, C. (1997). Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. *Planta* 202, 1–8.
- Benton, T. G., & Foster, W. A. (1992). Altruistic housekeeping in a social aphid. *Proc. R. Soc. Lond. B* 247, 199–202.
- Blackman, R. L., & Eastop, V. F. (2000). *Aphids on the world’s crops: an identification and information guide*, 2<sup>nd</sup> edition. (Chichester, UK: John Wiley & Sons Inc.)
- Giron, D. Huguet, E., Stone, G. N., & Body, M. (2016) Insect-induced effects on plants and possible effectors used by galling and leaf-mining insects to manipulate their host-plant. *J. Insect Physiol.* 84, 70-89.
- Foster, W. A., & Northcott, P. A. (1994). “Galls and the evolution of social behaviour in aphids” in *Plant Galls: Organisms, Interactions, Populations*, ed. M. A. J. Williams (Oxford, UK: Clarendon Press), 161–182.

- Inbar, M., Wink, M. & Wool, D. (2004). The evolution of host plant manipulation by insects: molecular and ecological evidence from gall-forming aphids on *Pistacia*. *Mol. Phylog. Evol.* 32: 504-511.
- Kunst, L., & Samuels, L. (2009). Plant cuticles shine: advances in wax biosynthesis and export. *Curr. Opin. Plant Biol.* 12, 721-727.
- Kurosu, U. & Aoki, S. (1988). First-instar aphids produced late by the fundatrix of *Ceratovacuna nekoashi* (Homoptera) defend their closed gall outside. *J. Ethol.* 6, 99–104.
- Kurosu, U. & Aoki, S. (1990). Formation of a ‘cat’s-paw’ gall by the aphid *Ceratovacuna nekoashi* (Homoptera). *Jpn J. Entomol.* 58, 155–166.
- Kurosu, U. & Aoki, S. (1994). Gall formation, outsiders and soldiers of the aphid *Ceratovacuna japonica* (Homoptera). *Jpn J. Entomol.* 62, 793–802.
- Kurosu, U., & Aoki, S. (2009). Extremely long-closed galls of a social aphid. *Psyche* 2009, 159478, 9 pages.
- Kurosu, U., Stern D. L., & Aoki, S. (1990). Agonistic interactions between ants and gall-living soldier aphids. *J. Ethol.* 8, 139-141.
- Kutsukake, M., Meng, X. Y., Katayama, N., Nikoh, N., Shibao, H., & Fukatsu, T. (2012). An insect-induced novel plant phenotype for sustaining social life in a closed system. *Nat. Commun.* 3, 1187.
- Kutsukake, M., Uematsu, K., & Fukatsu, T. (2019) Plant manipulation by gall-forming social aphids for waste management. *Front. Plant Sci.* 10: 933.
- Mapes, C. C., & Davies, P. J. (2001). Cytokinins in the ball gall of *Solidago altissima* and in the gall forming larvae of *Eurosta solidaginis*. *New Phytol.* 151, 203–212.
- Pattanaik, S., Patra, B., Singh, S. K., & Yuan, L. (2014). An overview of the gene regulatory network controlling trichome development in the model plant, *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* 5, 259.
- Pike, N., Richard, D., Foster, W., & Mahadevan, L. (2002). How aphids lose their marbles. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269, 1211–1215.
- Pike, N., & Foster, W. (2008). “The ecology of altruism in a clonal insect” in *Ecology of Social Evolution*, eds. J. Korb, and J. Heinze (Verlag Berlin Heidelberg, Germany: Springer), 37-56.
- Raman, A., Schaefer, C. W., & Withers, T. M. (2005). *Biology, ecology, and evolution of gall-inducing arthropods.* (Enfield, NH: Science Publishers Inc, 2005).
- Sano, M., & Akimoto, S. (2011). Morphological phylogeny of gall-forming aphids of the tribe Eriosomatini (Aphididae: Eriosomatinae). *Syst. Entomol.* 36: 607–627.
- Stern, D. L. (1995). Phylogenetic evidence that aphids, rather than plants, determine gall morphology. *Proc. R. Soc. Lond. B* 260, 85–89.
- Stern, D. L., & Foster, W. A. (1996). The evolution of soldiers in aphids. *Biol. Rev.* 71, 27–79.
- Stone, G. N., & Schönrogge, K. (2003). The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends Ecol. Evol.* 18, 512-522.
- Tooker, J. F., & De Moraes, C. M. (2011a). Feeding by a gall-inducing caterpillar species increases levels of indole-3-acetic and decreases abscisic acid in *Solidago altissima* stems. *Arthropod–Plant Interact.* 5, 115–124.

- Tooker, J. F., & De Moraes, C. M. (2011b). Feeding by Hessian fly (*Mayetiola destructor* [Say]) larvae on wheat increases levels of fatty acids and indole-3-acetic acid but not hormones involved in plant-defense signaling. *J. Plant Growth Regul.* 30, 158–165.
- Uematsu, K., Kutsukake, M., & Fukatsu, T. (2018). Water-repellent plant surface structure induced by gall-forming insects for waste management. *Biol. Lett.* 14: 20180470.
- Wool, D. (2005). “Gall-inducing aphids: biology, ecology, and evolution” in *Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods*, eds. A. Raman, C. W. Schaefer, and T. M. Withers (Enfield, NH: Science Publishers, Inc.), 73-132.
- Yamaguchi, H., Tanaka, H., Hasegawa, M., Tokuda, M., Asami, T., & Suzuki, Y. (2012). Phytohormones and willow gall induction by a gall-inducing sawfly. *New Phytologist* (2012) 196, 586–595.
- Yeats, T. H., & Rose, J. K. (2013). The formation and function of plant cuticles. *Plant Physiol.* 163, 5–20.

## カルシウムイオンを介したハエトリソウの記憶機構

須田 啓<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>基礎生物学研究所 生物進化研究部門

<sup>2</sup>総合研究大学院大学 生命科学研究科 基礎生物学専攻  
〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中 38

<sup>3</sup>埼玉大学大学院 理工学研究科 生命科学系専攻  
〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255

### The memory system of Venus flytrap mediated by calcium ions

Hiraku Suda<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Division of Evolutionary Biology, National Institute for Basic Biology

<sup>2</sup>Department of Basic Biology, School of Life Sciences, The Graduate School for Advanced Studies (SOKENDAI)

38 Nishigonaka, Myodaiji, Okazaki, 444-8585, Japan

<sup>3</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University

255 Shimo-Okubo, Sakura-ku, Saitama, 338-8570, Japan

Keywords: calcium signaling, *Dionaea muscipula*, live imaging, thigmonasty, transformation

DOI: 10.24480/bsj-review.12b3.00204

#### 1. はじめに

食虫植物であるハエトリソウ (*Dionaea muscipula*, ナデシコ目モウセンゴケ科) は「獲物を捕らえ、消化し、栄養として吸収する」ことを通じて他の動物と関わっている。ハエトリソウはアメリカ合衆国のノースカロライナ州およびサウスカロライナ州の湿地帯のみに自生しており、ハエトリソウをはじめとした食虫植物は動物を栄養源とすることで窒素源の乏しい貧困な土地での生育に適応したと考えられている (図 1a; Ellison, 2006)。ハエトリソウの葉は中肋を挟んで左右 2 つの裂片に分かれており、それぞれの裂片の表側に 3 本ずつ感覚毛と呼ばれる多細胞の毛状突起が配置されている (図 1b; Juniper et al, 1989)。ハエトリソウは感覚毛で接触刺激を感受し、2 回の連続した刺激に応じて左右の裂片を閉じ合わせる。閉じた葉身では、葉縁に等間隔に並んだ棘状の鋸歯が互い違いに噛み合い、罠からの獲物の脱出を防ぐ (図 1b, 下段)。捕らえられた獲物が罠の中でもがくと、感覚毛に更なる接触刺激が与えられ、獲物の表面にある化学物質は葉身で感受される。これらの更なる接触刺激もしくは化学刺激が閉合後に葉身で受容されると、葉身の閉合運動よりもゆっくりとした狭窄運動が起こり獲物を締め付け、獲物の消化や栄養素の吸収が促進される。

Charles Darwin はこの植物を “one of the most beautifully adapted plants in the vegetable kingdom” と記載し、18 世紀から 200 年以上もの間多くの研究者が「動物を捕らえる植物」

に魅了され、その仕組みについて研究してきた (Darwin, 1875)。本総説ではこれまでのハエトリソウ研究の歴史を踏まえたうえで、近年解明されはじめた獲物からの刺激受容から連なる一連の捕虫・消化・吸収の分子メカニズムを紹介し、ハエトリソウが獲物との駆け引きをどのように制御しているのかについて解説する。

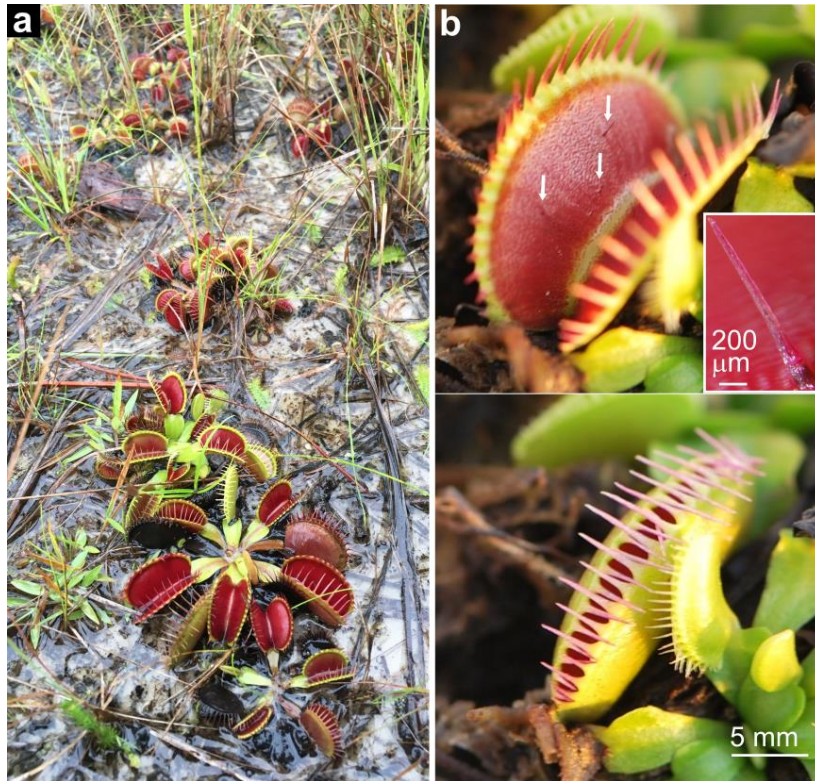


図 1. ハエトリソウ

**a**, アメリカ合衆国, ノースカロライナ州の湿地帯に自生するハエトリソウ。**b**, 閉合運動前 (上段) と運動後 (下段) のハエトリソウの葉身。片側に 3 本ずつ生えた感覚毛 (白矢印, 挿入図) で獲物の存在を感知する。感覚毛が 2 度の接触刺激を受容すると葉身が閉合運動し, 葉身の辺縁部にある鋸歯が噛み合うように閉じ合わさる。

## 2. ハエトリソウの捕虫・消化・吸収機構

### 2-1. 接触刺激の受容機構

感覚毛における接触刺激の受容機構については 18 世紀から考察されてきた。ハエトリソウが *Dionaea muscipula* と名付けられた際には、感覚毛は捕らえた獲物を効果的に殺すための棘であると考えられていた (Ellis & Linné, 1770)。しかしその後、詳細な観察によってこの感覚毛こそが接触刺激の受容能を有する組織であることが明らかになった (Sims, 1804)。感覚毛が接触刺激を受容した際にどのような現象が起こり、運動が引き起こされるのかは長らく未解明であったが、生理学的な研究手法の発展によって、感覚毛では接触刺激を受容すると動物の神経のように電位変化が発生し、葉身上を活動電位として伝播することが発見された (Burdon Sanderson, 1872)。更に、感覚毛のどの細胞が活動電位の発生に必要なものであるのかを詳細に探索する研究が行われ、感覚毛の基部にある接触刺激によって変形する細胞群が、接触刺激に応じた活動電位の発生に必要なことが明らかになった (Benolken & Jacobson, 1970)。これらの細胞群にはポリフェノールの沈着した液胞が見られ、活動電位の発生に必要なイオンのストレージとしての役割を果たしているのではないかと考えられている (Buchen et al., 1983)。

1 度目の接触刺激の受容に引き続いて発生した活動電位はハエトリソウの2つの裂片全体に広がる (図2, ①; Sibaoka, 1966)。ハエトリソウにおける活動電位は6-17 cm/秒と非常に速い速度で伝播し、特に感覚毛から見て葉身の中央方向に速いことが分かっている。この葉身における中央-側方軸は葉肉細胞の長軸と一致することから、伝播をする際の経路上にある細胞の数が少ないほど伝播速度が速いのではないかと考えられてきた (柴岡, 1981)。2度目の刺激によって発生した活動電位も同様に2つの裂片の全体に広がるが (図2, ②), この時の脱分極相の持続時間は1度目の活動電位よりも短く (Di Palma et al., 1961), また葉身上を伝播する速度については1度目の刺激による活動電位に比べて更に早い25 cm/秒であることが分かっており (Sibaoka, 1980), あらかじめ1度接触刺激を与えておくことが2度目の活動電位の形成や伝播に何らかの影響を与えていると考えられる。活動電位は電荷を持ったイオンが細胞の内外を移動することによって形成されるため、活動電位にどのようなイオンが関わっているのかがチャンネル阻害剤を用いて精力的に解析されてきた。その結果、カルシウムチャンネル阻害剤やクロライドチャンネル阻害剤によって活動電位の振幅が小さくなることが明らかになっており、カルシウムイオンやクロライドイオンの動態が活動電位において重要な役割を果たしていると考えられる (Krol et al., 2006; Hodick & Sievers, 1988)。

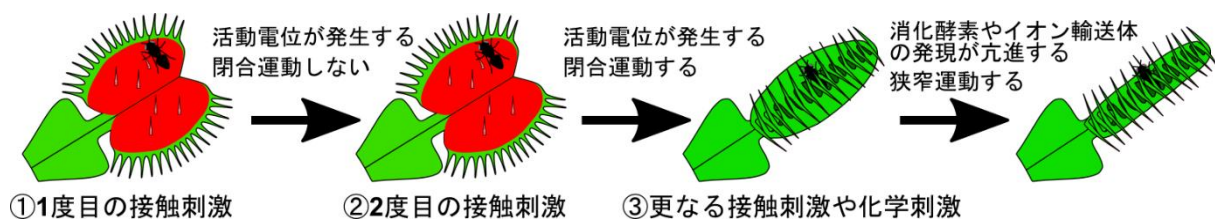


図2. ハエトリソウが獲物からの受容する刺激と応答

ハエトリソウは1度目の接触刺激に応じて閉合運動せず、2度目の接触刺激に応じて閉合運動することで獲物を捕らえる。閉合運動後に更なる接触刺激や化学刺激を受容することで、消化酵素やイオン輸送体の発現が亢進し、獲物を消化・吸収する。

## 2-2. 刺激情報の記憶機構

葉身では2度の接触刺激に応じた2度の活動電位の伝播を経て、閉合運動が起こる (図2, ②)。1度目の刺激だけでは運動が起こらないことから、ハエトリソウの葉は2度目の刺激が与えられるまで1度目の刺激情報を記憶しておくことが出来ると考えられてきた (Macfarlane, 1892)。この記憶は30秒程度の間しか維持されず、30秒以上経過してから2度目の刺激を与えても閉合運動が行われないことから、短期的な記憶機構であることが分かっている (Brown & Sharp, 1910)。また、1度目と2度目の接触刺激は同一の感覚毛に2度与えても、2つの異なる感覚毛に1度ずつ与えても2度目の接触刺激によって運動が起こることが分かっている。ハエトリソウは閉合運動の際にアデノシン三リン酸 (ATP) を消費することが知られており (Williams & Bennett, 1982), この記憶機構によって雨や小石などで引き起

こされる不要な運動による無駄なエネルギーの消費を避け、葉の上に留まる獲物だけを確実に捕らえていると考えられてきた (Juniper et al., 1989)。

### 2-3. 葉身の運動機構

運動の開始に伴い最初は外側に反り返った葉身の曲率がゆっくりと内向きに変化しはじめるが、続いて外側に反った開状態から内側に反った閉状態へ 100 ミリ秒という短時間で変形が起こり、最後はゆっくりと閉じ終わり 2 度目の刺激から 900 ミリ秒以内に運動が完了する (Forterre et al., 2005)。この葉身運動を開始する力がどのように発生しているかその分子機構は明らかになっていないが、同じく接触刺激に応じて運動を行うオジギソウでは運動時に細胞内からカリウムイオンやクロライドイオンが流出することが知られており (Samejima & Sibaoka, 1980; Toriyama, 1955)、細胞内へのカルシウムイオンの流入に引き続いて、カリウムイオンやクロライドイオンが細胞内から流出することで細胞内の浸透圧が低下し、浸透圧に従って細胞内から水が流出することによって細胞の膨圧の低下が起こり、運動が起こるとするモデルが提唱されてきた (Poppinga et al., 2013)。ハエトリソウでも細胞の膨圧を変化させ運動を引き起こしているとするモデルが考えられており (Poppinga et al., 2013; Brown, 1916)、栽培ポットに含まれる水分量を低下させると葉身運動が阻害されることから、運動に水が何らかの役割を果たしていると考えられる (Escalante-Pérez et al., 2011)。また、ハエトリソウの近縁種であるムジナモ (*Aldrovanda vesiculosa*) はハエトリソウと同じように接触刺激に応じて閉合運動する葉身を有しているが、このムジナモでは閉合運動後に葉が開く際には葉身の表側でカリウムイオンが取り込まれることから、上記モデルで提唱されているように閉合運動時に葉身表側の細胞からカリウムイオンが失われている可能性が指摘されている (Iijima & Sibaoka, 1983)。他にも、 $H^+$ -ATPase による pH の低下が細胞壁の緩みを誘発し、細胞の膨圧によって細胞が変形することで運動するという仮説も提案されているが、秒単位で完結してしまうハエトリソウの運動を酸成長によって説明することが出来るのかは不明である (Williams & Bennett, 1982)。

運動が開始すると、ハエトリソウの運動はその葉身構造によって高速化されることが力学モデリングにより明らかになっている (Forterre et al., 2005)。ハエトリソウの葉身は運動前には外側に反り返った凹型の形状 (図 1b, 上段) となっており、運動後には内側に反り返った凸型の形状 (図 1b, 下段) となる。これら運動前と運動後の形状は力学的に安定である一方、これらの中間の形状は力学的に不安定であり、1 度運動が開始すると葉身に蓄えられていた弾性エネルギーによって運動が高速化していると考えられている。

### 2-4. 獲物の消化・吸収機構

閉合運動によって捕らえた獲物の消化・吸収は閉合運動後に繰り返し与えられる接触刺激を受容すること、もしくは獲物の表面からの化学刺激を受容することで開始される (図 2, ③)。刺激に応じてどのようなシグナル経路が活性化するのかについては、qRT-PCR やトランスクリプトーム解析によってその詳細が分かりつつある。閉合運動後に繰り返される接触刺激や化学刺激を受容すると、ジャスモン酸やその前駆体である 12-オキソ-フィトジエン酸

(OPDA) の合成が進み、ジャスモン酸シグナル伝達経路が活性化する (Libiaková et al., 2014; Escalante-Pérez et al., 2011)。この際葉身では狭窄運動と呼ばれる獲物を締め付ける運動が起こる。

ジャスモン酸シグナル伝達経路の活性化に伴い、葉身上にある腺組織で種々の消化酵素の発現亢進が行われる (Bemm et al., 2016)。通常、植物の表皮細胞はクチクラ層によって隙間なく覆われているが、腺組織の表面にあるクチクラ層にはクチクラギャップと呼ばれる小孔が開いており、消化酵素はこのクチクラギャップを通じて腺組織から消化液として分泌されると考えられる (Joel et al., 1983)。プロテオーム解析の結果から、消化液にはキチナーゼやプロテアーゼなどの酵素が含まれることが明らかになっており、獲物の消化に寄与していると考えられる (Schulze et al., 2012)。獲物を捕らえた葉の腺組織では消化酵素のみならず、DmAMT1 や DmHAK5, DmHKT1 などの発現が亢進される (Bemm et al., 2016)。アフリカツメガエルの卵母細胞を用いた double-electrode voltage clamp によって、DmAMT1, DmHAK5, DmHKT1 はそれぞれ、アンモニウムイオン、カリウムイオン、ナトリウムイオンに透過性を持つイオン輸送体であることが明らかになり、消化酵素等によって溶解した獲物の栄養を吸収する機能を担っていると考えられている (Scherzer et al., 2013, 2015; Böhm et al., 2016)。これらイオン輸送体や VF CHITINASE1, SAG12, SCPL49 などの消化酵素の発現はジャスモン酸誘導体のコロナチン (COR) によっても誘導されると共に、ジャスモン酸シグナル伝達経路の阻害剤であるコロナチン O-メチルオキシム (COR-MO) の添加によって阻害される (Bemm et al., 2016; Böhm et al., 2016)。このことから、イオン輸送体や消化酵素の発現亢進はジャスモン酸シグナル伝達経路を介していると考えられる。

ジャスモン酸シグナル伝達経路は、植物では傷害を受けた際に活性化されることが知られている (Wang et al., 2019)。ハエトリソウで虫を捕らえた後に発現上昇する遺伝子群の多くは傷害応答によって発現上昇する遺伝子群と重複しており、食虫性に関連する遺伝子群は傷害応答に関わる遺伝子群から遺伝子重複などを経て獲得された可能性がある (Bemm et al., 2016)。近年の研究から、進化の過程でハエトリソウでは全ゲノム重複やトランスポゾンの増加が起こっていたことが分かっており、こういったゲノム上のイベントが食虫性の獲得に影響を与えた可能性が指摘されている (Palfalvi et al., 2020)。

### 3. ハエトリソウの捕虫機構におけるカルシウムイオン動態

このようにハエトリソウでは閉合運動後にどのようなシグナル経路が活性化されるのか、遺伝子発現を含めそのメカニズムが分子レベルで解明されつつある。一方で、接触刺激を受容して閉合運動を行うまでの分子機構についてはどのような分子動態の制御によって接触刺激に応答しているのかはほとんど分かっていない。これは、ハエトリソウの運動が2度目の刺激から1秒未満で完結してしまう非常に高速なものであるため、遺伝子の発現変動で制御されているとは考えづらく、非モデル植物でも分子機構の解析に有用なトランスクリプトーム解析や qRT-PCR といった手法では調べる事が出来なかったこと。また、ハエトリソウでは生体での遺伝子の機能や分子動態を調べるのに有用な形質転換技術が確立されていなかったことなどが原因の一部だと考えられる。



