

論文内容の要旨

申請者氏名 Pathompitaknukul Kuldana

Root endophytic fungi colonize plant roots without disease symptom, and represent an important fraction of the root microbiota in plants. However, despite their potential importance in plant growth and productivity, our knowledge is limited regarding the function of these fungi, compared to better-studied saprotrophic, pathogenic and mycorrhizal fungi.

The applicant has isolated dozens of fungal endophyte candidates from healthy Brassicaceae vegetables grown in the field. Of them, he puts a particular focus on two closely related fungal species in the *Colletotrichum gloeosporioides* clade (named CgE and CgP), which establish beneficial and pathogenic interactions, respectively, with *Arabidopsis thaliana*. He demonstrates that endophytic CgE colonizes *A. thaliana* roots and prevents CgP pathogenesis when they are co-inoculated. A reverse genetic analysis on *A. thaliana* mutants has revealed that ethylene signaling and two branches of the tryptophan-derived metabolic pathways, namely the phytoalexin camalexin pathway and the indole glucosinolate pathway, are required for endophytic association with CgE, a prerequisite for the host protection activity.

With the aid of external collaborators, he also determined the whole genome sequences for both CgE and CgP by assembling PacBio and Illumina sequence reads. Unexpectedly, this revealed that CgE and CgP genome sequences are more diverged than expected from their sequences of the 5.8S rRNA internal transcribed spacer region. This divergence between the two fungal species allows discrimination of the majority of CgE- and CgP-derived reads in co-inoculated root samples. A comparative transcriptome analysis in the host roots co-inoculated or individually inoculated with CgE and CgP detected more than 500 CgE genes that are specifically up-regulated when co-inoculated with CgP. This indicates extensive transcriptome reprogramming of the fungus during fungus–fungus competition in the host roots. By contrast, plant transcriptome was not dramatically changed when inoculated with CgE alone or co-inoculated with the two fungi. Interestingly, CgE genes related to the biosynthesis of several fungal toxins, which were shown to promote fungal virulence in *Botrytis* fungi, were strongly up-regulated specifically in the presence of CgP. Based on this, he hypothesizes that these toxins play a role in CgE-mediated suppression of CgP pathogenesis.

In summary, his discovery of a plant-protecting fungal endophyte provides novel insight into the mechanisms by which plants accommodate fungal pathogens without disease symptom. This study presents a new *Colletotrichum-A. thaliana* interaction model to deepen our mechanistic understanding of endophytic fungus-plant interactions, thanks to the genetic amenability and the wealth of resources available for both the fungus and host plant sides.

- ☐ やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他()]により本要旨を非公表とする。
【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Pathompitaknukul Kuldalai

植物は、自然界ではつねに多様な微生物を体内に宿しながら生存や健康維持に役立っている。その中には往々にして病原菌も含まれているものの、病兆が発現することは極めて稀である。しかしながら、植物が感染微生物の病原性を抑えて不顕性感染を成立させる仕組みについては不明な点が多かった。

申請者は、菌根共生も根粒共生も成立しないアブラナ科植物に着目し、野外圃場で栽培した健康なダイコンの根から、数十種類の内生真菌株を単離した。その中で、シロイヌナズナに接種すると植物成長とともに顕著に病原真菌抵抗性を促す *Colletotrichum gloeosporioides* クレードに属する共生株 CgE とそれに近縁な病原株 CgP に着目して、比較解析を進めた。共生株 CgE がシロイヌナズナの根に植物成長を阻害することなく感染し、病原株 CgP の感染行動ひいては病原性発現を抑制することで植物保護に働くことを示した。シロイヌナズナの変異体を利用した遺伝学的解析から、植物のトリプトファン関連二次代謝産物であるインドールグルコシノレートとカマレキシンが CgE による植物保護に必要であることを示した。さらに、植物のエチレン経路が CgE の過剰感染による潜在的病原性を抑止し、同菌の植物保護効果を享受するために必要であることを示した。共同研究により、CgE と CgP の全ゲノム情報を取得したところ、CgE と CgP は同一クレードに属する近縁種ではあるものの、別種に分類されることを示した。両者のゲノム情報の違いを活用して、共接种植物の根から CgE 及び CgP に特異的な RNA シーケンスリードを選別して遺伝子発現量解析を行ったところ、CgE 単独接種時と比較して、CgP との共接種時には 500 を超える CgE 特異的遺伝子の発現が上昇していることを示した。一方、植物側のトランスクリプトームは CgE 単独接種時と CgE-CgP 共接種時でほとんど変化していなかったことから、宿主植物組織における菌同士の競合が上記の植物保護作用をもたらしているとの仮説を提起した。この点に関連して、複数の糸状菌毒素の合成や排出に関連する CgE の遺伝子群の発現が、CgP との共接種時に特異的かつ顕著に誘導されていることを示した。これらの毒素の一部は、先行研究によって病原真菌が宿主植物に感染する際に寄与すると報告されている。本結果から、共生株 CgE が病原株 CgP と競合する際にも類似の毒素を活用している可能性が示唆された。

以上のように、本論文は、根に共生する植物保護菌を単離・同定し、さらに植物が内生真菌により病原真菌の病原性の発現を抑える仕組みの一端を明らかにしたものである。得られた知見が農学的な見地からも有用性が高いと期待されるのみならず、共生真菌の機能を世界に先駆けて示したものであり、学術上、植物微生物相互作用の研究に大きく貢献した。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。

☐ やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】