我々のグループではハエトリソウの形質転換技術を確立に取り組み、この技術を用いてハエトリソウにおける接触刺激に応じた分子動態を調べた (Suda et al., 2020)。既往研究では薬理的な実験から、接触刺激に応じた活動電位の発生がカルシウムチャンネル阻害剤のランタンイオンによって阻害されること (Hodick & Sievers, 1988)、また、ランタンイオンは葉身の閉合運動も阻害することが知られている (Hodick & Sievers, 1989; Fagerberg & Allain, 1991)。このことから、接触刺激に応じて細胞内カルシウムイオン濃度を変化させることで葉身の記憶機構・運動機構を制御しているとする次のような仮説が提唱されてきた。(1) まず、1度目の接触刺激を行うとそれに応じて活動電位が発生し、細胞内カルシウムイオン濃度が上昇する。(2) 1度目の刺激から30秒以内にただちに2度目の刺激を行うとふたたびカルシウムイオン濃度が上昇し、閾値に到達すると運動が行われる。(3) 一方、1度目の刺激から30秒以上経過してから2度目の刺激を行ってもカルシウムイオン濃度が閾値に到達せず運動が行われない、というものである (図3; Hedrich & Neher, 2018; Hodick & Sievers, 1988)。我々はこの仮説に基づいてカルシウムセンサータンパク質を発現する形質転換ハエトリソウを樹立し、ハエトリソウのカルシウムイオン動態をライブイメージングした。

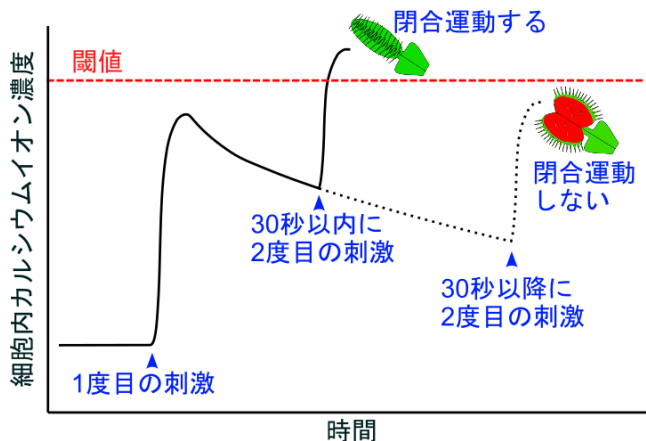


図3. 細胞内カルシウムイオン濃度で制御される記憶機構のモデル図

30秒以内に2度の刺激が与えられると細胞内カルシウムイオン濃度が閾値を超え運動する (黒実線)。1度目の刺激から30秒以降に2度目の刺激が与えられると細胞内カルシウムイオン濃度が閾値を超えず運動しない (黒点線)。

### 3-1. ハエトリソウの形質転換技術

ハエトリソウの形質転換は、発現させたい遺伝子配列を含んだ pSB111 super-binary vector をアグロバクテリウム LBA4404 株に導入し、これを用いることで実現した (Komari et al., 2006; Hellens et al., 2000)。外植片として暗所で培養した黄化した葉を用意し、外植片とアグロバクテリウムを暗所で3日間共培養することでアグロバクテリウムをハエトリソウの細胞に感染させた。この外植片をホルモンを含まない培地において暗所で培養し続けることによって、形質転換した新しいシュートを得た (Suda et al., 2020; Mano et al., 2014)。確立した形質転換技術を用いて、ハエトリソウにカルシウムセンサータンパク質 GCaMP6f を導入した形質転換株を樹立した (Chen et al., 2013)。GCaMP6f はカルシウムイオンと結合することによってその立体構造が変化し cpEGFP の蛍光を発するタンパク質で、カルシウムイオン濃度の増加に伴い蛍光輝度が上昇する。これをミヤコグサのユビキチンプロモーターによってハエトリソウの全身の細胞質に発現させた (Maekawa et al., 2008)。

### 3-2. 接触刺激に応じたカルシウムイオン動態

接触刺激に応じたカルシウムイオン濃度の変化を感覚毛において調べるため、この形質転換体の感覚毛の頂端付近に針で力を加えて、感覚毛の角度が変化したのちに針を離すことで接触刺激を与えた。その結果、1度目の刺激、2度目の刺激のいずれにおいても感覚毛の基部で蛍光輝度の上昇が見られた (図 4a)。蛍光輝度の上昇がみられた組織は、上述した接触刺激の受容細胞群と位置が一致していた (Benolken & Jacobson, 1970)。このことからハエトリソウでは接触刺激を受容するとその受容細胞群の細胞質においてカルシウムイオンの濃度上昇が起こっていると考えられる。

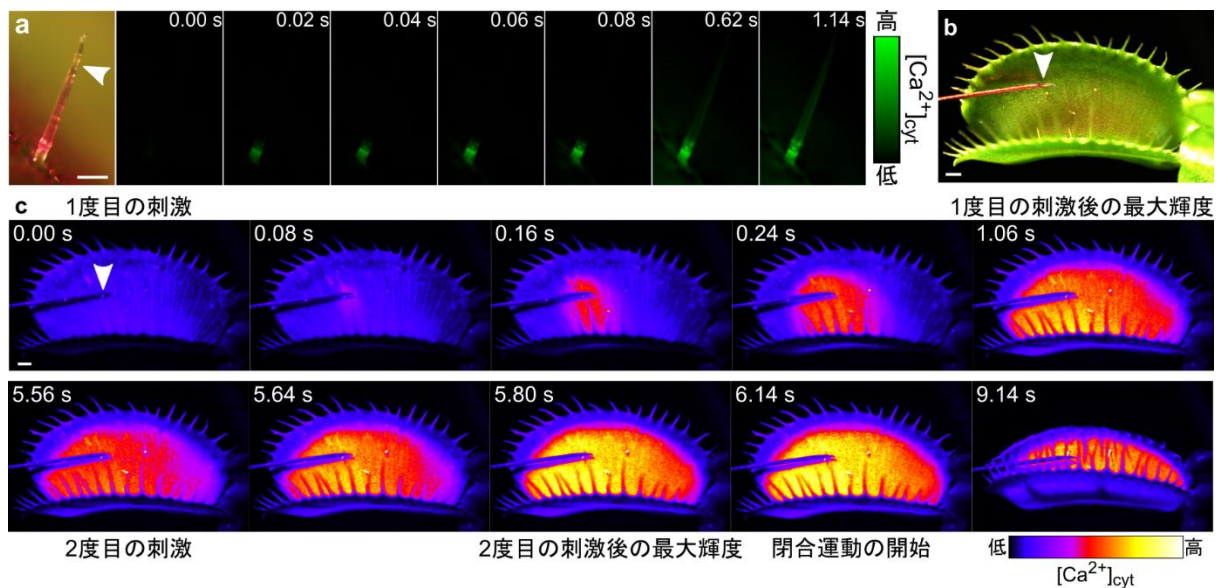


図 4. GCaMP6f 発現株における接触刺激に応じたカルシウムイオン動態

**a**, GCaMP6f 発現株の感覚毛の明視野画像 (左端) と蛍光画像 (他)。白鏟で示した感覚毛の頂端付近に 1 度目の接触刺激を与えたところ、感覚毛の基部で蛍光輝度が上昇し、刺激から 1.14 秒後に最大輝度となった。**b,c**, GCaMP6f 発現株の葉身の明視野画像 (**b**) と感覚毛に針 (白鏟) で接触刺激を与えた際の蛍光画像 (**c**)。2 度の接触刺激に応じて蛍光輝度が加算的に上昇した後、閉合運動した。カラースケールは、細胞内カルシウムイオン濃度 ( $[Ca^{2+}]_{cyt}$ )。スケールバー (**a**) は 200 μm, (**b,c**) は 1 mm。最大輝度のフレームは撮影範囲全体の平均輝度を用いて求めた。1 度目の刺激からの経過秒数 (s) を蛍光画像に示した。(Suda et al., 2020) より許可を得て改変し、転載。

接触刺激の受容に引き続いて葉身では、感覚毛を中心として同心円状に蛍光輝度の上昇が伝播した (図 4b, c)。この蛍光輝度の上昇は 1 度目の刺激と 2 度目の刺激のいずれにおいても観察され、2 度目の輝度の上昇の後葉身が運動した。輝度の上昇は接触刺激を与えた裂片から与えていない裂片へと伝播し、1 度目の刺激と 2 度目の刺激に応じて葉身上のほぼ同じ範囲で上昇がみられたが、鋸歯を含む葉身の辺縁部、葉身の裏側で左右の裂片を繋いでいる中肋、および葉柄では輝度の上昇が見られず、カルシウムイオン濃度の上昇は刺激を受けた葉身の内限られた領域で起こっていた。以上のことから、ハエトリソウでは接触刺激を受容

した感覚毛から葉身へ細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が伝播していき、2度の接触刺激に応じた2度の細胞内カルシウムイオン濃度の上昇の後、運動が起こっていることが明らかになった。接触刺激を受容した葉身内のみでカルシウムシグナルの伝播を行い他の葉へカルシウムシグナルを伝播しないことは、ハエトリソウの葉身が獲物のいる葉のみで運動を行う必要があるという性質と一致している。シロイヌナズナを用いた研究では、創傷刺激に応じたカルシウムシグナルは葉脈を介して周囲の葉へ伝播していくことで全身性の防御応答を活性化させることが知られている (Toyota et al., 2018)。ハエトリソウにおける接触刺激に応じたカルシウムシグナルの伝播には、創傷刺激に応じたカルシウムシグナルの伝播とは異なる経路や仕組みを介している可能性がある。

接触刺激を与えた際に輝度の変化が葉身上を伝播する速度を、刺激を受けた感覚毛から見て葉身の基部方向、先端方向、中央方向、側方方向について調べたところ、速度は伝播する方向で有意に異なり、中央方向への伝播は他の方向への伝播よりも高速であった。また、どの方向についても1度目の刺激に応じたカルシウムシグナルに比べて2度目の刺激に応じたカルシウムシグナルの伝播速度のほうが速かった。これらの性質は活動電位の伝播速度についても見られることから、カルシウムシグナルと活動電位の伝播は同じ仕組みを介して行われている可能性がある (Sibaoka, 1966, 1980)。より詳細なカルシウムシグナルと活動電位の関係を調べるために生体内における活動電位とカルシウムシグナルの同時計測技術の確立が期待される。

### 3-3. カルシウムイオン動態と閉合運動の関係

葉身における蛍光輝度の変化を定量的に解析したところ、輝度は2度の接触刺激に応じて加算的に増加し、2度目の刺激後の最大輝度は1度目の刺激後の最大輝度よりも高かった。ロジスティック回帰分析の結果から、2度目の刺激直前と2度目の刺激後の最大の細胞内カルシウムイオン濃度には運動を引き起こす特定の閾値が存在することが明らかになった。また、2度の刺激の時間間隔と運動の関係をロジスティック回帰分析によって調べたところ、1度目の刺激後の最大輝度から30.88秒経過すると2度目の刺激で運動が起こらなくなることが分かり、既往研究で計測されていた記憶を維持できる時間とほぼ一致していた (Brown & Sharp, 1910)。1度目の刺激によって上昇した蛍光輝度は2度目の刺激を与えなければ時間経過によって徐々に減衰し、30.88秒後には運動を引き起こす輝度の閾値の95%信頼区間まで達したことから、カルシウムイオン濃度が閾値以下まで減衰するのにかかる時間とハエトリソウが記憶を保持できる時間は一致することが分かった。

2度の接触刺激以外の方法でカルシウムイオン動態と運動の関係を調べたところ、(1) 1度目の刺激から30秒以上経過してから2度目の刺激を与えた場合にはカルシウムイオン濃度は閾値に到達せず運動が起こらないが、続けて3度目の刺激を与えると輝度が閾値に到達してから運動が起こる。(2) 葉を葉柄で切断して切断面を水に浸すと接触刺激を与えずとも、輝度が2度上昇し閾値に到達してから葉が閉合する。(3) カルシウムチャンネル阻害剤であるランタンイオンを用いて、カルシウムイオン濃度の上昇を阻害すると、1度目の刺激によって輝度の上昇が観察されるが、2度目以降の刺激では輝度はほとんど上昇せずに閾値に

到達せず、運動が起こらないということが分かった。これらの結果は細胞内カルシウムイオン濃度が2回の刺激で加算的に増加し、閾値を超えたときにのみ葉身運動が起こるとする仮説を支持していた (図3)。以上のことから、ハエトリソウでは獲物からの接触刺激を感受すると細胞内のカルシウムイオン濃度が上昇すること、また、2度の刺激に応じた細胞内カルシウムイオンの動態によって閉合運動の制御機構を説明できることが明らかになった。

#### 4. おわりに

ハエトリソウの形質転換技術が確立されたことで逆遺伝学を用いた分子機構の解析が可能となった。近年はカルシウムイオンのみならず、クロライドイオンやカリウムイオン、さらにはホルモン分子に結合するバイオセンサーの開発も進んでいる (Larrieu et al., 2015; Zhong et al., 2014; Shen et al., 2019)。様々なバイオセンサーを導入した生体の解析によって、活動電位を始めとした秒単位の生理現象の分子メカニズムが明らかになると考えられる。また、形質転換技術は外来遺伝子の導入のみならず、CRISPR-Cas9 システムを用いた遺伝子ノックアウト技術に应用することができる。どのような遺伝子がハエトリソウの捕虫・消化・吸収機構に関わるのか解析が進むことによって、獲物と食虫植物の相互作用に関わる新たな分子メカニズムが明らかになることが期待される。

#### 謝辞

本稿で紹介した研究を進めるにあたりご指導をいただきました、基礎生物学研究所の長谷部光泰 教授および真野弘明 特任助教、埼玉大学の豊田正嗣 准教授、Würzburg 大学の Rainer Hedrich 教授および福島健児 博士、神戸大学の三村徹郎 名誉教授、一橋大学の筒井泉雄 特任教授、宇都宮大学の玉田洋介 准教授にこの場を借りてお礼を申し上げます。また、研究の遂行にあたり植物栽培をご支援いただきました基礎生物学研究所モデル植物研究支援室および松崎陽子 技術支援員、ベクターを分与いただきました日本たばこ産業株式会社およびナショナルバイオリソースプロジェクト (ミヤコグサ・大豆) に感謝申し上げます。本研究は、日本学術振興会 (課題番号 17J08569, 17H05007, 18H05491, 18H04790, 6K14761, 17H06390) および DFG-funded Reinhart Koselleck project (HE 1640/42-1) による支援を得て行われました。最後に、本総説の執筆機会をくださいました東北大学の経塚淳子 教授、熊本大学の澤進一郎 教授に感謝申し上げます。

#### 引用文献

- Bemm, F., Becker, D., Larisch, C., Kreuzer, I., Escalante-perez, M., Schulze, W.X., Ankenbrand, M., Weyer, A. Van De, Krol, E., Al-rasheid, K.A., Mithöfer, A., Weber, A.P., Schultz, J., & Hedrich, R. 2016. Venus flytrap carnivorous lifestyle builds on herbivore defense strategies. *Genome Res.* 26: 812–825.
- Benolken, R.M. & Jacobson, S.L. 1970. Response properties of a sensory hair excised from Venus's flytrap. *J. Gen. Physiol.* 56: 64–82.
- Böhm, J., Scherzer, S., Krol, E., Kreuzer, I., von Meyer, K., Lorey, C., Mueller, T.D., Shabala, L., Monte, I., Solano, R., Al-Rasheid, K.A.S., Rennenberg, H., Shabala, S., Neher, E., & Hedrich, R. 2016. The

- Venus Flytrap *Dionaea muscipula* Counts Prey-Induced Action Potentials to Induce Sodium Uptake. *Curr. Biol.* 26: 286–295.
- Brown, W.H. & Sharp, L.W.. 1910. The Closing Response in *Dionaea*. *Bot. Gaz.* 49: 290–302.
- Brown, W.H. (1916). The Mechanism of Movement and the Duration of the Effect of Stimulation in the Leaves of *Dionaea*. *Am. J. Bot.* 3: 68.
- Buchen, B., Hensel, D., & Sievers, A. 1983. Polarity in mechanoreceptor cells of trigger hairs of *Dionaea muscipula* Ellis. *Planta* 158: 458–468.
- Burdon Sanderson, J. 1872. Note on the electrical phenomena which accompany irritation of the leaf of *Dionaea muscipula*. *Proc. R. Soc. London* 21: 495–496.
- Chen, T.-W., Wardill, T.J., Sun, Y., Pulver, S.R., Renninger, S.L., Baohan, A., Schreiter, E.R., Kerr, R.A., Orger, M.B., Jayaraman, V., Looger, L.L., Svoboda, K., & Kim, D.S. 2013. Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature* 499: 295–300.
- Darwin, C. 1875. Insectivorous plants. Murray, J.. London.
- Ellis, J. & Linné, C. von 1770. Directions for bringing over seeds and plants, from the East-Indies and other distant countries, in a state of vegetation : together with a catalogue of such foreign plants as are worthy of being encouraged in our American colonies, for the purposes of me. Davis, L.. London.
- Ellison, A.M. 2006. Nutrient Limitation and Stoichiometry of Carnivorous Plants. *Plant Biol.* 8: 740–747.
- Escalante-Pérez, M., Krol, E., Stange, A., Geiger, D., Al-Rasheid, K.A.S., Hause, B., Neher, E., & Hedrich, R. 2011. A special pair of phytohormones controls excitability, slow closure, and external stomach formation in the Venus flytrap. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108: 15492–7.
- Fagerberg, W.R. & Allain, D. 1991. A Quantitative Study of Tissue Dynamics During Closure in the Traps of Venus's Flytrap *Dionaea muscipula*. *Am. J. Bot.* 78: 647–657.
- Forterre, Y., Skotheim, J.M., Dumais, J., & Mahadevan, L. 2005. How the Venus flytrap snaps. *Nature* 433: 421–425.
- Hedrich, R. & Neher, E. 2018. Venus Flytrap: How an Excitable, Carnivorous Plant Works. *Trends Plant Sci.* 23: 220–234.
- Hellens, R., Mullineaux, P., & Klee, H. 2000. Technical Focus: A guide to *Agrobacterium* binary Ti vectors. *Trends Plant Sci.* 5: 446–451.
- Hodick, D. & Sievers, A. 1989. On the mechanism of trap closure of Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis). *Planta* 179: 32–42.
- Hodick, D. & Sievers, A. 1988. The action potential of *Dionaea muscipula* Ellis. *Planta* 174: 8–18.
- Iijima, T. & Sibaoka, T. 1983. Movements of K<sup>+</sup> during shutting and opening of the trap-lobes in *Aldrovanda vesiculosa*. *Plant Cell Physiol.* 24: 51–60.
- Joel, D.M., Rea, P.A., & Juniper, B.E. 1983. The cuticle of *Dionaea muscipula* Ellis (Venus's Flytrap) in relation to stimulation, secretion and absorption. *Protoplasma* 114: 44–51.
- Juniper, B.E., Robins, R.J., & Joel, D.M. 1989. The Carnivorous Plants. Academic Press. London.
- Komari, T., Takakura, Y., Ueki, J., Kato, N., Ishida, Y., & Hiei, Y. 2006. Binary Vectors and Super-binary Vectors. *Methods Mol. Biol.* 343: 15–42.

- Krol, E., Dziubinska, H., Stolarz, M., & Trebacz, K. 2006. Effects of ion channel inhibitors on cold- and electrically-induced action potentials in *Dionaea muscipula*. *Biol. Plant.* 50: 411–416.
- Larrieu, A., Champion, A., Legrand, J., Lavenus, J., Mast, D., Brunoud, G., Oh, J., Guyomarc'h, S., Pizot, M., Farmer, E.E., Turnbull, C., Vernoux, T., Bennett, M.J., & Laplaze, L. 2015. A fluorescent hormone biosensor reveals the dynamics of jasmonate signalling in plants. *Nat. Commun.* 6: 6043.
- Libiaková, M., Floková, K., Novák, O., Slovák, L., & Pavlovič, A. 2014. Abundance of cysteine endopeptidase dionain in digestive fluid of Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis) is regulated by different stimuli from prey through jasmonates. *PLoS One* 9: e104424.
- Macfarlane, J.M. 1892. Contributions to the history of *Dionaea muscipula* Ellis. *Contr. Bot. Lab. Univ. Pennsylvania* 1: 7–44.
- Maekawa, T., Kusakabe, M., Shimoda, Y., Sato, S., Tabata, S., Murooka, Y., & Hayashi, M. 2008. Polyubiquitin Promoter-Based Binary Vectors for Overexpression and Gene Silencing in *Lotus japonicus*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21: 375–382.
- Mano, H., Fujii, T., Sumikawa, N., Hiwatashi, Y., & Hasebe, M. 2014. Development of an Agrobacterium-Mediated Stable Transformation Method for the Sensitive Plant *Mimosa pudica*. *PLoS One* 9: e88611.
- Palfalvi, G., Hackl, T., Terhoeven, N., Shibata, T.F., Nishiyama, T., Ankenbrand, M., Becker, D., Förster, F., Freund, M., Iosip, A., Kreuzer, I., Saul, F., Kamida, C., Fukushima, K., Shigenobu, S., Tamada, Y., Adamec, L., Hoshi, Y., Ueda, K., Winkelmann, T., Fuchs, J., Schubert, I., Schwacke, R., Al-Rasheid, K., Schultz, J., Hasebe, M., & Hedrich, R. 2020. Genomes of the Venus Flytrap and Close Relatives Unveil the Roots of Plant Carnivory. *Curr. Biol.* 30: 2312-2320.e5.
- Di Palma, J.R., Mohl, R., & Best, W. 1961. Action Potential and Contraction of *Dionaea muscipula* (Venus Flytrap). *Science.* 133: 878–879.
- Poppinga, S., Masselter, T., & Speck, T. 2013. Faster than their prey: New insights into the rapid movements of active carnivorous plants traps. *BioEssays* 35: 649–657.
- Samejima, M. & Sibaoka, T. 1980. Changes in the extracellular ion concentration in the main pulvinus of *Mimosa pudica* during rapid movement and recovery. *Plant Cell Physiol.* 21: 467–479.
- Scherzer, S., Böhm, J., Krol, E., Shabala, L., Kreuzer, I., Larisch, C., Bemm, F., Al-Rasheid, K.A.S., Shabala, S., Rennenberg, H., Neher, E., & Hedrich, R. 2015. Calcium sensor kinase activates potassium uptake systems in gland cells of Venus flytraps. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112: 7309–14.
- Scherzer, S., Krol, E., Kreuzer, I., Kruse, J., Karl, F., von Rüden, M., Escalante-Perez, M., Müller, T., Rennenberg, H., Al-Rasheid, K.A.S., Neher, E., & Hedrich, R. 2013. The *Dionaea muscipula* Ammonium Channel *DmAMT1* Provides NH<sub>4</sub><sup>+</sup> Uptake Associated with Venus Flytrap's Prey Digestion. *Curr. Biol.* 23: 1649–1657.
- Schulze, W.X., Sanggaard, K.W., Kreuzer, I., Knudsen, A.D., Bemm, F., Thogersen, I.B., Bräutigam, A., Thomsen, L.R., Schliesky, S., Dyrland, T.F., Escalante-Perez, M., Becker, D., Schultz, J., Karring, H., Weber, A., Hojrup, P., Hedrich, R., & Enghild, J.J. 2012. The Protein Composition of the Digestive Fluid from the Venus Flytrap Sheds Light on Prey Digestion Mechanisms. *Mol. Cell.*

*Proteomics* 11: 1306–1319.

- Shen, Y., Wu, S.-Y., Rancic, V., Aggarwal, A., Qian, Y., Miyashita, S.-I., Ballanyi, K., Campbell, R.E., & Dong, M. 2019. Genetically encoded fluorescent indicators for imaging intracellular potassium ion concentration. *Commun. Biol.* 2: 18.
- Sibaoka, T. 1980. Action Potentials and Rapid Plant Movements. Skoog, F. (ed) *Plant Growth Substances*. 462–469. Springer-Verlag, Berlin.
- Sibaoka, T. 1966. Action potentials in plant organs. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 20: 49–73.
- 柴岡孝雄 1981. 動く植物. 東京大学出版会. 東京.
- Sims, J. 1804. [785]DIONAEA MUSCIPULA. VENUS'S FLY-TRAP. Sims, J. (ed) *Curtis's botanical magazine*. 20: 785. Couchman, S.. London.
- Suda, H., Mano, H., Toyota, M., Fukushima, K., Mimura, T., Tsutsui, I., Hedrich, R., Tamada, Y., & Hasebe, M. 2020. Calcium dynamics during trap closure visualized in transgenic Venus flytrap. *Nat. Plants* 6: 1219–1224.
- Toriyama, H. 1955. Observational and experimental studies of sensitive plants VI. The migration of potassium in the primary pulvinus. *Cytologia (Tokyo)*. 20: 367–377.
- Toyota, M., Spencer, D., Sawai-Toyota, S., Jiaqi, W., Zhang, T., Koo, A.J., Howe, G.A., & Gilroy, S. 2018. Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science*. 361: 1112–1115.
- Wang, J., Wu, D., Wang, Y., & Xie, D. 2019. Jasmonate action in plant defense against insects. *J. Exp. Bot.* 70: 3391–3400.
- Williams, S.E. & Bennett, A.B. 1982. Leaf Closure in the Venus Flytrap: An Acid Growth Response. *Science*. 218: 1120–1122.
- Zhong, S., Navaratnam, D., & Santos-Sacchi, J. 2014. A Genetically-Encoded YFP Sensor with Enhanced Chloride Sensitivity, Photostability and Reduced pH Interference Demonstrates Augmented Transmembrane Chloride Movement by Gerbil Prestin (SLC26a5). *PLoS One* 9: e99095.

## 寄生植物の吸器形成と宿主侵入におけるエチレンの役割

ツイ スンクイ<sup>1</sup>, 吉田 聡子<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域  
〒639-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5

### **Roles of ethylene in parasitic plant haustorium formation and host invasion**

Songkui Cui<sup>1</sup>, Satoko Yoshida<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Division of Biological Sciences, Graduate School of Science and Technology, Nara Institute of Science and Technology

<sup>2</sup>PRESTO, JST

8916-5 Takayama-cho, Ikoma, Nara 630-0192, Japan

Keywords: Parasitic plant, Orobanchaceae, ethylene, haustorium, host infection

DOI: 10.24480/bsj-review.12b4.00205

#### 1. はじめに

寄生植物とは、他の高等植物の組織内に侵入し、維管束をつなげて水や栄養分を吸収して生育する植物である。寄生植物は全被子植物の約1%を占める4500種ほど存在し、その分類群は約20科280属と多岐にわたる (Rubiales and Heide-Jørgensen, 2011)。系統解析から、寄生植物は12-13回の独立した進化により出現したと推測されている (Westwood et al., 2010)。これらの多岐にわたる寄生植物種の共通項は、「吸器」とよばれる寄生器官を形成することである。ラフレシア (Rafflesiaceae 科植物) などの菌糸状の内生吸器を作る植物を除き、吸器は植物の根または茎の一部が変形して形成されたもので、宿主への付着・侵入する機能を持ち、最終的には宿主と寄生植物の維管束の連結を行うことで、栄養の吸収器官として機能する (Yoshida et al., 2016)。吸器は、寄生植物に特異的な器官であり、その発生過程では、宿主植物との相互作用によって細胞のアイデンティティと機能を変化させ、巧みに寄生を成立させる様子が観察される (Wakatake et al., 2018)。しかし、吸器の発生と宿主への侵入がどのような遺伝プログラムによって誘導され制御されているのかはほとんど未解明である。

私たちは、寄生植物の日本に自生するハマウツボ科寄生植物であるコシオガマ (*Phtheirospermum japonicum*) をモデル寄生植物と位置付け、研究に取り組んでいる。ハマウツボ科寄生植物の中には、アフリカ半乾燥地域でイネ科作物に寄生する *Striga* 属植物 (以後、ストライガと呼ぶ) や、中東地域や南ヨーロッパで野菜や花卉に寄生する *Orobanche* 属および *Phelipanche* 属植物など、大きな農業被害をもたらしている植物が含まれている。なかでもストライガは、トウモロコシやソルガム、イネなどの主食となる穀物に寄生し、著しく収量を減らすため、毎年10億ドルをこえる被害を出している (Mutuku and Shirasu, 2019)。これらの寄生雑草の効果的な防除法の開発には、寄生の仕組みを分子レベルで解明することが重要

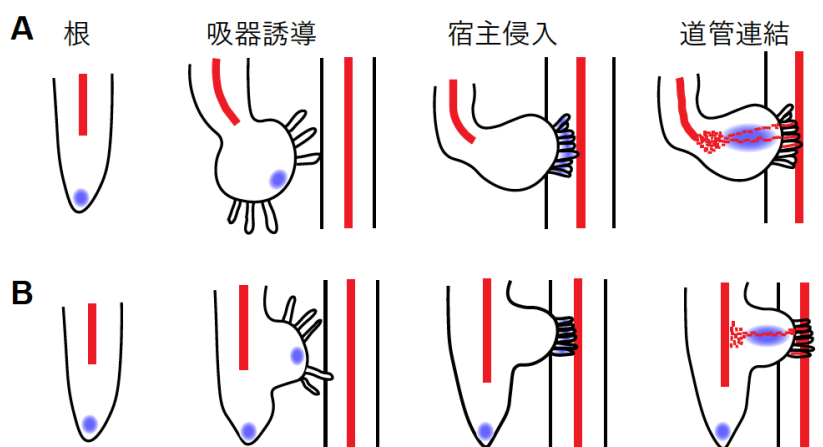


な課題である。宿主へ寄生しないと生育することができないストライガやオロバンキなどの絶対寄生植物と異なり、コシオガマは宿主なしで独立栄養で育つことができる条件的寄生植物である。そのため、研究室での取り扱いが容易で、寄生ができない変異体を単離できるという利点がある。これまでに、コシオガマを用いて毛状根形質転換法の確立や変異体の単離、マーカー遺伝子や逆遺伝学的手法を用いた重要因子の単離など、様々な解析に取り組んできた (Ishida et al., 2011; Cui et al., 2016; Ishida et al., 2016; Wakatake et al., 2018; Wakatake et al., 2020)。最近私たちは、コシオガマを用いた分子遺伝学的な解析から、寄生植物の宿主侵入にエチレンシグナルが必須であることを明らかにした (Cui et al., 2020)。本稿では、その発見を中心に、寄生植物の吸器の形成と侵入時におこる宿主植物の相互作用について紹介したい。

## 2. ハマウツボ科寄生植物の吸器形成

寄生植物の生活環も通常的高等植物と同様に、発芽から始まる (Mutuku et al., 2020)。ストライガなどのハマウツボ科の絶対寄生植物の発芽には、宿主由来のストリゴラクトンが必要なことが古くから知られており (Cook et al., 1966)、近年の精力的な研究によってストリゴラクトンの様々な生理作用やその受容機構が次々と明らかにされている。ストリゴラクトンに関しては、多くの優れた総説が出版されているので、そちらを参照されたい (Xie and Yoneyama, 2010; Al-babili and Bouwmeester, 2015; Tsuchiya et al., 2018)。コシオガマなどの条件的寄生植物の発芽は、独立栄養植物と同様に宿主によって制御されない。すなわち、ハマウツボ科条件的寄生植物の宿主認識は、吸器の形成から始まる。

寄生植物にとって吸器の形成は、独立栄養から従属栄養への転換点となる重要なステップである。ハマウツボ科寄生植物は根に吸器を形成し、宿主植物の根に侵入して維管束をつなぐ (図 1)。ストライガなどの絶対寄生植物は、主根の根端を吸器に変形させ、宿主根へ侵入する。絶対寄生植物のシュートの生育には寄生の成立が必要であり、吸器の形成と宿主への侵入は絶対寄生植物の生存にとって必須の過程である (図 1A)。一方で、コシオガマなどの条件的寄生植物は、主根および側根の側方に吸器を形成する。根端の伸長領域が吸器へと変化するが、根端分裂組織は維持されたままであり、成長を続けることができる。そのため、吸器の形成は条件的寄生植物の生存にとっては必須ではなく、また、一つの根にいくつもの吸器を形成することができる (Yoshida et al., 2016) (図 1B)。



**図 1** ハマウツボ科寄生植物の寄生過程

ストライガ(A)とコシオガマ(B)の吸器形成および宿主侵入過程。赤い線は道管細胞を青い領域は細胞分裂が特に活性化している領域を示す。侵入細胞は分化後も分裂する (Masumoto et al. 2020)。道管形成に先立って吸器の中心領域では細胞分裂が活発化し、前形成層マーカー遺伝子の発現が確認される (Wakatake et al., 2018)。

吸器の形成は、宿主由来の低分子化合物によって誘導される。最も代表的な吸器誘導物質として知られるのは、ストライガの吸器誘導物質として宿主であるソルガム (*Sorghum bicolor*) から単離された 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone (DMBQ) である (Chang and Lynn, 1986)。その後、キノンやフェノール酸、フラボノイドなど、類似の構造をもつ化合物も同様に吸器の誘導活性をもつことが報告された (Albrecht et al., 1999; Goyet et al., 2019)。これらの吸器誘導物質には、共通した構造がみられる。芳香環のパラ位にヒドロキシ基を持ち、その両隣または片隣のメタ位にメトキシ基を持つ構造である。この構造は、二次細胞壁の主要成分であるリグニンのモノマーと類似しており、実際にリグニンの代謝経路を改変した植物では、寄生植物の吸器誘導率が変化することから、宿主のリグニン代謝経路が吸器誘導物質の産生に関わると考えられている (Cui et al., 2018)。一方で、宿主植物による吸器誘導活性は DMBQ や他の吸器誘導物質単体よりも高く、宿主由来の吸器誘導物質が本当に DMBQ だけなのかは疑問が残っている。

DMBQ の受容機構は長年未解明であったが、最近、シロイヌナズナを使った研究により、細胞膜局在型の受容体様キナーゼである CANNOT RESPOND TO DMBQ 1 (CARD1) を介して受容されることが報告された (Laohavisit et al., 2020)。これまで DMBQ は独立栄養植物に対してシグナルとして働くことは知られていなかったが、シロイヌナズナは DMBQ に応答して細胞質カルシウムを上昇させ、免疫応答を活性化することが明らかになった。シロイヌナズナ *card1* 変異体は、DMBQ によるカルシウム上昇や、免疫応答の活性化を示さなかった。ストライガやコシオガマにも CARD1 のホモログ遺伝子 CARD1-LIKE (CADL) が存在し、CADL 遺伝子はシロイヌナズナの *card1* 変異体のカルシウム上昇不全の表現型を相補することから、寄生植物においても DMBQ の受容にはたらくと推測される (Laohavisit et al., 2020)。シロイヌナズナ CARD1 は、別のグループにより細胞外 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> のセンサーとしても報告されている (Wu et al., 2020)。いずれの報告でも、細胞外ドメインにあるシステイン残基がシグナル受容に重要であることが示されており、CARD1 を介したシグナル伝達に酸化還元シグナルが関与していると考えられる。吸器誘導には、活性酸素種の生成や酸化還元電位が重要であることが知られており (Bandaranayake et al., 2010; Ishida et al., 2017; Wada et al., 2019; Wang et al., 2019)、酸化還元シグナルを介した受容機構によって、吸器形成が誘導されていると推測される。

吸器誘導シグナルを受容したコシオガマでは維管束から表皮細胞に至る全ての細胞層の分裂を活性化して、コブ状の吸器を形成する (Wakatake et al., 2018)。吸器の表皮細胞は一部は吸器毛と呼ばれる根毛状の細胞に変化し、吸器の先端部では分裂活性の高いメリステム様の細胞群ができる (Cui et al., 2016)。誘導初期には、吸器形成部位の表皮細胞でオーキシシン合成酵素をコードする *YUCCA3* 遺伝子の発現がみられる (Ishida et al., 2016)。*YUCCA3* 遺伝子の発現部位は、やがて吸器先端の細胞群に集約し、同領域ではオーキシシン応答マーカーの活性化も観察される。*YUCCA3* のノックダウンで吸器の形成率が減少することから、吸器先端部でのオーキシシン合成は吸器形成に重要であると考えられる (Ishida et al., 2016)。吸器の先端部が宿主根に到達すると、侵入細胞と呼ばれる特殊な細長い細胞が形成される (Ogawa et al., 2020)。侵入細胞は維管束に到達すると、その一部を道管細胞へと変化させ、宿主と寄生植物をつなぐ道管連結 (Xylem bridge) を構築する (Masumoto et al., 2020; Wakatake et al., 2020) (図 1)。

### 3. モデル寄生植物コシオガマを用いた遺伝学的な解析

寄生植物の吸器形成は、上述のように宿主との相互作用に応じて刻々とその細胞の形態と機能を変化させるプロセスである。しかし、吸器形成を制御する遺伝プログラムはほとんど明らかになっていない。その理由として、これまで、寄生植物では遺伝学的な実験系が確立していなかったことが挙げられる。そこで私たちは、自家受粉できる 2 倍体植物であり、実験室での生育が容易なコシオガマを用いて順遺伝学的な実験系を構築した。コシオガマに ethyl methanesulfonate (EMS) 処理をして変異体ラインを作出し、DMBQ 処理によって吸器を誘導し、吸器の形成に異常が生じる変異体をスクリーニングした (Cui et al., 2016)。同時に、毛状根形質転換法を確立し、遺伝子の機能解析ができる系を構築した (Ishida et al., 2011)。

続いて、コシオガマのゲノム解読を行った。コシオガマの野生型として、岡山で採取された株を用い、自殖を繰り返してゲノムのヘテロ接合度を低下させた系統で解析をおこなった。illumina シーケンサーと PacBio シーケンサーを組み合わせ、ゲノムをアセンブリすると、N50 scaffold の長さが 1.29 Mbp と比較的長いアセンブリを得ることができた。さらに、トランスクリプトーム解析の結果を用いて 30,000 個ほどの遺伝子アノテーションを得た (Cui et al., 2020)。この野生型のゲノムを変異体の原因遺伝子同定に用いた (後述)。

変異体の探索から入る順遺伝学的方法の利点は、遺伝子の機能などの先行知識がなくても重要因子にたどり着ける可能性が高い点である。狙った遺伝子をノックアウトまたはノックダウンする方法では、ある遺伝子の機能損失によって異常な表現型が生じるという予測に基づいておこなうことになるが、解析できる遺伝子の数は限られ、全く未知の重要遺伝子を発見することは困難である。しかし、変異体の単離から入る方法であれば、野生型とは表現型が異なるという一点において、数万個体からのスクリーニングが可能であり、寄生植物の吸器形成のような知見の少ない現象を制御する新規遺伝子の単離が可能になる。

また、表現型の解析を通して背後にある遺伝プログラムの機能を類推できる点も利点としてあげられる。私たちは、コシオガマの変異体スクリーニングから根毛と吸器毛を欠損した *haustorial hair defective (hhd)* 変異体を単離した。この変異体の表現型解析から、吸器毛が根毛と同じプログラムで制御されていること、侵入細胞は根毛形成とは無関係であること、また、吸器毛が宿主への付着に寄与していることを明らかにした (Cui et al., 2016)。

### 4. 寄生植物コシオガマのエチレン非感受性変異体

私たちは、上述のスクリーニングから、吸器が長くなるという興味深い表現型を示す変異体を単離した。通常、DMBQ 培地で吸器を誘導した際には、根の側部が細胞分裂を開始し、コブ状の吸器形態ができる。しかし、この状態の吸器は「前駆吸器」と呼ぶべき状態で、内部の維管束組織の発達は見られず、ただ、根の細胞が分裂、肥大しただけのものである。野生型の吸器は DMBQ 培地上では 2 日ほどでその成長を止める。しかし、変異体を DMBQ 培地上におくと、吸器の長さは 3 日目以降も伸長を続け、内部には道管の発達が見られた (Cui et al., 2020)。このことは、DMBQ 培地上での吸器の発達停止には、何らかの遺伝学的プログラムが働いているということを意味する。

この吸器の伸長調節は、吸器先端部のメリステム様細胞の分裂によって調節されている。野

生型の吸器では DMBQ 処理 2 日でその分裂を停止するが、変異体では、処理 3 日目以降も吸器メリステム細胞の分裂が観察された (Cui et al., 2020)。分裂時にはメリステム領域でオーキシン応答がみられるが、分裂停止時にはみられないことから、この細胞分裂はオーキシンの局在によって制御されていると考えられる。

さらに興味深いことに、この変異体は宿主への侵入に異常が生じていることが明らかになった。野生型では、宿主の根に接すると、先端のメリステム様細胞が侵入細胞に変化し宿主へ侵入するが、変異体の多くの吸器では、宿主根に接触しても侵入細胞が形成されず、そのまま通り過ぎてしまう (Cui et al., 2020) (図 2)。すなわち、変異体の原因遺伝子は吸器の先端細胞の分裂停止と侵入細胞へ分化に必須な遺伝子である、と考えられた。

変異体はほぼ同様の表現型で 2 ラインあり、一つのラインは劣勢変異、もう一つのラインは優勢変異であった。野生型に戻し交雑を行い、戻し交雑 1 世代目 (F1 世代) を自殖し、戻し交雑 2 世代目 (F2 世代) を作出した。F2 世代で変異体の表現型がみられる約 50 個体からゲノム DNA を抽出し、illumina シーケンサーによって解析したのち野生型ゲノム配列と比較した。非特異的な変異をフィルタリングすることで、変異体に特異的に保存されているアミノ酸変異を抽出すると、劣勢変異体では片手に収まるほどの数にまで候補遺伝子を絞ることができる。優勢変異のラインでは、変異体親株のシーケンスも行うことにより、特異的な変異の同定を進めたが、約 40 ほどの候補遺伝子が残った。得られた候補遺伝子の中で、劣勢変異のラインでは植物ホルモンであるエチレンのシグナル伝達の鍵因子である *ETHYLENE INSENSITIVE 2 (EIN2)* のホモログが、優勢変異のラインはエチレンの受容体をコードする *ETHYLENE RESPONSE 1 (ETR1)* のホモログが特異的な変異を持つ遺伝子として検出された (Cui et al., 2020)。

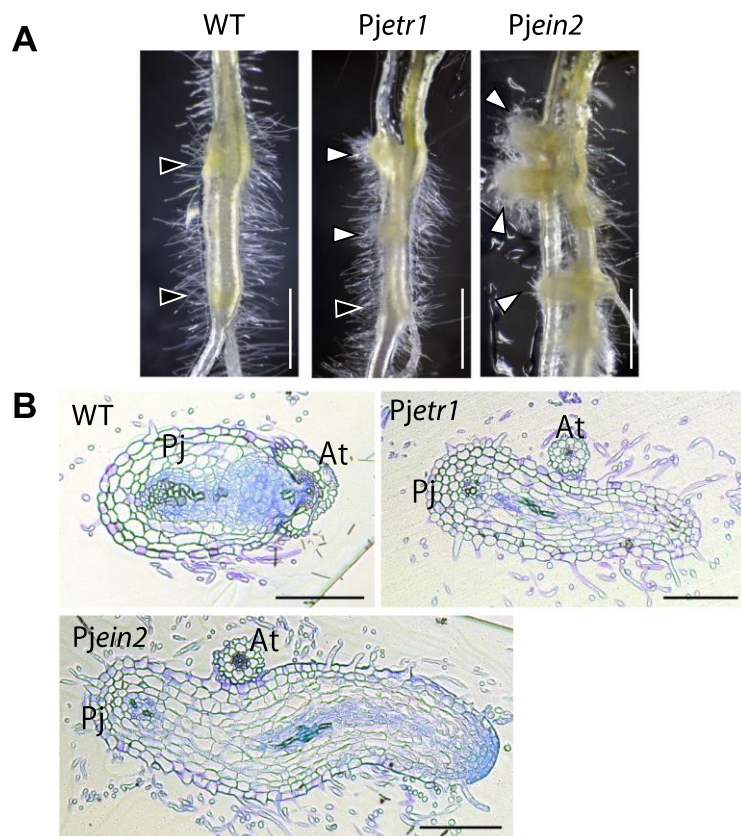


図 2 コシオガマ *etr1* および *ein2* 変異体の表現型

A, 野生型シロイヌナズナに寄生した野生型コシオガマと *Pjetr1*, *Pjein2* 変異体。黒鏽が侵入に成功した吸器を、白鏽が侵入できなかった吸器を示す。B, シロイヌナズナに寄生させて 5 日目の野生型および変異体コシオガマの横断切片画像。野生型コシオガマ (WT) ではシロイヌナズナの中心柱にコシオガマが侵入しているが、*Pjetr1*, *Pjein2* 変異体では、侵入できずに素通りする。Pj: コシオガマ, At: シロイヌナズナ。スケールバーは A: 1 mm, B: 200  $\mu$ m。

*EIN2* と *ETR1* はいずれも植物ホルモンであるエチレンのシグナル伝達における重要因子である。*ETR1* はエチレン受容体をコードし、シロイヌナズナでは *ETR1* の優勢変異によってエチレン非感受性になることが知られている (Hall et al., 2012)。*EIN2* は小胞体膜局在型のシグナル因子でエチレン存在下で C 末側が切断されて核に移行することでシグナルを伝達する。*EIN2* の機能欠損変異体はやはりエチレン非感受性である (Ju et al., 2012)。ほとんど同じ表現型を示す 2 系統の変異体がエチレンのシグナル伝達系に異常を生じていたため、コシオガマの吸器の伸長停止と宿主侵入は、エチレンのシグナル伝達異常によるものと予想した。実際、コシオガマの変異体はエチレンに対して非感受性を示し、野生型の *EIN2* をコシオガマ *ein2* 変異体に再導入すると表現型が回復することから、コシオガマ変異体の表現型は *ETR1* と *EIN2* に生じた変異によることが証明された (Cui et al., 2020)。

## 5. 寄生植物とエチレン

変異体の解析から、吸器の伸長停止と侵入細胞の分化のエチレンのシグナル伝達が必要であることが明らかになった。では、エチレンはどこからくるのであろうか？DMBQ などの吸器誘導物質培地上では、吸器形成は誘導されるが、宿主は存在しない状態である。そのため、エチレンは寄生植物によって生産されると考えられる (図 3)。同じハマウツボ科の条件的寄生植物である *Triphysaria versicolor* の培養根では、DMBQ 処理によりエチレン産生が促進されることが報告されている (Tomilov et al., 2005)。

吸器の伸長停止は、宿主がない状態で吸器の伸長を続けエネルギーを無駄に消費することを防ぐ仕組みだと考えられる。逆に、宿主が近傍にいる状態であれば、宿主に到達するまで吸器の伸長を続け、宿主へ到達することが寄生成立には必要である。つまり、寄生植物は宿主の存在の有無を認識し、吸器の伸長を制御していると推測できる。実際に、宿主植物の根の抽出液や滲出液の存在下では、野生型においても一部の吸器が変異体の様な長く伸びた形態を示す (Cui et al., 2020)。このことは、宿主の滲出液や抽出液に含まれる物質が吸器の伸長を促すことを示唆している。エチレンシグナルの阻害が吸器伸長を促すことから、宿主滲出液に含まれる物質がエチレンのシグナル阻害物質である可能性もあるが、宿主の抽出液にエチレンを加えると吸器の長さは DMBQ による誘導と同程度に戻ることから (Cui et al., 2020)、単純な下流経路の阻害とは考えにくい。もう一つの可能性として、DMBQ は免疫応答を誘導してエチレンを発生させるのに対し、宿主の滲出液に含まれる吸器誘導物質はエチレンを発生させない可能性もある。宿主由来吸器誘導物質には DMBQ とは異なるものが含まれているか、何らかの複合的な効果でエチレン発生を抑えているのかもしれない。いずれにしろ、宿主の根の滲出液には、寄生植物に対してこれまでに知られていない効果を持つような物質が含まれている可能性が高い。

寄生植物のエチレンシグナル変異体が宿主侵入異常の表現型を示すことから、宿主への侵入にエチレンのシグナル伝達が必須であることが明らかになった。この際のエチレンは宿主が産生していると考えられる。エチレン生合成経路を欠損したシロイヌナズナ変異体では、野生型コシオガマの侵入の成功率が有意に下がる (Cui et al., 2020)。コシオガマの吸器は、宿主のエチレンを認識して吸器の先端細胞の分裂を停止し侵入細胞に分化させることで侵入す

ると考えられる (図 3)。興味深いことに、ヒルガオ科に属する茎寄生植物であるアメリカネナシカズラ (*Cuscuta campestris*) でも、宿主侵入に宿主由来のエチレンが必要であることが明らかにされた (Narukawa et al., 2020)。アメリカネナシカズラは、探索糸 (searching hyphae) とよばれる細長い細胞を形成し、宿主へ侵入する。エチレン合成酵素を欠損したシロイヌナズナ変異体に侵入したアメリカネナシカズラでは、探索糸の長さが有意に短くなり、また探索糸細胞の核内倍加が抑制されることが示された (Narukawa et al., 2020)。探索糸はハマウツボ科寄生植物の侵入細胞と同等の機能を持つと考えられている。これらの結果は、系統的に離れた寄生植物種が、収斂進化によって宿主のエチレンによる侵入細胞の分裂と分化の制御機構を獲得した可能性を示唆している。

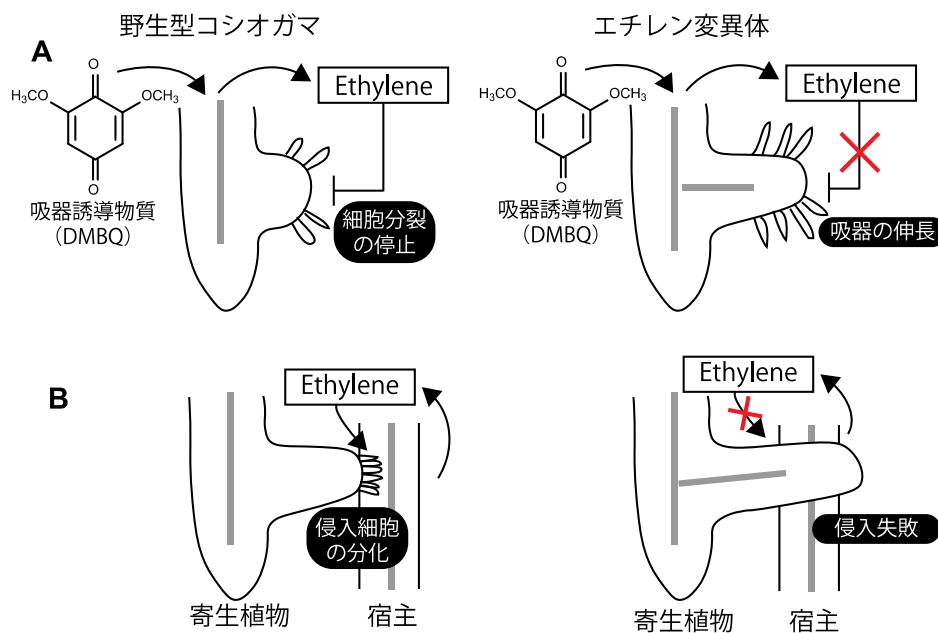


図3 寄生植物の吸器形成と宿主侵入におけるエチレンの役割

A, 吸器誘導物質による吸器誘導の場合。野生型コシオガマでは、吸器誘導物質シグナルをうけて寄生植物でエチレン合成が起り、吸器先端細胞の分裂が停止し、吸器伸長が停止する。エチレン変異体(Pjetrl, Pjein2)はエチレンに非感受性のため、吸器が伸長し続ける。B, 宿主感染時。野生型コシオガマでは、寄生植物の吸器先端が宿主へ到達すると、宿主で局所的なエチレン合成が起り、吸器先端細胞が分裂を停止し侵入細胞へ分化する。エチレン変異体では、エチレンを感受できず、分裂を止めることができずに通り過ぎてしまう。灰色のラインは道管を示す。

エチレンは一般的には、病原菌や病害虫が感染した時の防御応答ホルモンとして知られている。寄生植物は、宿主の防御応答反応を自身が宿主を見つけるシグナルとして利用しているのであろうか？ネナシカズラの一つである *Cuscuta reflexa* が抵抗性のトマト (*Solanum lycopersicum*) に感染する際には、トマトからエチレンが放出され抵抗性が発揮される (Hegenauer et al., 2016)。一方で、アメリカネナシカズラやコシオガマがシロイヌナズナに侵入する際にも、エチレン合成が起こっていると考えられるが、抵抗性は発揮されない。寄生植物の侵入の際の宿主のエチレン合成は極めて微量かつ局所的に起こっていると考えられる。植物寄生性のシスト線虫の感染などの一細胞に対する傷害が、局所的なエチレン応答を起すことが知られているが (Marhavý et al., 2019)、寄生植物の侵入も同様に局所的なエチレン応答を促し、シグナルとして利用している可能性がある。

エチレンは、寄生植物の発芽においても重要な役割を担っている。絶対寄生植物ストライガの発芽はストリゴラクトンによって誘導されることがよく知られているが、ストライガの発芽はエチレンによっても誘導される (Logan and Stewart, 1991; Babiker et al., 2000)。1950年代にアメリカのサウスカロライナ州およびノースカロライナ州に *Striga asiatica* が侵入し、トウモロコシの収穫に影響を与えて大きな問題となったが、宿主がない条件で大量のエチレンを農地に混ぜ込み自殺的な発芽を誘導することで、最終的に根絶に成功している (Iverson et al., 2011)。条件的寄生植物であるコシオガマは、発芽にストリゴラクトンは必要ないが、コシオガマ *ein2* および *etr1* 変異体は野生型に比べて著しく発芽しにくい表現型を示した。植物ホルモンエチレンは、発芽から、吸器の伸長、宿主への侵入にいたる寄生植物の生活環を制御する重要なシグナル物質であることが明らかになった。

## 6. おわりに

寄生植物の吸器が伸びる変異体の解析から、寄生植物と宿主植物の相互作用におけるエチレンの新しい機能が明らかになった。また、寄生植物が自身と宿主から発するエチレンを受感して、宿主の根と自身の根の間の 1 mm 以下の空間で吸器を伸ばし宿主に到達し、侵入するために、吸器細胞の分裂と分化を巧みに制御している様子が分かってきた。寄生植物と宿主植物の間では、今まで知られていた以上のマイクロなシグナル伝達が起こっているのかもしれない。このような植物間の相互作用は現在でも分かっていることは少なく、寄生植物の研究から、より繊細かつ緻密な植物の根と根のコミュニケーションを明らかにしたいと考えている。

変異体のスクリーニングから始める順遺伝学的解析の醍醐味は、表現型からアプローチすることによって、まったく予想しなかった仕組みや遺伝子の機能が明らかになってくることである。本研究では、次世代シーケンサーによるゲノム解析を組み合わせ、寄生植物の分子遺伝学的な解析系を確立した。今後、寄生変異体の解析により、寄生の分子機構が解明され、新規遺伝子の同定につながることを期待できる。そして、寄生機構の解明が、将来的には寄生雑草の防除法の開発に結びつくことを期待している。

## 謝辞

本稿で紹介した著者らの研究は、文部科学省科研費 (no. 25711019, 17K15142, 18H04838, 20H05909) および JST さきがけ (JPMJPR194D) の支援により遂行されました。研究を進めるにあたり、理化学研究所 白須賢グループディレクター、基礎生物学研究所 長谷部光泰教授、金沢大学 西山智明先生はじめ多くの共同研究者の方々にお世話になりました。また、コシオガマのゲノムは遺伝学研究所ゲノム支援 (221S0002, 16H06279) による技術支援を受けました。この場を借りて御礼申し上げます。

## 引用文献

Al-babili S, Bouwmeester HJ (2015) Strigolactones, a novel carotenoid-derived plant hormone. *Ann Rev Plant Biol* 66: 161–186

Albrecht H, Yoder JJ, Phillips DA (1999) Flavonoids promote haustoria formation in the root parasite

- triphysaria versicolor. *Plant Physiol* 119: 585–592
- Babiker AGT, Mab Y, Sugimoto Y, Inanagab S (2000) Conditioning period, CO<sub>2</sub> and GR24 influence ethylene biosynthesis and germination of *Striga hermonthica*. *Physiol Plant* 109: 75–80
- Bandaranayake PCG, Filappova T, Tomilov A, Tomilova NB, Jamison-McClung D, Ngo Q, Inoue K, Yoder JI (2010) A single-electron reducing quinone oxidoreductase is necessary to induce haustorium development in the root parasitic plant *Triphysaria*. *Plant Cell* 22: 1404–19
- Chang M, Lynn DG (1986) The haustorium and the chemistry of host recognition in parasitic angiosperms. *J Chem Ecol* 12: 561–579
- Cook CE, Whichard LP, Turner B, Wall ME (1966) Germination of witchweed (*Striga Lutea* Lour) - isolation and properties of a potent stimulant. *Science* 154: 1189–1190
- Cui S, Kubota T, Nishiyama T, Juliane K, Shigenobu S, Shibata TF, Toyoda A, Hasebe M, Shirasu K, Yoshida S (2020) Ethylene signaling mediates host invasion by parasitic plants. *Sci Adv* 6: eabc2385
- Cui S, Wada S, Tobimatsu Y, Takeda Y, Saucet SB, Takano T, Umezawa T, Shirasu K, Yoshida S (2018) Host lignin composition affects haustorium induction in the parasitic plants *Phtheirospermum japonicum* and *Striga hermonthica*. *New Phytol* 218: 710–723
- Cui S, Wakatake T, Hashimoto K, Saucet S, Toyooka K, Yoshida S, Shirasu K (2016) Haustorial hairs are specialized root hairs that support parasitism in the facultative parasitic plant, *Phtheirospermum japonicum*. *Plant Physiol* 170: 1492–1503
- Goyet V, Wada S, Cui S, Wakatake T, Shirasu K, Montiel G, Simier P, Yoshida S (2019) Haustorium inducing factors for parasitic Orobanchaceae. *Front Plant Sci* 10: 1056
- Hall BP, Shakeel SN, Amir M, Haq NU, Qu X, Eric Schaller G (2012) Histidine kinase activity of the ethylene receptor ETR1 facilitates the ethylene response in Arabidopsis. *Plant Physiol* 159: 682–695
- Hegenauer AV, Fürst U, Kaiser B, Smoker M, Zipfel C, Felix G, Stahl M, Albert M (2016) Detection of the plant parasite *Cuscuta reflexa* by a tomato cell surface receptor. *Science* 353: 478–81
- Ishida JK, Wakatake T, Yoshida S, Takebayashi Y, Kasahara H, Wafula E, dePamphilis CW, Namba S, Shirasu K (2016) Local auxin biosynthesis mediated by a YUCCA flavin monooxygenase regulates haustorium development in the parasitic plant *Phtheirospermum japonicum*. *Plant Cell* 28: 1795–1814
- Ishida JK, Yoshida S, Ito M, Namba S, Shirasu K (2011) *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation of the parasitic plant *Phtheirospermum japonicum*. *PLoS One* 6: e25802
- Ishida JK, Yoshida S, Shirasu K (2017) Quinone oxidoreductase 2 is involved in haustorium development of the parasitic plant *Phtheirospermum japonicum*. *Plant Signal Behav* 12: 1–4
- Iverson RD, Westbrooks RG, Eplee RE, Tasker A V. (2011) Overview and status of the witchweed (*Striga asiatica*) eradication program in the Carolinas. In ARL and R G. Westbrooks, ed, Invasive plant Manag. issues challenges United States 2011 Overv. Washington, DC, pp 51–68
- Ju C, Yoon GM, Shemansky JM, Lin DY, Ying ZI, Chang J, Garrett WM, Kessenbrock M, Groth G, Tucker ML, et al (2012) CTR1 phosphorylates the central regulator EIN2 to control ethylene



- hormone signaling from the ER membrane to the nucleus in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci* 109: 19486–19491
- Laohavisit A, Wakatake T, Ishihama N, Mulvey H, Takizawa K, Suzuki T, Shirasu K (2020) Quinone perception in plants via leucine-rich-repeat receptor-like kinases. *Nature* 587: 92–97
- Logan DC, Stewart GR (1991) Role of ethylene in the germination of the hemiparasite *Striga hermonthica*. *Plant Physiol* 97: 1435–1438
- Marhavý P, Kurenda A, Siddique S, Dénervaud Tendon V, Zhou F, Holbein J, Hasan MS, Grundler FM, Farmer EE, Geldner N (2019) Single-cell damage elicits regional, nematode-restricting ethylene responses in roots. *EMBO J*. doi: 10.15252/embj.2018100972
- Masumoto N, Suzuki Y, Cui S, Wakazaki M, Sato M, Shibata A, Furuta KM, Ichihashi Y, Shirasu K, Toyooka K, et al (2020) Three-dimensional reconstructions of haustoria in two parasitic species in Orobanchaceae. *Plant Physiol*. *in press*
- Mutuku JM, Cui S, Yoshida S, Shirasu K (2020) Orobanchaceae parasite–host interactions. *New Phytol*. doi: 10.1111/nph.17083
- Mutuku JM, Shirasu K (2019) *Striga*. *Curr Biol* 29: R1064–R1065
- Narukawa H, Yokoyama R, Kuroha T, Nishitani K (2020) Host-produced ethylene is required for marked cell expansion and endoreduplication in dodder search hyphae. *Plant Physiol*. *in press*
- Ogawa S, Wakatake T, Spallek T, Ishida JK, Sano R, Kurata T, Demura T, Yoshida S, Ichihashi Y, Schaller A, et al (2020) Subtilase activity in intrusive cells mediates haustorium maturation in parasitic plants Satoshi. *Plant Physiol*. *in press*
- Rubiales D, Heide-Jørgensen HS (2011) Parasitic plants. *Encycl. Life Sci*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, p DOI: 10.1002/9780470015902.a0021271
- Tomilov AA, Tomilova NB, Abdallah I, Yoder JI (2005) Localized hormone fluxes and early haustorium development in the hemiparasitic plant *Triphysaria versicolor*. *Plant Physiol* 138: 1469–1480
- Tsuchiya Y, Yoshimura M, Hagihara S (2018) The dynamics of strigolactone perception in *Striga hermonthica*: a working hypothesis. *J Ext Bot* 69: 2281–2290
- Wada S, Cui S, Yoshida S (2019) Reactive oxygen species (ROS) generation is indispensable for haustorium formation of the root parasitic plant *Striga hermonthica*. *Front Plant Sci* 10: 328
- Wakatake T, Ogawa S, Yoshida S, Shirasu K (2020) An auxin transport network underlies xylem bridge formation between the hemi-parasitic plant *Phtheirospermum japonicum* and host Arabidopsis. *Development*. doi: 10.1242/dev.187781
- Wakatake T, Yoshida S, Shirasu K (2018) Induced cell fate transitions at multiple cell layers configure haustorium development in parasitic plants. *Development*. doi: 10.1242/dev.164848
- Wang Y, Steele D, Murdock M, Lai S, Yoder J (2019) Small-molecule screens reveal novel haustorium inhibitors in the root parasitic plant *Triphysaria versicolor*. *Phytopathology* 109: 1878–1887
- Westwood JH, Yoder JI, Timko MP, dePamphilis CW (2010) The evolution of parasitism in plants. *Trends Plant Sci* 15: 227–235

- Wu F, Chi Y, Jiang Z, Xu Y, Xie L, Huang F, Wan D, Ni J, Yuan F, Wu X, et al (2020) Hydrogen peroxide sensor HPCA1 is an LRR receptor kinase in Arabidopsis. *Nature* 578: 577–581
- Xie X, Yoneyama K (2010) The strigolactone story. *Annu Rev Phytopathol* 48: 93–117
- Yoshida S, Cui S, Ichihashi Y, Shirasu K (2016) The haustorium, a specialized invasive organ in parasitic plants. *Annu Rev Plant Biol* 67: 643–667

# 高湿度環境における植物と病原細菌の水をめぐる攻防

安田 盛貴, 西條 雄介

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域  
〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5

## Water competition between plants and bacterial pathogens under high humidity

Shigetaka Yasuda, Yusuke Saijo

Keywords: bacterial pathogen, high humidity, leaf apoplast, type III effector, water soaking

Graduate School of Science and Technology, Nara Institute of Science and Technology

Takayama 8916-5, Ikoma, Nara 630-0192, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.12b5.00206

### 1. はじめに

陸生植物の葉は、光合成で炭素を固定すると同時に蒸散により水や無機栄養の輸送駆動力を生み出し、植物バイオマスの生産を支えている。一方、葉の表面および内部（葉圏）には細菌や糸状菌をはじめとする微生物集団が生息している（図 1）。細菌は葉圏微生物で最も多いバイオマスを有し、葉面積 1 cm<sup>2</sup> 当たり約 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> 菌体数と推定される (Lindow & Brandl 2003)。大部分の葉圏微生物の役割は不明であるが、一部は共生型（相利共生）または病原型として宿主植物に利害をもたらす。微生物が植物に感染するには、植物の物理的・化学的障壁による静的抵抗性に加えて、微生物の感染に伴い誘導される動的抵抗性を打破する必要がある。重要なことに、病原微生物が抵抗性を持たない植物に感染するだけでは病気は通常起こらず、その大規模な増殖ひいては病気の発生には他の環境要因が大きく影響する (Saijo & Loo 2020)。野外において、植物は光、温度および湿度の変化に絶え間なく曝されおり、特に、降雨にともなう高湿度環境では多くの感染微生物による病害が深刻化する（図 2）。しかしながら、従来の分子生物学研究の大部分は管理された恒常的な実験室環境でなされており、植物と微生物の関係性を劇的に変えうる環境因子の影響を理解するには不十分である。近年、葉に感染する病原細菌が高湿度環境で病原性を高める仕組みに関して重要な進展が得られた。本稿では、植物の免疫システムについて概説し、高湿度環境において病原細菌が感染を拡大する戦略から植物・微生物・環境因子の相互作用に関する研究の現況に触れたい。

### 2. 植物の免疫システムと病原細菌の感染戦略

#### 2-1. 植物のパターン誘導免疫とエフェクター誘導免疫

気孔や傷口から葉内に侵入した病原細菌は、アポプラスト（細胞間隙）に寄生し、水と栄

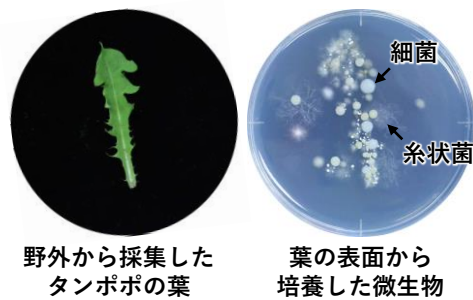
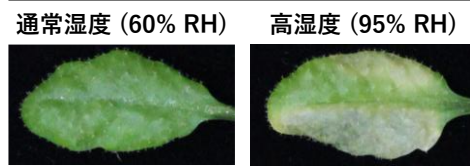


図1. 野外植物の葉に生息する微生物

病原細菌を接種したシロイヌナズナの葉 (5 dpi)



通常湿度 (60% RH) 高湿度 (95% RH)  
dpi, days post-inoculation/接種後日数  
RH, relative humidity/相対湿度

図2. 高湿度環境における葉の病徴

養を獲得することで増殖して宿主植物に病気を引き起こす。一方で、上述の通り、葉内に感染している細菌集団の大多数は無害な（時に有益な）共生細菌である。植物は、細胞表面や細胞内で微生物由来の成分や自らのダメージを検出する免疫受容体を多数もち、微生物の感染様式・感染状態に応じて免疫応答を調節することで、病原菌の防除と共生菌の許容を両立させている。往々にして、同一の菌株が環境条件次第で病原菌になったりあるいは共生菌になったりするため、植物の免疫調節は環境変動のセンシングと密接な関係性にあることが予想される。

植物の免疫は、2種類に大別される自然免疫受容体が重層的に働くことで保たれている。1層目を成すのは細胞表面に存在するパターン認識受容体（PRR, pattern-recognition receptor）であり、微生物構成成分の分子パターン（MAMP, microbe-associated molecular patterns）や病原菌感染時に特徴的な自己ダメージの分子パターン（DAMP, danger-associated molecular pattern）を認識する。代表的な MAMP として、細菌のべん毛タンパク質フラジェリンや細胞壁成分ペプチドグリカン、真菌の細胞壁成分キチン等が知られている。PRR が誘導するパターン誘導免疫（PTI, pattern-triggered immunity）は、抗菌性物質の産生に加え、気孔の閉鎖による侵入阻止（Melotto et al. 2008）やアポプラストから細胞内への糖輸送を促進して病原細菌の栄養源を枯渇させることにも寄与している（Yamada et al. 2016b）。

植物の PRR は全て膜局在性のタンパク質であり、細胞外ドメインで MAMP/DAMP リガンドを認識する。細胞内キナーゼドメインの有無により、受容体様キナーゼ（RLK, receptor-like kinase）と受容体様タンパク質（RLP, receptor-like protein）に大別される。リガンドを結合すると、PRR は、共受容体（もしくはアダプタータンパク質）として働く、同じタイプの細胞外ドメインを持つ RLK と複合体を形成し、受容体様細胞質キナーゼ（RLCK, receptor-like cytoplasmic kinase）などを介して細胞内にリン酸化シグナルを伝える。その結果、速やかに細胞のイオン濃度変化や活性酸素分子種（ROS, reactive oxygen species）の産生を誘導するほか、MAPK（mitogen-activated protein kinase）カスケードや CDPK（Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinase）等、細胞内キナーゼを介して、大規模な遺伝子発現や代謝のリプログラミングを引き起こす（Couto & Zipfel 2016, Saijo et al. 2018）（図 3）。

現在までに、数十にのぼる PRR-MAMP/DAMP ペアが同定されている（Boutrot & Zipfel 2017）。植物が有する PRR の豊富なレパートリーは、単にリガンド特異性が異なるだけではなく、上記のシグナル制御の律速ステップや律速因子にも違いが見られ、病原菌の感染時にはそれら複数の PRR 経路が束になって働くことで PTI 全体の頑健性を高めていると考えられる（Saijo

et al. 2018)。

これに対して病原菌は、植物組織・細胞内にエフェクターと総称されるタンパク質や毒素を注入して PTI シグナル系による植物免疫の誘導を阻害し、感染を促進する (図 3)。エフェクターの中には、植物免疫の打破というよりは病原菌の増殖に適した環境を作り出すために働くものも存在する (後述)。したがって、病原菌の感染や増殖を阻止するには病原菌が繰り出す多種多様なエフェクターに対抗することが重要になってくる。その役割を担う 2 層目の免疫受容体として、植物は、核酸結合 (NB, nucleotide binding) ドメインとロイシンリッチリピート (LRR, leucin-rich repeat) ドメインを有する NB-LRR 側受容体 (NLR) を進化させてきた。NLR がエフェクターを認識するとエフェクター誘導免疫 (ETI, effector-triggered immunity) と呼ばれる、より強力な免疫応答が誘導され、病原菌の感染は終結へと追いやられる (図 3)。すなわち、病原菌も共生菌も植物に感染するためには PTI を打破するとともに ETI を回避することが重要であり、その選択圧の下、エフェクターのレパートリーや機能発現システムを洗練させてきた。このような植物免疫と微生物の感染戦略の共進化は、「ジグザグモデル」と呼ばれる概念として広く受け入れられ、植物-微生物相互作用の根幹をなしている (Jones & Dangl 2006)。

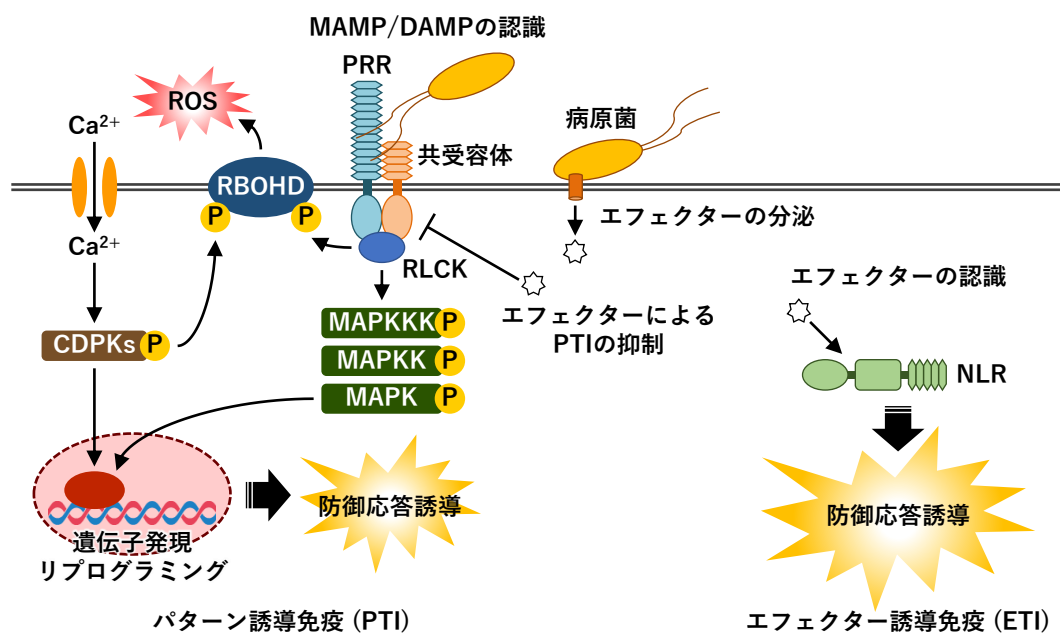


図3. 病原菌の感染に対する植物の免疫システム

## 2-2. 病原細菌の感染プロセスと植物免疫の打破

病原細菌は宿主植物の細胞外で寄生し、一連のエフェクターを植物細胞内に送り込むことで PTI を抑えて増殖する。*Pseudomonas* 属をはじめとするグラム陰性細菌は、感染時に III 型分泌 (T3S, type III secretion) 装置と呼ばれる注射器のような構造体を形成し、これによりエフェクターを宿主植物の細胞内に注入する。各々のエフェクターは PTI に重要な植物タンパク質を標的としており、その作用機序も多岐にわたる。ここでは、代表的な植物-病原細菌相互作用モデルであるシロイヌナズナ-トマト班葉細菌病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

(*Pst*) DC3000 を例に、エフェクターによる PTI の抑制機構を紹介する。

シロイヌナズナにおいて細菌の感染制御に大きく寄与する PRR として、フラジェリンの N 末端にある flg22 ペプチドを認識する LRR-RLK 型の受容体、FLS2 (flagellin-sensing2) が挙げられる。FLS2 は、flg22 リガンドに結合すると、同じく LRR 型 RLK である BAK1 (brassinosteroid insensitive1-associated receptor kinase1) を含む複合体を形成する (Chinchilla et al. 2007)。FLS2-BAK1 複合体によるリン酸化は、複合体から RLCK である BIK1 (botrytis-induced kinase1) の乖離を促し、その結果、細胞内へとリン酸化シグナルを伝える (Lu et al. 2010)。葉内に侵入した *Pst* 細菌は、約 30 種類のエフェクターを T3S で植物細胞に分泌するが、T3S エフェクターを全て欠損すると感染能力が著しく低下してしまう (Cunnac et al. 2011)。エフェクター同士は機能的冗長性が高く、個々のエフェクター遺伝子を欠損しても影響が認めにくいことが多いが、AvrPto と AvrPtoB については同時欠損させると病原性が明瞭に低下するため、重要エフェクターとして知られている (Göhre et al. 2008)。実際、AvrPto と AvrPtoB は FLS2 を含む複数の PRR やそれらの共受容体 BAK1 に結合し、AvrPto はそれら標的タンパク質のキナーゼ活性や複合体形成を阻害する一方で、AvrPtoB はユビキチンリガーゼとして標的タンパク質を分解に導くことで、PTI シグナルの出どころを断つ働きがある (Göhre et al. 2008, Shan et al. 2008, Xiang et al. 2008, Gimenez-Ibanez et al. 2009)。その他にも、PTI シグナルの起点である PRR 複合体を標的にするエフェクターとして、PRR と複合体を形成した BAK1 を特異的に切断する HopB1、PRR を脱リン酸化する HopAO1 および RLCK を分解する AvrPphB などこれまで同定されている (Xin et al. 2018)。なお、LRR 型 PRR のシグナル機能に重要な BAK1 の単純な分解除去は細胞死などバックアップとして働く免疫応答の活性化を招くこともあり (Yamada et al. 2016a, Yasuda et al. 2017)、病原細菌は様々な分子メカニズムを用いて巧妙に PTI の誘導を阻害している様子がうかがえる。しかしながら、上述した通り、病原細菌が病気を起こすには宿主植物の免疫システムの打破だけでは不十分であり、両者を取り囲む環境条件が重要な役割を果たしている。

### 3. 高湿度環境における病原細菌の水獲得戦略

#### 3-1. 高湿度環境が病原細菌の感染過程に与える影響

病気の発生には、宿主植物と病原細菌の遺伝的關係性（抵抗性か罹病性か）に加え、宿主植物の免疫低下と病原細菌の病原性を助長する環境条件が必要となる。これは、「病気の三角関係」として 50 年以上前から認知されているものの (Stevens 1960)、その分子基盤に関しては依然として解明が進んでいない。特に、長雨がもたらす高湿度環境は、病原細菌の移動、葉内への侵入および増殖を促進し、トマト班葉細菌病など葉の細菌病を拡大する。高湿度環境下では、水分の蒸発が減少し、葉の表面に存在する水の量も多くなる。アブシジン酸 (ABA) 経路の不活性化により葉の表面を覆うクチクラの形成も低下し、水透過性が増加する (Okamoto et al. 2009, Cui et al. 2016, Kim et al. 2019)。また、気孔開度が上昇し、PRR による気孔閉鎖応答も抑制される (Panchal et al. 2016)。これらの結果、葉上の病原細菌が葉内に侵入しやすい条件が整うと考えられる。

さらに、病原細菌は葉内に侵入後も高湿度環境の恩恵を受ける。高湿度環境においては、

病原細菌は葉内のアポプラストで自身の周囲に水を集めて増殖を促進することが可能になり、強い病原性を示す。これは水浸漬と呼ばれ、様々な植物細菌病の初期症状として知られており、細菌の水分・栄養の獲得を促進するとともに宿主植物の抗菌性物質を希釈する効果があると考えられている。近年になって *Pseudomonas* 属と *Xanthomonas* 属の病原細菌において水浸漬誘導メカニズムの一端が報告され、植物と病原細菌の水をめぐる攻防の様子が少しずつ明らかになりつつある。

### 3-2. 葉内の病原細菌がエフェクターを介して誘導する水浸漬現象

高湿度環境において、シロイヌナズナの葉内に侵入した病原細菌 *Pst* はおよそ 24 時間から 48 時間後に水浸漬を誘導するが、それには 2 つのエフェクター HopM1 と AvrE のどちらかが必要であることがわかった (Xin et al. 2016) (図 4)。両エフェクターともに *Pseudomonas* 属の病原細菌種に高度に保存されており、同属細菌における植物病原性の出現と呼応する形で獲得されたと推定されている (Xin et al. 2018)。HopM1 と AvrE は病原性因子として相補的に働くものの、両者のアミノ酸配列は大きく異なっている (DebRoy et al. 2004)。HopM1 は宿主植物細胞のトランスゴルジ網 (TGN, trans-Golgi network) に局在し、TGN-細胞膜間の小胞輸送を制御するグアニンヌクレオチド交換因子 (ARF-GEF) MIN7 (HopM1 interactor7) のユビキチン-プロテアソーム系による分解を促す (Nomura et al. 2006)。したがって、HopM1 は MIN7 の分解を介して、宿主植物の水浸漬抵抗性の要として働く細胞膜 (もしくは分泌性) タンパク質の膜輸送については機能を阻害していると考えられる。一方、AvrE は細胞膜局在性を示すものの、MIN7 の分解には関与していない (Nomura et al. 2006, Xin et al. 2015)。AvrE の植物標的としてホスファターゼ (PP2A, protein phosphatase 2A) が同定されているが、PP2A が水浸漬に関わるかは明らかになっていない (Jin et al. 2016)。AvrE が水浸漬を促進するメカニズムについて解明が待たれる。

水浸漬を起こす細菌は *Pseudomonas* 属に限らない。そのような菌種は、100 種類以上の植物に感染し、世界各地の作物生産に深刻な被害をもたらす *Xanthomonas* 属にも知られている (Potnis et al. 2015)。*X. gardneri* は、ベンサミアナタバコおよびトマトの葉内に侵入後、植物細胞核内で転写活性化因子として働く TAL (transcription activation like) エフェクター (Boch & Bonas 2010) の一つ、AvrHah1 を用いて水浸漬を誘導する (Schwartz et al. 2017) (図 4)。AvrHah1 による水浸漬は、*X. gardneri* の葉内における増殖というよりは、葉外からの侵入を促進すると考えられている。AvrHah1 は、宿主の bHLH (basic helix-loop-helix) 型転写因子 bHLH3 および bHLH6 の発現を誘導することで、その制御下にあるペクチン酸リアーゼの遺伝子発現を間接的に誘導し、水浸漬を引き起こす。ペクチン酸リアーゼは植物細胞壁を構成する多糖の一つペクチンの分解酵素であり、植物細胞壁の親水性を高めるとともに多糖分解物でアポプラストの浸透圧を上昇させることで、水浸漬を誘導すると考えられている。病原微生物の中にはペクチン酸リアーゼを自ら産生し、宿主植物の組織を軟化させることで感染を促進するものも知られている (Uluşik & Seymour 2020)。

このように、病原細菌はそれぞれ異なるエフェクターを用いるものの、分類グループの垣根を越えて水浸漬を誘導し、感染に役立てている。したがって、水浸漬の実行因子を様々な

病原細菌がそれぞれ独自に獲得してきたと考えられる。一方で、水浸漬を誘導するエフェクターは植物免疫に認識されるリスクにもかかわらず同属の病原細菌間で広く保存されていることは、病原細菌の感染・増殖において水浸漬を誘導する機能が極めて重要であることを物語っている。さらに、水浸漬を積極的に誘導するエフェクターの存在から、植物が高湿度環境においても葉内アポプラストの水分バランスを調節し、細菌に対抗する仕組みを有していること、そしてその仕組みを打破することが細菌の増殖に必要であることも推察される。

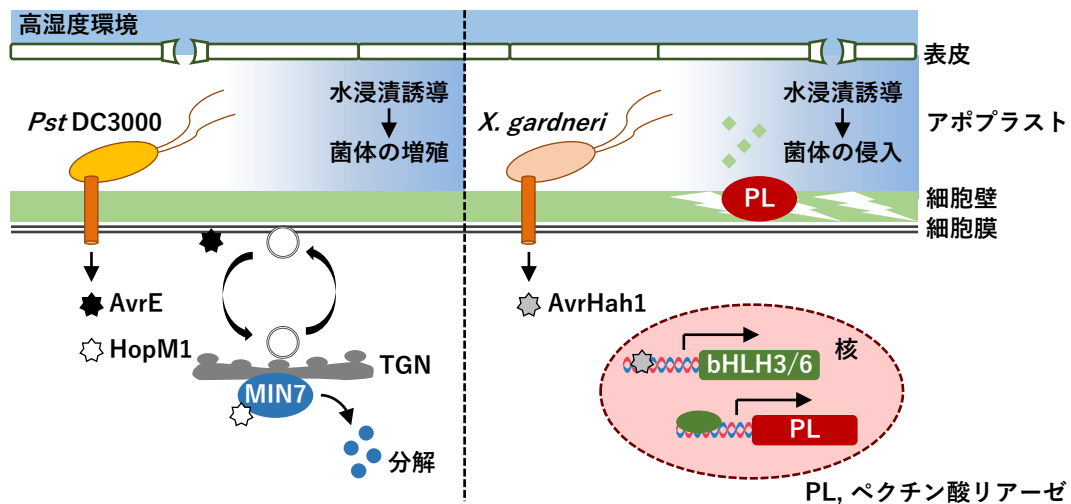


図4. 高湿度環境下で病原細菌が誘導する水浸漬

#### 4. おわりに

植物免疫を打破するとともに水浸漬を誘導することは、病原細菌が高湿度環境で病原性を発現し、感染を拡大するために極めて重要である (Xin et al. 2016)。植物と病原菌は免疫システムと感染戦略を互いに共進化させてきたことから、高度に発達した病原細菌の水浸漬誘導戦略の背景には、その障壁ひいては進化の原動力として働いている植物の免疫応答の存在が予想される。これを明らかにし、病害抵抗性の強化策として活用することで、これまでとは異なる方向性から高湿度環境においても有効な抵抗性育種が可能になると期待される。しかしながら、高湿度環境で重要となる水浸漬抵抗性の分子基盤に関しては知見が乏しく、その解明に向けた取り組みが求められる。

本研究室の最近の研究により、植物の水浸漬抵抗性を担う因子として、細胞膜型アクアポリン (PIP, plasma membrane intrinsic protein) の関与を示唆する知見が得られている (未発表)。PIP は細胞内外の浸透圧差に応じて受動的に水を輸送するチャネルであり、水の取り込み、輸送および生体内の水分バランス調整を担う (Maurel et al. 2015)。植物は、水分ストレス状態に応じて細胞膜上の PIP の分布量や水輸送活性を調節し (Lee et al. 2009, Zhang et al. 2019)、細胞内の水分バランスを保っており、PIP の活性調節と免疫制御の関係性に興味を持たれる。本研究の進展により、植物の水浸漬抵抗性の実体が明らかになることが期待され、環境因子による植物免疫の調節メカニズムの解明に貢献していきたいと考えている。



## 引用文献

- Boch, J., & Bonas, U. 2010. Xanthomonas AvrBs3 family-type III effectors: discovery and function. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48: 419-436.
- Boutrot, F., & Zipfel, C. 2017. Function, Discovery, and Exploitation of Plant Pattern Recognition Receptors for Broad-Spectrum Disease Resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 55: 257-286.
- Chinchilla, D., Zipfel, C., Robatzek, S., Kemmerling, B., Nürnberger, T., Jones, J.D., Felix, G., & Boller, T. 2007. A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature* 448: 497-500.
- Couto, D., & Zipfel, C. 2016. Regulation of pattern recognition receptor signalling in plants. *Nat. Rev. Immunol.* 16: 537-552.
- Cui, F., Brosché, M., Lehtonen, M.T., Amiryousefi, A., Xu, E., Punkkinen, M., Valkonen, J.P., Fujii, H., & Overmyer, K. 2016. Dissecting Abscisic Acid Signaling Pathways Involved in Cuticle Formation. *Mol. Plant* 9: 926-938.
- Cunnac, S., Chakravarthy, S., Kvitko, B.H., Russell, A.B., Martin, G.B., & Collmer, A. 2011. Genetic disassembly and combinatorial reassembly identify a minimal functional repertoire of type III effectors in *Pseudomonas syringae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108: 2975-2980.
- DeRoy, S., Thilmony, R., Kwack, Y.B., Nomura, K., & He, S.Y. 2004. A family of conserved bacterial effectors inhibits salicylic acid-mediated basal immunity and promotes disease necrosis in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101: 9927-9932.
- Göhre, V., Spallek, T., Häweker, H., Mersmann, S., Mentzel, T., Boller, T., de Torres, M., Mansfield, J.W., & Robatzek, S. 2008. Plant pattern-recognition receptor FLS2 is directed for degradation by the bacterial ubiquitin ligase AvrPtoB. *Curr. Biol.* 18: 1824-1832.
- Gimenez-Ibanez, S., Hann, D.R., Ntoukakis, V., Petutschnig, E., Lipka, V., & Rathjen, J.P. 2009. AvrPtoB targets the LysM receptor kinase CERK1 to promote bacterial virulence on plants. *Curr. Biol.* 19: 423-429.
- Jin, L., Ham, J.H., Hage, R., Zhao, W., Soto-Hernández, J., Lee, S.Y., Paek, S.M., Kim, M.G., Boone, C., Coplin, D.L., & Mackey, D. 2016. Direct and Indirect Targeting of PP2A by Conserved Bacterial Type-III Effector Proteins. *PLoS Pathog.* 12: e1005609.
- Jones, J.D., & Dangl, J.L. 2006. The plant immune system. *Nature* 444: 323-329.
- Kim, H., Yu, S.I., Jung, S.H., Lee, B.H., & Suh, M.C. 2019. The F-Box Protein SAGL1 and ECERIFERUM3 Regulate Cuticular Wax Biosynthesis in Response to Changes in Humidity in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 31: 2223-2240.
- Lee, H.K., Cho, S.K., Son, O., Xu, Z., Hwang, I., & Kim, W.T. 2009. Drought stress-induced Rma1H1, a RING membrane-anchor E3 ubiquitin ligase homolog, regulates aquaporin levels via ubiquitination in transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Cell* 21: 622-641.
- Lindow, S.E., & Brandl, M.T. 2003. Microbiology of the phyllosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1875-1883.
- Lu, D., Wu, S., Gao, X., Zhang, Y., Shan, L., & He, P. 2010. A receptor-like cytoplasmic kinase, BIK1,

- associates with a flagellin receptor complex to initiate plant innate immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107: 496-501.
- Maurel, C., Boursiac, Y., Luu, D.T., Santoni, V., Shahzad, Z., & Verdoucq, L. 2015. Aquaporins in Plants. *Physiol. Rev.* 95: 1321-1358.
- Melotto, M., Underwood, W., & He, S.Y. 2008. Role of stomata in plant innate immunity and foliar bacterial diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46: 101-122.
- Nomura, K., Debroy, S., Lee, Y.H., Pumplin, N., Jones, J., & He, S.Y. 2006. A bacterial virulence protein suppresses host innate immunity to cause plant disease. *Science* 313: 220-223.
- Okamoto, M., Tanaka, Y., Abrams, S.R., Kamiya, Y., Seki, M., & Nambara, E. 2009. High humidity induces abscisic acid 8'-hydroxylase in stomata and vasculature to regulate local and systemic abscisic acid responses in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 149: 825-834.
- Panchal, S., Chitrakar, R., Thompson, B.K., Obulareddy, N., Roy, D., Hambright, W.S., & Melotto, M. 2016. Regulation of Stomatal Defense by Air Relative Humidity. *Plant Physiol.* 172: 2021-2032.
- Potnis, N., Timilsina, S., Strayer, A., Shantharaj, D., Barak, J.D., Paret, M.L., Vallad, G.E., & Jones, J.B. 2015. Bacterial spot of tomato and pepper: diverse Xanthomonas species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. *Mol. Plant Pathol.* 16: 907-920.
- Saijo, Y., Loo, E.P., & Yasuda, S. 2018. Pattern recognition receptors and signaling in plant-microbe interactions. *Plant J.* 93: 592-613.
- Saijo, Y., & Loo, E.P. 2020. Plant immunity in signal integration between biotic and abiotic stress responses. *New Phytol.* 225: 87-104.
- Schwartz, A.R., Morbitzer, R., Lahaye, T., & Staskawicz, B.J. 2017. TALE-induced bHLH transcription factors that activate a pectate lyase contribute to water soaking in bacterial spot of tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114: E897-E903.
- Shan, L., He, P., Li, J., Heese, A., Peck, S.C., Nürnberger, T., Martin, G.B., & Sheen, J. 2008. Bacterial effectors target the common signaling partner BAK1 to disrupt multiple MAMP receptor-signaling complexes and impede plant immunity. *Cell Host Microbe* 4: 17-27.
- Stevens, R.B. 1960. *Plant Pathology: An Advanced Treatise* 3: 357-429.
- Uluşik, S., & Seymour, G.B. 2020. Pectate lyases: Their role in plants and importance in fruit ripening. *Food Chem.* 309: 125559.
- Xiang, T., Zong, N., Zou, Y., Wu, Y., Zhang, J., Xing, W., Li, Y., Tang, X., Zhu, L., Chai, J., & Zhou, J.M. 2008. Pseudomonas syringae effector AvrPto blocks innate immunity by targeting receptor kinases. *Curr. Biol.* 18: 74-80.
- Xin, X.F., Nomura, K., Ding, X., Chen, X., Wang, K., Aung, K., Uribe, F., Rosa, B., Yao, J., Chen, J., & He, S.Y. 2015. Pseudomonas syringae Effector Avirulence Protein E Localizes to the Host Plasma Membrane and Down-Regulates the Expression of the NONRACE-SPECIFIC DISEASE RESISTANCE1/HARPIN-INDUCED1-LIKE13 Gene Required for Antibacterial Immunity in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 169: 793-802.
- Xin, X.F., Nomura, K., Aung, K., Velásquez, A.C., Yao, J., Boutrot, F., Chang, J.H., Zipfel, C., & He,

- S.Y. 2016. Bacteria establish an aqueous living space in plants crucial for virulence. *Nature* 539: 524-529.
- Xin, X.F., Kvitko, B., & He, S.Y. 2018. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 16: 316-328.
- Yamada, K., Yamashita-Yamada, M., Hirase, T., Fujiwara, T., Tsuda, K., Hiruma, K., & Saijo, Y. 2016a. Danger peptide receptor signaling in plants ensures basal immunity upon pathogen-induced depletion of BAK1. *EMBO J.* 35: 46-61.
- Yamada, K., Saijo, Y., Nakagami, H., & Takano, Y. 2016b. Regulation of sugar transporter activity for antibacterial defense in *Arabidopsis*. *Science* 354: 1427-1430.
- Yasuda, S., Okada, K., & Saijo, Y. 2017. A look at plant immunity through the window of the multitasking coreceptor BAK1. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 38: 10-18.
- Zhang, S., Feng, M., Chen, W., Zhou, X., Lu, J., Wang, Y., Li, Y., Jiang, C.Z., Gan, S.S., Ma, N., & Gao, J. 2019. In rose, transcription factor PTM balances growth and drought survival via PIP2;1 aquaporin. *Nat. Plants* 5: 290-299.

# 植物感染性線虫の誘引物質から生物種間認識機構の進化を探る

大田守浩<sup>1</sup>, 澤進一郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>熊本大学大学院自然科学研究科理学専攻  
〒860-8555 熊本市中央区黒髪2丁目39番1号

## Evolution of inter-specific interactions between multicellular animal and plant. -From a view point of plant parasitic nematode attractants-

Morihiro Oota<sup>1</sup>, Shinichiro Sawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kumamoto University, Graduate School of Science and Technology, Kurokami, 2-39-1,  
Kumamoto, 860-8555, Japan

Keywords: attractant, evolution, interaction, *Meloidogyne incognita*, plant parasitic nematode

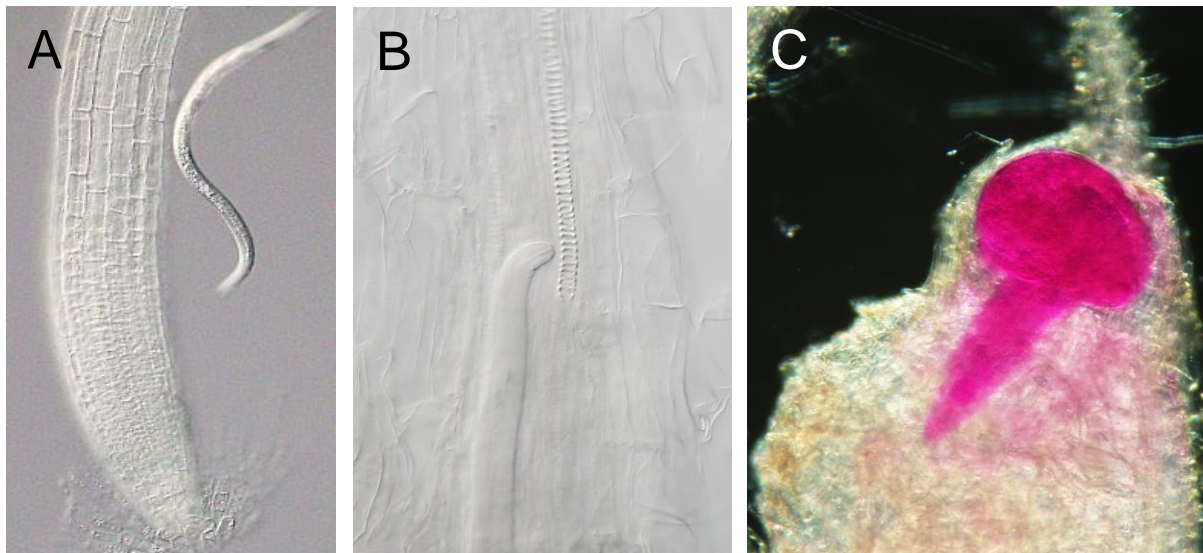
DOI: 10.24480/bsj-review.12b6.00207

### 1. はじめに

線虫は線形動物門 (Phylum Nematoda) に属する無脊椎動物の総称であり、極めて多様性が高く、地球上で最も繁栄している生物のひとつである。その総種数は2億にもものぼると推定されており、現時点で記載されている種だけでも3万近いとされている (神崎 2013)。線虫の生活環境・生活史も多様であり、通常の陸上・海洋領域だけでなく、深海や南極といった極限環境で生活するものや他生物との寄生・共生関係を結んだものなど、線虫には様々な生き様がある。また、線虫類の約10%を植物寄生性線虫が占めており、少なくともこれまでに4回の独立した進化を経験している (Kikuchi *et al.*, 2017)。これら植物寄生性線虫は大きくネコブセンチュウ類、シストセンチュウ類、そしてネグサレセンチュウ類に大別され、農作物に甚大な被害を及ぼす病原性生物として、全世界で数十兆円にもものぼる農業被害を与えている (Abad *et al.*, 2008; Nicol *et al.*, 2011)。このような植物寄生性線虫の中でも、特に被害の大きいネコブセンチュウ類とシストセンチュウ類の感染様式は種を超えてとても良く類似している。いずれも土壌中を自由に動き回る二齢幼虫が、根由来の何らかのシグナルを認識して根の位置を特定し、根端から根の内部へ侵入する。侵入後は、自身の口針からエフェクター物質を細胞に打ち込み、摂食細胞へと再分化させ、細胞質をエサとして成長する (Favery *et al.*, 2016)。その後、成熟したメスは根の外に卵塊を産み付けて次世代を残す (図1)。このような一連の感染様式の中で、我々は「線虫が走化性を用いてどのように宿主植物の根に接近しているのか」について注目して研究を行っている。しかし、これまでに植物-微生物間相互作用の研究は盛んに行われてきた一方で、植物-線虫をはじめとする植物-動物間の相互作用に関する研究は、適した実験系が確立されていないことからあまり進展していない。わずかながら明らかになっている遺伝子の多くも線虫が宿主植物に侵入後の摂食細胞形成に関わる遺伝子

や宿主側の防御応答に関わる遺伝子が多く、寄生者が走化性を用いてどのように宿主に接近しているのかについては、宿主から放出される何らかのシグナルを感知して宿主の位置を認識していると考えられているのみで、ほとんどが未解明のままである (Nicky *et al.*, 2013)。

このような研究背景のもと、本総説では、生物間相互作用を研究するための優れた実験系として、線虫誘引物質を指標とした植物-線虫間の相互作用（交信）に関する研究の意義や、筆者らの研究によって得られた最新の研究成果について紹介する。



**図1 サツマイモネコブセンチュウの感染の様子**

(A) 根端に向かっているセンチュウ。

(B) 前形成層細胞に口針を突き刺してエフェクター物質を注入しているセンチュウ。

(C) 成熟したメスセンチュウを赤く染色した写真。

## 2. なぜ、生物間相互作用の研究に線虫-植物の実験系か

新生代に入ると、植物の世界では裸子植物やシダ植物が衰退し、花をつくる被子植物が爆発的に多様化し繁栄するようになった。昆虫類・哺乳類・鳥類などが、被子植物の蜜や果実を利用することで、受粉や種子散布などを多様化させ、お互い相互作用をしながら独自の進化をとげ、現代のような多様な植物（及びそれに伴う動物）が進化したと考えられる。一方、これまでに、ミツバチと花など、多細胞動物—多細胞植物相互作用について、様々な現象が明らかになっているが、分子レベルでの研究はほとんどない。生物間相互作用の研究は、生物学の研究そのものと同じくらい長い歴史を持つ。特に、多細胞生物間相互作用は、エレガントであり、かつ複雑で、興味深い現象だが、その分子機構に関しては、ほとんど未知の領域である。花が昆虫により花粉を運んでもらうことで受粉を成立させ子孫を残す例などは、太古の昔から、人類が、食糧生産のために不可欠な知識でもある。近年に至っても、様々な種間相互作用の発見が続々となされており、その多様性は、はかりしれない。多細胞生物間相互作用は、エレガントである一方で、複雑であり、その分子機構に関しては、ほとんど未知の領域である。一方、生物間相互作用の分子レベルでの解析については、微生物—植物相互作用に関して、共生や病害応答といった文脈において多くの知見が得られつつあり、植物

病理分野として、大きな研究領域をも形成している (安田 & 西條. 2021)。しかし、多細胞動物—多細胞植物間での相互作用に関する分子知見はほとんどないのが現状である。その原因は、よいモデル実験系の欠如によると考えられる。このような背景のもと、我々は、多細胞動物—多細胞植物間での相互作用に関するモデル実験系を利用している。生物間相互作用の研究をするうえで、我々が植物-線虫間の交信の研究に着目する理由としては、以下の3点が挙げられる。

まず1つ目に、多種多様な生き様をもつ線虫類を用いて「植物-線虫間の交信メカニズム」を紐解くことで、寄生者の宿主認識・宿主選択に関する進化過程の一旦を明らかにできるという点が挙げられる。上述の通り、植物寄生性線虫は多様性が高く、1000種以上のゲノム解読が既に終わっている。宿主特異性の高い種から低い種まで豊富なラインナップがそろっており、交信に使用されているリガンドや受容体も非常に多岐にわたると考えられる。よって、リガンドと受容体の種類や機能の解析を行うことは、リガンドや受容体の分子進化の過程が、寄生者にとってどのように新たな宿主の獲得に影響を与えたかを、明らかにできる可能性が高い。すなわち、交信に使用されるリガンドと受容体の組合せが寄生者の宿主選択の決定に重要であり、多種の線虫や植物を用いて種ごとに評価することで、線虫-植物間の種特異性の決定に関する進化過程の一端を明らかにできるのではないかと考えている。

2つ目として、モデル生物の *C. elegans* の技術や知見を利用できるという点も重要なポイントである。*C. elegans* は分子遺伝学的解析が容易なことに加えて、動きの遅いネコブセンチュウとは違い、動きも早いことから走化性の行動を容易に定量化することができる。また、1200種類以上嗅覚受容体を持つことから、嗅覚研究のモデル生物とされており、これまでに194個の嗅覚受容体候補遺伝子が同定されている (Taniguchi *et al.*, 2014)。植物寄生性線虫においても同様に変異体の作製や原因遺伝子の単離が可能になれば、この *C. elegans* 嗅覚受容体の情報を参考にして、植物感染性線虫の受容体候補の変異体を作製し、行動解析を行うことで、その結果と受容体遺伝子配列との相関をとり、リガンドに対する受容体の特定が可能になると考えられる。

3つ目は、本題からは少しずれるが、本研究は基礎研究と応用研究の両方の側面を併せ持つ非常にポテンシャルの高い研究という点である。植物寄生性線虫は農業分野において多大な被害をもたらしているが、現在の駆除法は化学物質を用いた手法が主流であり、人や土壌中の有益な微生物に対して有害である。海外では危険物質のために使用が認められていないことも多く、一刻も早く無害な駆除法の開発が待たれている。本研究によって、宿主由来の線虫誘引シグナルが明らかになれば、トラップ材と組み合わせることで環境に無害な駆除薬の作成が可能であり、社会に与えるインパクトは非常に大きい。このように、本研究は「植物-線虫間の交信メカニズム解明」という基礎研究でありながら、「線虫駆除剤の開発」へと繋がる応用研究でもあり、基礎研究と応用研究の両方の側面を併せ持つ研究である。

### 3. 植物-線虫間相互作用の研究の現状について

では、本題の「植物-線虫間の交信メカニズム」に関する研究の現状について紹介したい。最初の報告は1980年代にまで遡り、この頃初めてダイズの根抽出物に線虫が誘引するという

報告がされた (Michael & Bone *et al.*, 1983)。しかし、この報告以来、線虫による宿主根の認識機構に関する研究はあまり進展していないのが現状である。これまでに複数、根抽出液や植物ホルモン、無機化合物など、線虫を誘引する化合物について発見されてはいるが (表 1)、線虫感染に重要な真の誘引物質は未だはっきりしないままである。

表 1 植物寄生性線虫に対する誘引物質

誘引物質	参考文献
ダイズ根端	Papademetriou & Bone, 1983
ダイズ根抽出液	Oota <i>et al.</i> , 2020
トマト根抽出液	Yang <i>et al.</i> , 2016
タルウマゴヤシ根抽出液	Čepulytė <i>et al.</i> , 2018
エンドウ根抽出液	Zhao <i>et al.</i> , 2000
アズキ根抽出液	Hosoi <i>et al.</i> , 2017
エテホン	Fleming <i>et al.</i> , 2017
6-ジメチルアリルアミノプリン	Fleming <i>et al.</i> , 2017
サリチル酸	Fleming <i>et al.</i> , 2017
ジベレリン酸	Fleming <i>et al.</i> , 2017
バニリン酸	Fleming <i>et al.</i> , 2017
タンニン酸	Ohri & Pannu, 2010
フラボノイド類	Chin <i>et al.</i> 2018
ラウリン酸	Dong <i>et al.</i> , 2014
マンニトール	Fleming <i>et al.</i> , 2017
インドール酢酸	Fleming <i>et al.</i> , 2017
アルギニン	Fleming <i>et al.</i> , 2017
リジン	Fleming <i>et al.</i> , 2017
塩化カルシウム	Wang <i>et al.</i> , 2018
ジアミン化合物	Oota <i>et al.</i> , 2020
種子ムシレージ	Tsai <i>et al.</i> , 2019

このような研究背景のもとで、本稿では、我々が取り組んできた、ケミカルライブラリーのスクリーニングによる誘引物質の探索について紹介する。はじめに、(Wang *et al.* 2009) をベースとして、同時に多量の化合物を試験できるように PF ゲルを用いた線虫誘引試験系を構築した (図 2)。PF ゲルを用いた試験系では、より土壤に模した環境で、線虫の行動を 3 次元的に解析が可能である。このアッセイ系を用いて、線虫誘引活性を指標としたケミカルライブラリーのスクリーニングを行ったところ、誘引物質としてジアミノプロパンが単離された。そこで、プトレシンやカダベリンなどジアミノプロパンの様々な類縁体に対して誘引試験を行ったところ、炭素架橋数 3-5 のジアミン化合物 (ジアミノプロパン、プトレシン、カダベリン) に強い線虫誘引活性があることが明らかになった (Oota *et al.*, 2020 ; 図 3)。炭素架橋数が 3 以下や 5 以上の化合物は全く線虫誘引活性を示さなかったことから、線虫の誘引には炭素架橋数が 3-5 の分子サイズをもつことが重要だと考えられる。また、HPLC-MS/MS や cryo-TOF-SIMS/SEM により、これらジアミン化合物はダイズやトマトの根から分泌され、根端付近で濃度勾配を形成していることも明らかになった。線虫は、根付近のジアミン化合物を受容することで植物の根の位置を認識して感染していると予想される。そこで、炭素架橋数 3-

5 のジアミン化合物をシロイヌナズナの根に処理して、線虫感染試験を行った。その結果、処理後 3 日目でネコブ数が Mock 処理と比較して有意に上昇したことから、これらジアミン化合物は線虫感染を正に制御する物質である事が明らかになった (Oota *et al.*, 2020)。本研究によって、線虫感染に重要な真の線虫誘引物質の 1 つがついに同定されたと言えるだろう。

一方で、我々の研究によって種子由来のムシレージも線虫の誘引と感染に重要であることが分かっており、種子においても線虫-植物の相互作用が存在することが示唆されている (Tsai *et al.*, 2019)。しかしながら、現状はこれらジアミン化合物やムシレージが線虫感染に重要な化合物として唯一発見されているだけである。今後は、実際に植物の根抽出物から線虫誘引物質が単離されることに期待したい。

このように、我々の研究によって交信に関与するリガンドは徐々に明らかになってきているが、残念ながら線虫側のリガンド受容体については全く明らかになっていない。絶対寄生で単為生殖のサツマイモネコブセンチュウは、その 1 系統の維持だけでも非常に手間がかかることから、変異体の作製技術に関する研究があまり進展していないのが主な原因である。RNAi による遺伝子ノックダウン技術に関する研究がわずかに進展しているが、発現量は半分程度にしか下がらないなど、問題が多い。今後、*C. elegans* のように扱える実験技術の開発を期待したい。その一方で、他の生物種ではアミン受容体に関する研究が比較的活発に展開されているので、次章ではその中からヒントになりそうな例をいくつか紹介したい。

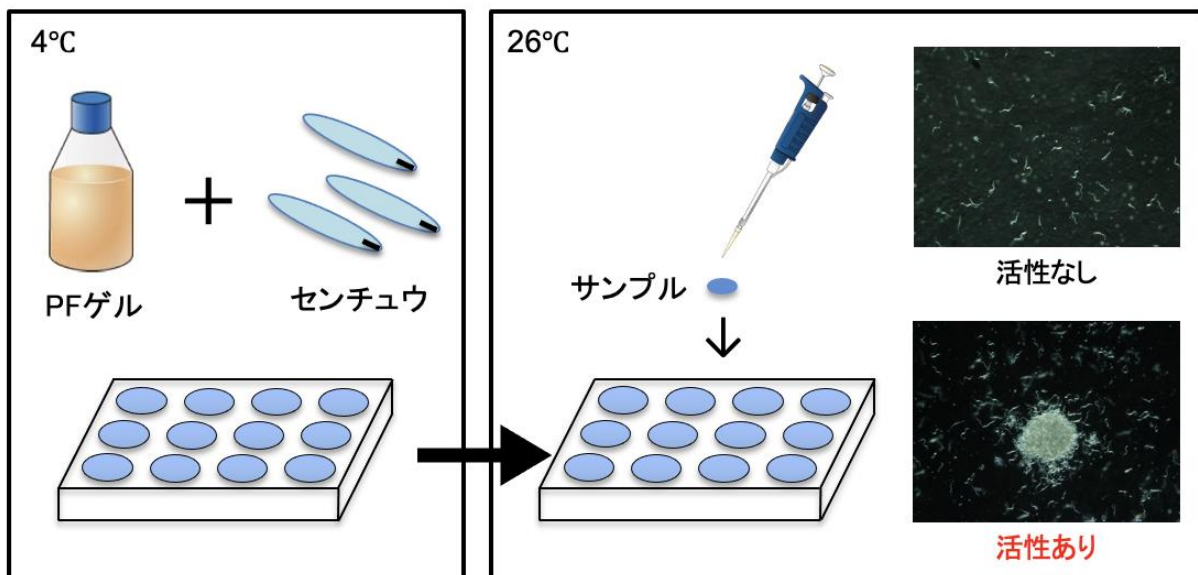


図 2 PF ゲルを用いた線虫誘引試験の模式図

低温で液状、常温でゲル状を示す PF ゲルを利用した線虫誘引試験。4°C で線虫と PF ゲルを混ぜて 26°C に移動すれば、ゲルが固まり線虫が 3 次元的に動けるようになる。サンプルを滴下した位置に線虫が集積してコロニーを形成していれば活性ありと判断する。



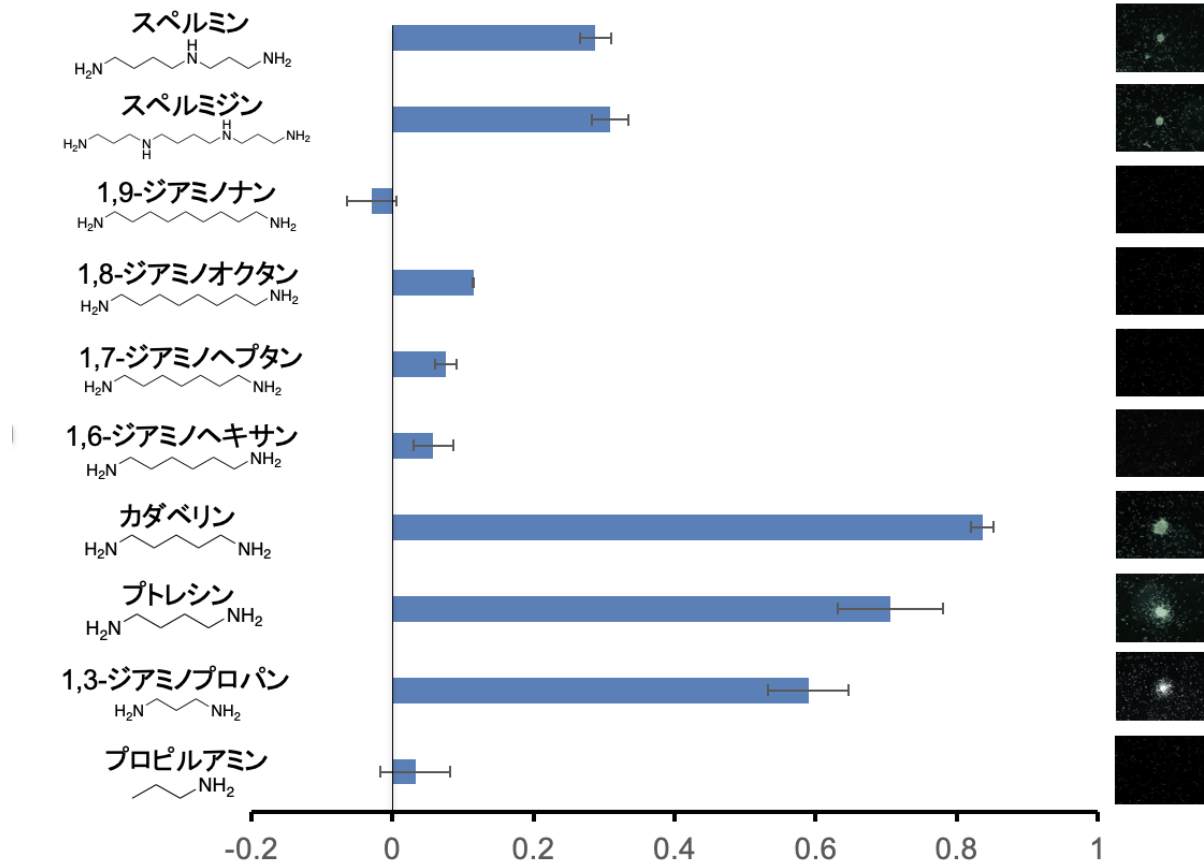


図3 様々なポリアミン化合物に対する線虫誘引試験の結果

スクリーニングにより単離されたジアミノプロパンの類縁体に対して線虫誘引試験を行った結果。グラフはそれぞれの化合物の線虫誘引活性を示す。右端の写真はそれぞれの化合物に対し線虫誘引試験を行った際の代表的な写真。

#### 4. アミン受容体に関する研究成果

上述のように、嗅覚研究のモデル生物である *C. elegans* では、既に 194 個の嗅覚受容体候補遺伝子が同定されている (Taniguchi *et al.*, 2014)。我々はこの知見を利用して、5 種の代表的な植物寄生性線虫における、受容体候補遺伝子のオルソログを同定するために、ホモロジーサーチを行った (Tsai *et al.*, 2020 ; 表 2)。大半のオルソログは植物寄生性線虫に保存されていなかったが、いくつかのオルソログは保存されていた。その中でも興味深いものとして、SRG-37 が挙げられる。SRG-37 は、*C. elegans* ではアミンの一種であるピラジン受容体として知られており、サツマイモネコブセンチュウとアレナリアネコブセンチュウにオルソログが 1 つずつ保存されていた。これらの知見を参考にして、これらネコブセンチュウ類に存在する SRG-37 のホモログが、ジアミン化合物等の線虫誘引物質の受容に関連するのか、今後の解明が期待される。

一方、これまでに、魚類においてアミン受容体の研究が盛んに行われてきており、中でもゼブラフィッシュには 7 回膜貫通型受容体 (GPCR) のアミン受容体である Trace amine-associated receptors (TAARs) が 112 種類存在することが報告されている (Ashiq *et al.*, 2009)。さ

らに、その中の TAAR13c はカダベリン等のジアミンを受容する事が明らかになっており、これまでに TAAR13c の詳細な解析が行われている (Ashiq *et al.*, 2013)。その中で、カダベリン等のジアミンの受容には、膜貫通ドメイン TM3 の D112 (3.32) と TM5 の D202 (5.42) が重要である事が示されており、どちらが欠けても活性は大きく減少することが分かっている。さらに魚類では、モノアミン受容体の TAARs が、進化の過程で TM5 の D202 (5.42) を獲得したことによってジアミンを受容できるようになったことが、遺伝学的解析や分子系統解析によって明らかになっている (Qian *et al.*, 2015)。

そこでこれらの知見を参考にして再び、5 種の植物寄生性線虫における、TAAR13c のホモロジーサーチを行った。その結果、ネコブセンチュウ類には TAAR13c のホモログが保存されていることが明らかになった。しかし興味深いことに、TM3 のアスパラギン酸は保存されていたものの、TM5 のアスパラギン酸は保存されていなかった。これらの結果から、ネコブセンチュウ類はジアミンの受容において、魚類とはまた異なる受容体やメカニズムを使用していることが示唆される。今後は、ネコブセンチュウ類の様々な受容体候補の欠損変異体の解析等を行う事で、リガンド-受容体の組合せを包括的に明らかにし、多細胞動物の多細胞植物認識機構とその分子進化、さらには、独自に進化していく動植物の相互作用の組合せの進化の道筋などが明らかになると期待している。

C. elegans GPCR	予想される機能	種	オルソログ
SRV-11	ペンタンジオンを忌避	<i>B. xylophilus</i>	BXY_0066100
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_1231200
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_0069300
SRV-12	ベンズアルデヒドに誘引	<i>B. xylophilus</i>	BXY_0066100
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_1231200
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_0069300
SRSX-26	ブタノンに誘引	<i>B. xylophilus</i>	BXY_1070000
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_1013200
SRSX-32	ピラジンに誘引	<i>B. xylophilus</i>	BXY_1070000
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_1013200
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_1013400
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_0557500
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_0027800
SRSX-33	ペンタンジオンとピラジンに誘引	<i>B. xylophilus</i>	BXY_1070000
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_0809300
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_1013400
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_0557500
		<i>B. xylophilus</i>	BXY_0027800
SRSX-37	ペンタンジオンに誘引	<i>B. xylophilus</i>	BXY_1013400
SRT-18	ジアセチルを忌避	<i>B. xylophilus</i>	BXY_1024600
SRT-25	ジアセチルを忌避	<i>B. xylophilus</i>	BXY_1024600
SRG-37	ピラジンに誘引	<i>M. incognita</i>	Minc3s00775g17185
		<i>M. arenaria</i>	tig00002579.g60974

**表 2 植物寄生性線虫に存在する *C. elegans* の嗅覚受容体オルソログ**

サツマイモネコブセンチュウ、アレナリアネコブセンチュウ、ダイズシストセンチュウ、ジャガイモシストセンチュウ、マツノザイセンチュウに存在する *C. elegans* の嗅覚受容体オルソログ、予想される機能。

## 5. 終わりに

これまでのモデル植物を用いた分子遺伝学的な解析によって、植物の生理機能や発生に関わる遺伝子の機能はかなり明らかにされてきた。その一方で、残りの機能未知な遺伝子のほとんどは、無菌条件下の単独栽培では表現型が見られず、これらの多くは生物間相互作用に働く可能性があると考えられている (Shimizu & Purugganan, 2005)。実際に、もともと植物は根粒菌との「相利共生」や、線虫による「寄生」に代表されるように、自然界で様々な生物との相互作用のもとに生活している。このことから、外部生物との関わりによって初めて機能を発揮する、未知な植物の遺伝子が多数存在することが考えられる。現に、生物間相互作用の代表的な実験系である、バクテリアやカビなどの植物-微生物間の相互作用に関する分子遺伝学な研究により、根粒形成に関わる因子 CLE-RS1/2 や HAR1 等のような、新規遺伝子の機能が発見されてきた (Okamoto *et al.*, 2009, 2013)。本研究においても同様に、センチュウ誘引を指標とすることで、これまでに見えてこなかった植物の新規な遺伝子機能の発見に繋がる可能性があり、生物間相互作用の新たな研究領域を切り開くことができるだろう。

興味深いことに、ネコブセンチュウやシストセンチュウのゲノム上には、植物の形態形成に重要な CLE 遺伝子と類似した配列が含まれていることが報告されている (Mitchum *et al.*, 2008; Rutter *et al.*, 2014; Yuan *et al.*, 2020)。植物寄生性線虫は CLE ペプチドなどの植物の形態形成を司る遺伝子を獲得したことで、植物細胞を自身が好む摂食細胞へと改変させること等により、植物体内で生活できるようになったのだろう (Kikuchi *et al.*, 2017)。このような例は、CLE などの線虫が植物に侵入した後に機能する遺伝子だけではなく、線虫が根に侵入する前の段階に必要な、誘引物質に対する受容体や、細胞壁分解酵素にも当てはまる。*C.elegans* のようなバクテリアを餌とする自活性線虫とは対照的に、植物寄生性線虫は植物を認識し、侵入するための機能を獲得したことで、植物に寄生できるようになったのである。誘引物質の受容体を獲得してから細胞壁分解酵素や CLE ペプチドを獲得したのか、その逆なのか。マツに寄生するマツノザイセンチュウは今でもカビを捕食する事ができるので、これら謎を解く手掛かりになるだろう。

植物側もやられっぱなしではなく、進化の過程で植物寄生性線虫に対抗する術を獲得した例もある。マリーゴールドがその最たる成功事例であり、根から  $\alpha$ -ターチニールという殺線虫物質を分泌して線虫の侵入を防ぐ。仮に根に侵入されたとしても、線虫は成熟できずに根の中で死滅してしまう (Uhlenbroek & Bijloo, 1960)。このような宿主-寄生者の相互作用において、それぞれが相手を追い越すためにできるだけ速く進化すると考えられており、現にカメムシは植物が外敵から身を守るための防御物質を、逆に誘引物質として利用している。今後も植物感寄生性線虫の感染過程における分子メカニズムの解明を進めることで、植物と動物の相互作用に関わる進化の謎をひも解くことができるはずである。これからも植物と線虫の攻防から目が離せない。

## 引用文献

- Abad, P., Gouzy, J., & Aury, JM. 2008. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nature Biotechnology*. 26: 909-915.
- Ashiq, H., Luis, R. S., & Sigrun, I. K. 2009. Positive darwinian selection and the birth of an olfactory

- receptor clade in teleosts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 11: 4313–4318.
- Ashiq, H., Luis, R. S., David, M. F., Gaurav, A., Venkatesh, S. K., Stephen, D. L., & Sigrun, I. K. 2013. High-affinity olfactory receptor for the death-associated odor cadaverine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 48: 19579–19584.
- Čepulytė, R., Danquah, W. B., Bruening, G., & Williamson, V. M. 2018. Potent attractant for root-knot nematodes in exudates from seedling root tips of two host species. *Sci. Rep.* 8 (1), 10847.
- Chin, S., Behm, C. A., & Mathesius, U. 2018. Functions of flavonoids in plant-nematode interactions. *Plants (Basel)* 7 (4). pii, E85.
- Dong, L., Li, X., Huang, L., Gao, Y., Zhong, L., Zheng, Y. et al. 2014. Lauric acid in crown daisy root exudate potently regulates root-knot nematode chemotaxis and disrupts Mi-flp-18 expression to block infection. *J. Exp. Bot.* 65 (1), 131-141.
- Favery, B., Quentin, M., Jaubert-Possamai, S., & Abad, P. 2016. Gall-forming root-knot nematodes hijack key plant cellular functions to induce multinucleate and hypertrophied feeding cells. *J Insect Physiol.* 84: 60–69.
- Fleming, T. R., Maule, A. G., & Fleming, C. C. 2017. Chemosensory responses of plant parasitic nematodes to selected phytochemicals reveal long-term habituation Traits. *J. Nematol.* 49 (4), 462-471.
- Hosoi, A., Katsuyama, T., Sasaki, Y., Kondo, T., Yajima, S., & Ito, S. 2017. Nitrate analogs as attractants for soybean cyst nematode. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 81 (8), 1542-1547.
- 神崎菜摘 2013. 昆虫嗜好性線虫の分類及び生態学的研究. 公益財団法人農学会. 日本農学進歩賞受賞記念.
- Kikuchi, T., den Akker S.E., & Jones, J.T. 2017. Genome evolution of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology.* 55: 333-354.
- Michael, K., & Bone, L. W. 1983. Chemotaxis of larval soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* Race 3, to root leachates and ions. *Journal of Chemical Ecology.* 3: 387–396.
- Mitchum, M.G., Wang, X., & Davis, E.L. 2008. Diverse and conserved roles of CLE peptides. *Curr Opin Plant Biol.* 11: 75–81.
- Yuan, N., Furumizu, C., Zhang, B., & Sawa, S. 2020. Database mining of plant peptide homologues. *Plant Biotechnology.* 38: 1–7.
- Nicky, J.A., Catherine, J.L., & Peter, E. U. 2013. Identification of genes involved in the response of *Arabidopsis* to simultaneous biotic and abiotic stresses. *Plant Physiology.* 4: 2028–2041.
- Nicol, J.M., Turner, S.J., Coyne, D.L., den Nijs L., Hockland, S., & Maafi, Z.T. 2011. Current nematode threats to world agriculture. *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions.* 21-43.
- Ohri, P., & Pannu, S.K. 2010. Effect of phenolic compounds on nematodes - A review. *J. Nat. Appl. Sci.* 2, 344-350.
- Okamoto, S., Ohnishi, E., Sato, S., Takahashi, H., Nakazono, M., Tabata, S., & Kawaguchi, M. 2009. Nod factor/nitrate-induced CLE genes that drive HAR1-mediated systemic regulation of nodulation.

- Plant Cell Physiol. 50: 67–77.
- Okamoto, S., Shinohara, H., Mori, T., Matsubayashi, Y., & Kawaguchi, M. 2013. Root-derived CLE glycopeptides control nodulation by direct binding to HAR1 receptor kinase. *Nat. Commun.* 4: 2191.
- Oota, M., Tsai, A. Y., Aoki, D., Matsushita, Y., Toyoda, S., Fukushima, K., Saeki, K., Toda, K., Perfus-Barbeoch, L., Favery, B., Ishikawa, H., & Sawa, S. 2020. Identification of naturally occurring polyamines as root-knot nematode attractants. *Mol. Plant.* 13: 658-665.
- Papademetriou, M. K., & Bone, L. W. 1983. Chemotaxis of larval soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* race 3, to root leachates and ions. *J. Chem. Ecol.* 9 (3), 387-396.
- Qian, L., Yaw, T., Zhikai, L., Maude, W.B., Andrew, C.K., & Stephen, D. L. 2015. Non-classical amine recognition evolved in a large clade of olfactory receptors. *eLife.* 4: e10441.
- Rutter, W. B., Hewezi, T., Maier, T. R., Mitchum, M. G., Davis, E. L., Hussey, R. S., & Baum, T J. 2014. Members of the *Meloidogyne* avirulence protein family contain multiple plant ligand-like motifs. *Phytopathology.* 104: 879–885.
- Shimizu, K., & Purugganan, MD. 2005. Evolutionary and ecological genomics of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology.* 138: 578-584.
- Taniguchi, G., Uozumi, T., Kiriya, K., Kamizaki, T., & Hirotsu, T. 2014. Screening of odor-receptor pairs in *Caenorhabditis elegans* reveals different receptors for high and low odor concentrations. *Science Signaling.* 323: 39.
- Tsai, A. Y., Higaki, T., Nguyen, C.N., Perfus-Barbeoch, L., Favery, B., & Sawa, S. 2019. Regulation of root-knot nematode behavior by seed-coat mucilage-derived attractants. *Molecular Plant.* 12: 99-112.
- Tsai, A. Y., Oota, M., & Sawa, S. 2020. Chemotactic host-finding strategies of endophytic organisms. *Frontiers Plant Science.* 11:1167.
- Uhlenbroek, J. H., & Bijloo, J. D. 1960. Isolation and structure of a nematocidal principle occurring in *Tagetes* roots. *International Congress of Crop Protection (4th), Proceedings.* 1: 579-580.
- Wang, C., Lower, S., & Williamson, V.M. 2009. Application of pluronic gel to the study of root-knot nematode behaviour. *Nematology* 11:453–464.
- Wang, C., Masler, E. P., & Rogers, S. T. 2018. Responses of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* infective juveniles to root tissues, root exudates, and root extracts from three plant species. *Plant Dis.* 102 (9), 1733-1740.
- Yang, G., Zhou, B., Zhang, X., Zhang, Z., Wu, Y., Zhang, Y. et al. 2016. Effects of tomato root exudates on *Meloidogyne incognita*. *PLoS One* 11 (4), e0154675. *Plant Biotech.* In Press.
- 安田 & 西條. 2021 高湿度環境における植物と病原細菌の水をめぐる攻防. *BSJ Review* 12B: 112-120.
- Yuan N., Furumizu C., Zhang B., & Sawa S. 2020. Database mining of plant peptide homologues.
- Zhao, X., Schmitt, M., & Hawes, M. C. 2000. Species-dependent effects of border cell and root tip exudates on nematode behavior. *Phytopathology* 90 (11), 1239-1245.

# 異種間シグナル物質であり植物ホルモンであるという ストリゴラクトンの二面的機能の起源と進化

経塚淳子

東北大学大学院生命科学研究所  
〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平 2-1

## Origin and evolution of dual function of strigolactone

Junko Kyojuka

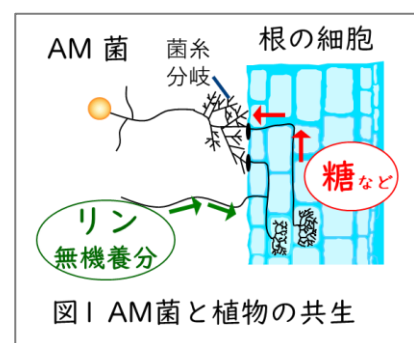
Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,  
2-1 Katahira, Aoba-ku, Sendai, 980-8577, Japan

Keywords: allelochemical, AM symbiosis, bryophyte, plant hormone, strigolactone

DOI: 10.24480/bsj-review.12b7.00208

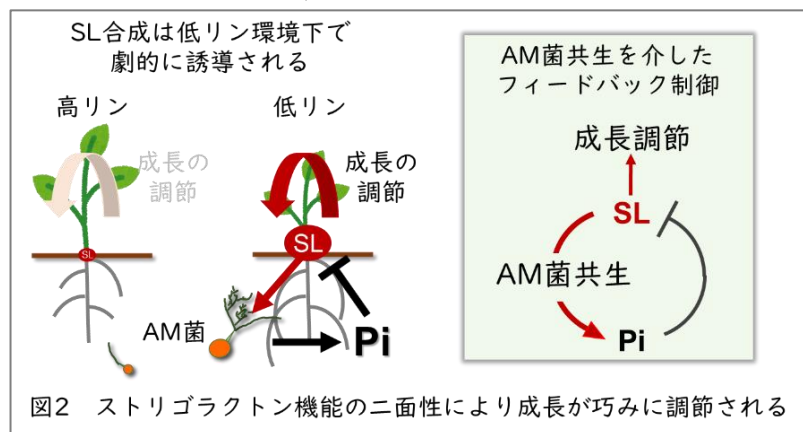
### 1. はじめに

陸上植物は4億5千万年以上前に藻類の祖先から進化した (Bowman et al. 2017, Delwiche & Cooper 2015)。陸上に進出した植物は、紫外線、重力、乾燥など陸上の過酷な環境に適応するさまざまな仕組みを進化させることにより陸上で繁栄してきた (Cheng et al. 2019, Nishiyama et al. 2018)。植物が陸上進出した当時の土壌は無機養分に乏しかったため、養分吸収も克服すべき問題であった。土壌中の必須無機要素のなかでも植物の成長に大きな影響を及ぼすのがリンである。ところが、リンは土壌中での動きが小さく、根のごく近傍からしか吸収されないため植物にとって利用しにくい養分である。そこで、植物はアーバスキュラー菌根菌 (Arbuscular mycorrhizal fungi : AM 菌) との共生システムを進化させることでリンの効率的な吸収を可能にした (Field et al. 2015)。AM 菌の菌糸は植物の根が届かない遠方まで伸長し、根が入り込めない微細間隙にまで入り込むことで植物のリン吸収を助ける。その一方で植物は、AM 菌に糖や脂質を供給する (Lanfranco et al. 2018, Smith & Read 2008) (図 1)。AM 菌との共生は、植物の陸上進出を可能にした決め手の 1 つであり、両者の共生関係はその後も維持され、現生するほとんどの陸上植物は AM 菌と共生している。AM 菌との共生システムの成立、AM 菌共生と成長のバランス制御、また、そのシステムの進化は植物の旺盛な繁殖を支えるしくみを考えるうえで興味深い。



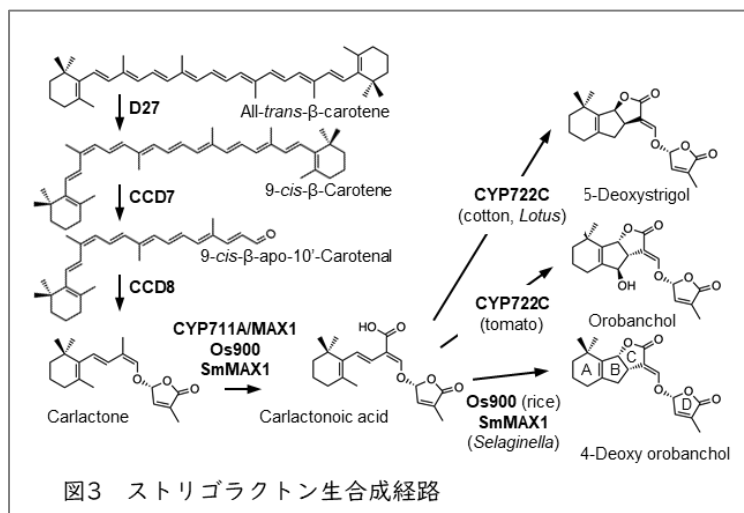
## 2. ストリゴラクトンを介した成長と共生の制御

近年、植物-AM菌の共生に関する研究が進展し、養分環境に適応するための共生と成長とのバランス制御が分子レベルで明らかにされ始めた。そのバランス制御においてはストリゴラクトン(SL)が重要な役割を果たす。植物がAM菌の外生菌糸の分岐を促進する物質を根から分泌し、それにより共生が促進されることは以前から知られていた。大阪府立大学の秋山らはその物質がストリゴラクトンであることを2005年に報告した(Akiyama et al. 2005)。さらに、2008年には、ストリゴラクトンが植物体内では枝分かれの伸長を抑える植物ホルモンとして作用することがイネ、シロイヌナズナ、エンドウマメを用いた研究により発見された(Gomez-Roldan et al. 2008, Umehara et al. 2008)。すなわち、少なくとも種子植物では、ストリゴラクトンは個体外に分泌されAM菌に作用して共生を促進する根圏異種間シグナル物質であり、また、個体内で植物の成長を調節する植物ホルモンでもある。ストリゴラクトン合成は低リン条件において劇的に促進される(Kapulnik & Koltai 2016, Yoneyama et al. 2012, 2013)。これは、土壤に分泌するストリゴラクトン量を増加させてAM菌との共生を促進すると同時に、植物体内では枝分かれを制御し茎葉の成長を抑制するという植物のリン欠乏対応戦略である(図2)。ストリゴラクトンがこのように二面的な機能をもつことで、土壤中の栄養条件に応じて養分吸収(AM共生)と成長のバランスを調節し、変動する環境下における成長を最適化する巧みなフィードバック機構が構築されたのである。個体内で植物ホルモンとして機能し、さらに個体外に分泌されて他種生物との異種間シグナル物質として作用するという二面的な機能をもつ植物ホルモンはストリゴラクトンだけである。



## 3. ストリゴラクトン合成経路の起源と進化

植物ホルモンとしてのストリゴラクトンが発見されて以降、約10年の間にストリゴラクトン



ン生合成経路の概要が解明された。ストリゴラクトン合成では、まず、all-trans- $\beta$ -caroteneがD27により9-cis- $\beta$ -caroteneに変換され、9-cis- $\beta$ -caroteneは2つのカロチノイド開裂酵素 Carotenoid Cleavage Dioxygenases (CCD7およびCCD8)による連続的な酸化開裂反応を受け、カーラクトン (Carlactone) が合成される。カーラクトンは *MORE AXILLARY GROWTH 1*

(*MAX1*)がコードする cytochrome P450 である CYP711A によりカーラクトン酸 (Carlactonic acid) に転換され、カーラクトン酸から種に特異的な P450 (CYP711A および CYP722C) により 4-deoxyorobanchol (4DO) や orobanchol, 5-deoxystrigol (5DS) などのストリゴラクトンが生成される (Abe et al. 2014, Iseki et al. 2018, Seto et al. 2014, Yoneyama et al. 2018, Zhang et al. 2014, Wakabayashi et al. 2019, 2020, Mori et al. 2020) (図 3)。このように、ストリゴラクトン合成経路は明らかになったが、ストリゴラクトンとは類似の構造をもつ物質の総称であり、他の植物ホルモンとは異なり活性型ストリゴラクトンの構造が種ごとに異なる (Yoneyama et al. 2018)。また、細胞内に微量しか存在しないこともあり、活性型ストリゴラクトンに関する知見は十分とは言えない。ストリゴラクトン合成はおもに種子植物について解析され、これまでに 30 種類程度のストリゴラクトンが同定されているが、種子植物以外のストリゴラクトンに関する知見は乏しい。

AM 菌との共生は藻類では見られないがコケ植物は AM 菌と共生する (Smith & Read 2008)。コケ植物の 3 つのグループ、苔類、蘚類、ツノゴケ類のなかでは苔類とツノゴケ類で AM 菌との共生が見られる (Radhakrishnan et al. 2020)。コケ植物の 3 グループは単系統であり (Morris et al. 2018), 最も早く分岐したツノゴケ類が AM 菌共生することから、蘚類では AM 菌共生能力が失われたと考えられる。苔類ではゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) のゲノム配列がまず決定され分子遺伝学的解析のプラットフォームが整備されたことから、ゼニゴケは苔類だけではなく基部陸上植物のモデルとして植物の進化の研究に盛んに用いられている (Bowman et al. 2017)。しかしながら、苔類のなかでは例外的にゼニゴケは AM 菌と共生しない。一方、フタバネゼニゴケ (*Marchantia paleacea*), トサノゼニゴケ (*Marchantia emarginata*), ヒトデゼニゴケ (*Marchantia pinata*) などゼニゴケ近縁種は AM 菌と共生する (図 4)。最近報告されたフタバネゼニゴケのゲノム配列によると、フタバネゼニゴケゲノムには *CCD8*, *MAX1* を含めてストリゴラクトン



図4 フタバネゼニゴケ(*M. paleacea*) (左)とゼニゴケ(*M. polymorpha*) (右) bar: 1 cm

合成に必要な遺伝子がすべて存在する (Radhakrishnan et al. 2020)。一方、ゼニゴケゲノムにはストリゴラクトン合成に必須の *CCD8* 遺伝子と *MAX1* 遺伝子が欠損しており、ストリゴラクトンを合成していないと考えられる (Bowman et al. 2017)。ゼニゴケ野生型の TK1 系統からのストリゴラクトン検出が 2012 年に報告されているが、筆者らを含めて複数のグループがこの結果を再現できていない (Delaux et al. 2012)。Delaux らは車軸藻類からもストリゴラクトンが検出されたことを報告しているが、これについても再現性などの点で議論がある (Delaux et al. 2012, Yoneyama 2018)。ゼニゴケには *D27* および *CCD7* 遺伝子は存在する。筆者らはゼニゴケにイネ *D10* 遺伝子 (*CCD8* をコードする) を導入したところ、*CCD8* の産物であるカーラクトンが検出された (Arite et al. 2007)。この結果は、ゼニゴケではストリゴラクトン合成経路が *CCD7* までは機能的であるが、*CCD8* の欠損によりそれ以降の過程が進まないということを示唆しており、ゼニゴケはストリゴラクトンを合成していないという解釈を支持する。これらを総合すると、苔類では一般的なストリゴラクトン合成経路によりストリゴラクトンが合成されており、ストリゴラクトンを分泌することにより AM 菌との共生を

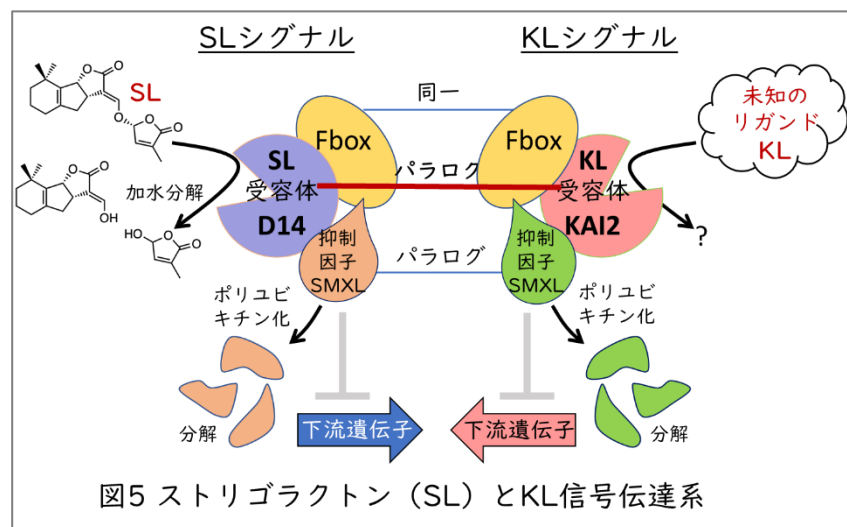


促進するという戦略はコケ植物と種子植物の共通祖先においてすでに構築されていたと考えられる。蘚類でもヒメツリガネゴケは *MAX1* 遺伝子をもたず、ストリゴラクトンを合成しないことが示されており、*MAX1* を失ったことが AM 菌と共生しない原因のひとつであると考えられる (Decker et al. 2017)。今後は、苔類が合成するストリゴラクトンの同定や、他の基部陸上植物やシダにおけるストリゴラクトンと共生の関連など、ストリゴラクトンの祖先的機能やその進化の解明が期待される。

#### 4. ストリゴラクトン信号伝達系の起源と進化

植物ホルモンとしてのストリゴラクトンの発見以来、ストリゴラクトン信号伝達の理解も進んだ (Waters et al. 2017)。ストリゴラクトン受容体は  $\alpha\beta$  加水分解酵素ファミリーに属する D14 である (Arite et al. 2009, Nakamura et al. 2013, Yao et al. 2016)。D14 はストリゴラクトンと結合すると F-ボックスタンパク質である MAX2/D3, 転写抑制因子である SMXL と複合体を作る。これにより SMXL が分解され、その結果、SMXL に抑制されていた遺伝子群が発現を開始する (Jiang et al. 2013, Wang et al. 2015, Zhou et al. 2013)。ストリゴラクトンは枝分かれの伸長を抑制するホルモンとして発見されたが、その後、ストリゴラクトンはそれ以外にも成長や環境応答においてさまざまな役割を果たしていることが明らかになった。植物ホルモンとしてのストリゴラクトン

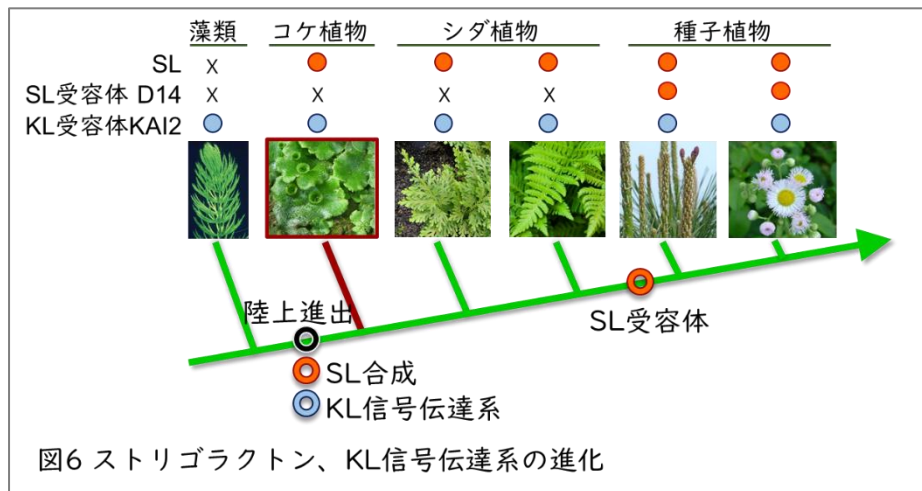
の機能の多様性がもたらされるメカニズムの一つは SMXL の遺伝子重複であると考えられるが、SMXL の下流遺伝子など分子レベルでのメカニズムはほとんど知られていなかった。最近、網羅的解析による下流遺伝子単離が報告されており、今後の研究の進展が期待される (Song et al. 2017, Wang et al. 2020)。



種子植物は *D14* とそのパラログ *KARRIKIN INSENSITIVE 2 (KAI2)* をもつ (Bythell-Douglas et al. 2017, Waters et al. 2012, Waters et al. 2017)。*KAI2* は植物が燃えた際に発生する物質であるカリキンの受容体としてシロイヌナズナのスクリーニングから単離されたが (Guo et al., 2013, Waters et al., 2012), *kai2* 機能欠損変異体ではカリキンとは独立に種子発芽が抑制されることから *KAI2* は内在性の物質を受容していると考えられているが、内在性のリガンドは同定されておらず、便宜的に *KAI2 ligand (KL)* と呼ばれている (Conn & Nelson 2016, Scaffidi et al. 2013, Stanga et al. 2016, Waters et al. 2012)。ストリゴラクトン信号伝達系と KL 信号伝達系は F-ボックスタンパク質である MAX2/D3 を共有しており、リガンドが受容されると MAX2/D3 により転写抑制因子である SMXL タンパク質が分解に導かれ、その結果、下流遺伝子の転写

が調節される (Jiang et al., 2013, Wang et al. 2015, Zhou et al. 2013) (図 5)。SMXL は遺伝子ファミリーを構成しており、ストリゴラクトン信号伝達経路と KL 信号伝達経路で異なる SMXL が分解されることにより作用の特異性が生まれる (Jiang et al. 2013, Zhou et al. 2013, Liang et al. 2016, Stanga et al. 2013, Wang et al. 2015)。

*D14* と *KAI2* は遺伝子重複によってできたパラログであるが、*KAI2* が藻類から種子植物までに存在するのに対して *D14* は種子植物にしか存在しない。すなわち、*KAI2* が祖先型であり、種子植物の共通祖先で起こった *KAI2* の遺伝子重複により *D14* 遺伝子が生じ、ストリゴラクトン信号伝達系が分化したと考えられる (図 6)。先述したように、少なくともフタバネゼニゴケなど AM 菌共生する苔類はストリゴラクトンを合成・分泌している可能性が高い。しかしながら、コケ植物



ラクトン信号伝達系が分化したと考えられる (図 6)。先述したように、少なくともフタバネゼニゴケなど AM 菌共生する苔類はストリゴラクトンを合成・分泌している可能性が高い。しかしながら、コケ植物

はストリゴラクトン受容体である *D14* をもたない。シロイヌナズナでは、*D14* と *KAI2* はそれぞれ特異的にストリゴラクトンとカリキンを受容する (Soundappan et al. 2015)。また、筆者らはフタバネゼニゴケの *ccd8* 変異体が KL 信号伝達系変異体が示す表現型を示さないことを確認しており (Mizuno et al. unpublished, Shimazaki et al. unpublished), フタバネゼニゴケで *KAI2* がストリゴラクトン受容体として機能する可能性は低い。今のところフタバネゼニゴケが合成するストリゴラクトンの受容機構は不明であるが、筆者らは、フタバネゼニゴケなど苔類ではストリゴラクトンは細胞内で受容されていないと考え、根圏シグナル物質としての機能がストリゴラクトンの祖先型の機能であるという仮説を提唱する。すなわち、ストリゴラクトンはそもそも土壤中に分泌されて AM 菌との共生を促進することにより植物の成長調節に貢献していたが、*KAI2* の遺伝子重複により *D14* が分化した結果、細胞内でストリゴラクトンが受容されるようになり、ストリゴラクトンは植物の成長制御にも直接関わるようになったと考える。ストリゴラクトンが個体内と外の両方で働くことで、ストリゴラクトンを介した養分吸収と植物の成長のバランス統御機構もより巧妙に進化したと考えられる。また、この仮説が正しければ、植物ホルモンとしてのストリゴラクトンとその受容体は独立に出現したということになり、植物ホルモンの進化の道筋としてユニークであり興味深い。

## 5. KL 信号伝達系の祖先型機能

コケ植物には、*KAI2* だけではなく F ボックス遺伝子 *MAX2/D3* および *SMXL* など KL 信号伝達系に必要な遺伝子セットが揃っている (Bowman et al. 2017, Radhakrishnan et al. 2020)。しかし、水中生活する車軸藻類は *SMXL* をもたないことから、KL 信号伝達系はコケ植物が分

岐する頃に機能し始めたと考えられる (Moturu et al. 2018, Walker 2019)。この KL 信号伝達系の祖先型機能の解析コケ植物は生育期間のほとんどを単数体で過ごし無性的に旺盛に繁殖する。ゼニゴケの無性繁殖では無性芽が多数形成され、無性芽は環境に応じて地上で発芽・成長し、再び大量の無性芽を産出する。この無性芽を介した繁殖システムがゼニゴケの驚異的な増殖力の源である。筆者らはゼニゴケを用いて KL 信号伝達系の機能解析を進めており、KL 信号伝達系は成長様式の制御に関わることを見出している。シロイヌナズナやイネの KL 信号伝達系の機能欠損変異体では、種子発芽率の低下、葉柄の伸長抑制、暗所でのメソコチルの伸長抑制などの表現型が認められるが、成長が劇的に影響されるわけではない (Kameoka & Kyojuka 2015, Waters et al., 2012, 2017, Zheng 2020)。また、イネでは *KAI2* が AM 菌共生の成立に必要であることが報告されているが (Gutjahr et al. 2015)、これが他の種でも保存されている機能なのかは明らかではない。KL 信号伝達系の祖先型機能やその進化の理解は、ストリゴラクトンおよび KL 信号伝達による植物の成長の制御の進化全貌を明らかにするために不可欠である。また、ストリゴラクトン信号伝達の祖先型である KL 信号伝達系の基部陸上植物での機能とその進化も重要な問題である。ストリゴラクトンが植物ホルモンとしての機能を獲得した際、KL 信号伝達系の祖先型機能と植物ホルモンとしてのストリゴラクトン機能には関連があったのかどうかなどたくさんの興味深い問題が残されている。

## 6. 今後の展望

細胞外に分泌されるアレロケミカルとして誕生したストリゴラクトンが細胞内で植物ホルモンとして働くようになった進化過程を明らかにすることは、このユニークな植物ホルモンを理解し、さらに物質を介した個体内外、細胞内外のコミュニケーションの成立や進化について新規の概念につながるものと期待される。

## 引用文献

- Abe, S., Sado, A., Tanaka, K., Kisugi, T., Asami, K., Ota, S., Kim, H.I., Yoneyama, K., Xie, X., Ohnishi et al. 2014. Carlactone is converted to carlactonoic acid by MAX1 in Arabidopsis and its methyl ester can directly interact with AtD14 in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111: 18084-18089.
- Akiyama, K., Matsuzaki, K. & Hayashi, H. 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435: 824–827.
- Arite, T., Iwata, H., Ohshima, K., Maekawa, M., Nakajima, M., Kojima, M., Sakakibara, H., & Kyojuka, J. 2007. *DWARF10*, an *RMS1/MAX4/DAD1* ortholog, controls lateral bud outgrowth in rice. *Plant J*. 51: 1019-1029.
- Arite, T., Umehara, M., Ishikawa, S., Hanada, A., Maekawa, M., Yamaguchi, S., & Kyojuka, J. 2009. *d14*, a strigolactone-insensitive mutant of rice, shows an accelerated outgrowth of tillers. *Plant Cell Physiol*. 50: 1416-1424.
- Bythell-Douglas, R., Rothfels, C.J., Stevenson, D.W.D., Graham, S.W., Wong, G.K., Nelson, D.C., & Bennett, T. 2017. Evolution of strigolactone receptors by gradual neo-functionalization of *KAI2* paralogues. *BMC Biol*. 15: 52
- Bowman, J.L., Kohchi, T., Yamato, K.T., Jenkins, J., Shu, S., Ishizaki, K., Yamaoka, S., Nishihama, R.,

- Nakamura, Y., Berger, F. et al. 2017. Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. *Cell* 171: 287–304.
- Cheng, S., Xian, W., Fu, Y., Marin, B., Keller, J., Wu, T., Sun, W., Li, X., Xu, Y., Zhang, Y. et al. 2019. Genomes of subaerial *Zygnematophyceae* provide insights into land plant evolution. *Cell* 179: 1057–1067.
- Conn, C.E., & Nelson, D.C. 2016. Evidence that KARRIKIN-INSENSITIVE2 (KAI2) receptors may perceive an unknown signal that is not Karrikin or Strigolactone. *Front Plant Sci.* 6: 1219.
- Decker, E.L., Alder, A., Hunn, S., Ferguson, J., Lehtonen, M.T., Scheler, B., Kerres, K.L., Wiedemann, G., Safavi-Rizi, V., Nordzicke, S. et al. 2017. Strigolactone biosynthesis is evolutionarily conserved, regulated by phosphate starvation and contributes to resistance against phytopathogenic fungi in a moss, *Physcomitrella patens*. *New Phytol.* 216: 455-468.
- Delaux, P.-M. Xie, X., Timme, R.E., Puech-Pages, V.E., Dunand, C., Lecompte, E., Delwiche, C.F., Yoneyama, K., Bécard, G. et al. 2012. Origin of strigolactones in the green lineage. *New Phytol.* 195: 857–871.
- Delwiche, C. F., & Cooper, E. D. 2015. The evolutionary origin of a terrestrial flora. *Curr. Biol.* 25: R899–R910.
- Field, K. J., Pressel, S., Duckett, J. G., Rimington, W. R., & Bidartondo, M. I. 2015. Symbiotic options for the conquest of land. *Trends Ecol. Evol.* 30: 477–486.
- Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P.B., Puech-Pagès, V., Dun, E.A., Pillot, J.P., Letisse, F., Matusova, R., Danoun, S., Portais, J.C. et al. 2008. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* 455: 189–194.
- Guo, Y., Zheng, Z., La Clair, J.J., Chory, J., & Noel, J.P. 2013. Smoke-derived karrikin perception by the  $\alpha/\beta$ -hydrolase KAI2 from *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 8284-8289.
- Gutjahr, C., Gobbato, E., Choi, J., Riemann, M., Johnston, M.G., Summers, W., Carbonnel, S., Mansfield, C., Yang, S.Y., Nadal, M. et al. 2015. Rice perception of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi requires the karrikin receptor complex. *Science* 350: 1521-1524.
- Iseki, M., Shida, K., Kuwabara, K., Wakabayashi, T., Mizutani, M., Takikawa, H., & Sugimoto, Y. 2018. Evidence for species-dependent biosynthetic pathways for converting carlactone to strigolactones in plants. *J Exp Bot.* 69: 2305-2318.
- Jiang, L., Liu, X., Xiong, G., Liu, H., Chen, F., Wang, L., Meng, X., Liu, G., Yu, H., Yuan, Y. et al. 2013. DWARF 53 acts as a repressor of strigolactone signaling in rice. *Nature* 504: 401-405.
- Kameoka, H., & Kyozyuka, J. 2015. Downregulation of rice DWARF 14 LIKE suppress mesocotyl elongation via a strigolactone independent pathway in the dark. *J. Genet. Genomics.* 20: 119-124.
- Kapulnik, Y., & Koltai, H. 2016. Fine-tuning by strigolactones of root response to low phosphate. *J Integr Plant Biol.* 58: 203-212.
- Lanfranco, L., Fiorilli, V., & Gutjahr, C. 2018. Partner communication and role of nutrients in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 220: 1031-1046.
- Liang, Y., Ward, S., Li, P., Bennett, T., & Leyser, O. 2016. SMAX1-LIKE7 signals from the nucleus to regulate shoot development in *Arabidopsis* via partially EAR motif-independent mechanisms. *Plant*

*Cell* 28: 1581-601.

- Mori, N., Nomura, T. & Akiyama, K. 2020. Identification of two oxygenase genes involved in the respective biosynthetic pathways of canonical and non-canonical strigolactones in *Lotus japonicus*. *Planta* 251: 40.
- Morris, J.L., Puttick, M.N., Clark, J.W., Edwards, D., Kenrick, P., Pressel, S., Wellman, C.H., Yang, Z., Schneider, H., & Donoghue, P.C.J. 2018. The timescale of early land plant evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 115: E2274-E2283.
- Moturu, T.R., Thula, S., Singh, R.K., Nodzynski, T., Vareková, R.S., Friml, J., & Simon, S. 2018. Molecular evolution and diversification of the SMXL gene family. *J Exp Bot*. 69: 367-2378.
- Nakamura, H., Xue, Y.L., Miyakawa, T., Hou, F., Qin, H.M., Fukui, K., Shim X., Ito, E., Ito, S. et al. 2013. Molecular mechanism of strigolactone perception by DWARF14. *Nat Commun*. 4: 2613.
- Nishiyama, T., Sakayama, H., de Vries, J., Buschmann, H., Saint-Marcoux, D., Ullrich, K.K., Haas, F.B., Vanderstraeten, L., Becker, D., Lang, D. et al. 2018. The Chara Genome: Secondary Complexity and Implications for Plant Terrestrialization. *Cell* 174: 448-464.
- Radhakrishnan, G.V., Kellers J., Rich, M.K., Vernié, T., Mbadinga, D.L., Vigneron, N., Cottret, L., Clemente, H.S., Libourel, C., Cheema, J. et al. 2020. An ancestral signalling pathway is conserved in plant lineages forming intracellular symbioses. *Nat. Plants* 6: 280–289.
- Soundappan, I., Bennett, T., Morffy, N., Liang, Y., Stanga, J.P., Abbas, A., Leyser, O., & Nelson, D.C. 2015. SMAX1-LIKE/D53 family members enable distinct MAX2-dependent responses to strigolactones and karrikins in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 27: 3143-3159.
- Scaffidi, A., Waters, M.T., Ghisalberti, E.L., Dixon, K.W., Flematti, G.R., & Smith, S.M. 2013. Carlactone-independent seedling morphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant J*. 76:1-9.
- Seto, Y., Sado, A., Asami, K., Hanada, A., Umehara, M., Akiyama, K., & Yamaguchi, S. 2014. Carlactone is an endogenous biosynthetic precursor for strigolactones. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*. 111: 1640–1645.
- Smith, S. E. & Read, D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Cambridge, Massachusetts.
- Song, X., Lu, Z., Yu, H., Shao, G., Xiong, J., Meng, X., Jing, Y., Liu, G., Xiong, G., Duan, J. et al. 2017. IPA1 functions as a downstream transcription factor repressed by D53 in strigolactone signaling in rice. *Cell Res*. 27: 1128-1141.
- Stanga, J.P., Morffy, N., & Nelson, D.C. 2016. Functional redundancy in the control of seedling growth by the karrikin signaling pathway. *Planta* 243: 1397-1406.
- Stanga, J.P., Smith, S.M., Briggs, W.R., & Nelson, D.C. 2013. *SUPPRESSOR OF MORE AXILLARY GROWTH2 1* controls seed germination and seedling development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 163: 318-30.
- Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda-Kamiya, N., Magome, H., Kamiya, Y., Shirasu, K., Yoneyama, K. et al. 2008. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 455: 195–200.
- Wakabayashi, T., Hamana, M., Mori, A., Akiyama, R., Ueno, K., Osakabe, K., Osakabe, Y., Suzuki, H., Takikawa, H., Mizutani, M. et al. 2019. Direct conversion of carlactonoic acid to orobanchol by

- cytochrome P450 CYP722C in strigolactone biosynthesis. *Sci. Adv.* 5: eaax9067.
- Wakabayashi, T., Shida, K., Kitano, Y., Takikawa, H., Mizutani, M., & Sugimoto, Y. 2020. CYP722C from *Gossypium arboreum* catalyzes the conversion of carlactonoic acid to 5-deoxystrigol. *Planta* 18: 97.
- Walker, C.H., Siu-Ting, K., Taylor, A., O'Connell, M.J., & Bennett, T. 2019. Strigolactone synthesis is ancestral in land plants, but canonical strigolactone signaling is a flowering plant innovation. *BMC Biol.* 17: 70.
- Wang, L., Wang, B., Jiang, L., Liu, X., Li, X., Lu, Z., Meng, X., Wang, Y., Smith, S.M., & Li, J. 2015. Strigolactone signaling in *Arabidopsis* regulates shoot development by targeting D53-Like SMXL repressor proteins for ubiquitination and degradation. *Plant Cell* 27: 3128-3142.
- Wang, L., Wang, B., Yu, H., Guo, H., Lin, T., Kou, L., Wang, A., Shao, N., Ma, H., Xiong, G. et al. 2020. Transcriptional regulation of strigolactone signalling in *Arabidopsis*. *Nature* 583: 277-281
- Waters, M.T., Nelson, D.C., Scaffidi, A., Flematti, G.R., Sun, Y.K., Dixon, K.W., & Smith, S.M. 2012. Specialisation within the DWARF14 protein family confers distinct responses to karrikins and strigolactones in *Arabidopsis*. *Development* 39: 1285-1295.
- Waters, M. T., Gutjahr, C., Bennett, T. & Nelson, D.C. 2017. Strigolactone signaling and evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 68: 291–322.
- Yao, R., Ming, Z., Yan, L., Li, S., Wang, F., Ma, S., Yu, C., Yang, M., Chen, L., Chen, L. et al. 2016. DWARF14 is a non-canonical hormone receptor for strigolactone. *Nature* 536: 469-473.
- Yoneyama, K., Mori, N., Sato, T., Yoda, A., Xie, X., Okamoto, M., Iwanaga, M., Ohnishi, T., Nishiwaki, H., Asami, T. et al. 2018. Yoneyama, K. et al. Conversion of carlactone to carlactonoic acid is a conserved function of MAX1 homologs in strigolactone biosynthesis. *New Phytol.* 218: 1522–1533.
- Yoneyama, K., Xie, X., Kim, H.I., Kisugi, T., Nomura, T., Sekimoto, H., Yokota, T., & Yoneyama, K. 2012. How do nitrogen and phosphorus deficiencies affect strigolactone production and exudation? *Planta* 235: 1197-207.
- Yoneyama, K., Xie, X., Kisugi, T., Nomura, T., & Yoneyama, K. 2013. Nitrogen and phosphorus fertilization negatively affects strigolactone production and exudation in sorghum. *Planta.* 2013 238: 885-894.
- Yoneyama, K., Xie, X., Yoneyama, K., Kisugi, T., Nomura, T., Nakatani, Y., Akiyama, K., & McErlean, C.S.P. 2018. Which are the major players, canonical or non-canonical strigolactones? *J. Exp. Bot.* 69: 2231–2239.
- Zhang, Y., van Dijk, A.D., Scaffidi, A., Flematti, G.R., Hofmann, M., Charnikhova, T., Verstappen, F., Hepworth, J., van der Krol, S., Leyser, O. et al. 2014. Rice cytochrome P450 MAX1 homologs catalyze distinct steps in strigolactone biosynthesis. *Nat Chem Biol.* 10: 1028-33.
- Zheng, J., Hong, K., Zeng, L., Wang, L., Kang, S., Qu, M., Dai, J., Zou, L., Zhu, L., Tang, Z. et al. 2020. Karrikin Signaling Acts Parallel to and Additively with Strigolactone Signaling to Regulate Rice Mesocotyl Elongation in Darkness. *Plant Cell* 32: 2780-2805.
- Zhou, F., Lin, Q., Zhu, L., Ren, Y., Zhou, K., Shabek, N., Wu, F., Mao, H., Dong, W., Gan, L. et al. 2013. D14-SCF(D3)-dependent degradation of D53 regulates strigolactone signalling. *Nature* 504: 406-

410.