

令和元年6月12日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2017

課題番号：26304025

研究課題名(和文)野生種トマトの病原毒素感受性に基づくトマト栽培化史の解析

研究課題名(英文) Analysis of the history of tomato cultivation based on pathogenic-toxin susceptibility of wild-type tomato accessions

研究代表者

有江 力 (ARIE, TSUTOMU)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：00211706

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,700,000円

研究成果の概要(和文)：ペルー各地から、食用トマトの原種である野生種 *S. pimpinellifolium* を採集した。採集した約240株内で、株枯病菌 *A. alternata* tomato pathotype が産生するAAL毒素感受性に関するAsc1遺伝子に複数の変異様式を認めた。一部は、ASC1タンパク質のアミノ酸変異を起こしていたが、AAL毒素感受性の株はなかった。また、変異の地域性も認められなかった。分子系統解析の結果、北部由来株のガラパゴス野生種との近縁性が示唆された。ガラパゴス産野生種はすべて同一のAsc1変異を持つため、ペルー北部でAsc1に変異の起きた株が海流等でガラパゴスに運ばれ定着したと推察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ペルー産 *S. pimpinellifolium* に、AAL毒素に感受性のアクションの存在を認め、その変異様式を調査した。その結果、食用トマト品種愛知ファーストと同様な変異を持つものを認め、それが、ペルーの野生種由来であることが示唆された。これまで未詳であったトマトの祖先や進化の筋道を、病害抵抗性・感受性の決定に関与する遺伝子に基づいて解明するだけでなく、病害抵抗性品種育種に応用可能な貴重な遺伝子プール情報が野生種に存在することを具体的に示した。

研究成果の概要(英文)：About 240 accessions of wild tomato species *S. pimpinellifolium*, the origin of edible tomatoes, from various parts of Peru was established. Within the accessions, several mutation patterns were found in the Asc1 gene, which determines susceptibility/resistance to AAL toxin produced by the stem cancer pathogen, *A. alternata* tomato pathotype. Although some of the mutations generate mutations in ASC1 protein, no AAL toxin susceptible accessions were found by leaflet assay. In addition, no co-relation between region of sampling and mutation was recognized. Molecular phylogenetic analysis suggested that the accessions from Northern area of Peru were closely related to the wild tomatoes in the Galapagos Islands. Since all the accessions from wild species from Galapagos have the identical mutation in Asc1, it was inferred that strains mutated to Asc1 in Northern Peru were transported to Galapagos by ocean current and settled.

研究分野：植物病理学

キーワード：野生種トマト 南米フィールド調査 毒素 遺伝子プール 病害抵抗性・感受性 アルターナリア茎枯病 Asc1 stem cancer

1. 研究開始当初の背景

(1)研究の学術的背景

植物品種と病原系統の、「病気が起きるか起きないかの関係」は、品種が持つ因子と病原が持つ病原因子の相互作用で決定される。*Alternaria alternata*に代表される一部の植物病原菌は宿主特異性毒素(HST)を産生、この毒素に感受性の植物種あるいは品種に特異的に病気を引き起こす。茎枯病菌 *A. alternata* tomato pathotype (Aat) はAAL毒素を産生する。AAL毒素は細胞内でのセラミド合成を阻害し細胞死を誘導することでトマト組織に病変を起こすが、*Asc1-w*型遺伝子を持つトマト細胞ではこの遺伝子産物がセラミド合成をバイパスするため病変が起きない。一方、*Asc1-m*型遺伝子を持つトマトではこのバイパス経路が機能しないため、AAL毒素に感受性になり、茎枯病の被害を受ける(Kheder 2012)。*Asc1-m*型遺伝子は、食用トマト(*Solanum lycopersicum*)の一部品種と、食用トマトの直接的な祖先ではないガラパゴス産野生種トマト(*S. cheesmaniae*, *S. galapagense*)のみから見出されている。

申請者らはこれまで、トマト萎凋病菌の病原性進化の道筋をトマトの栽培化・育種の歴史に基づいて解明すべく、野生種トマトが自生するトマト原産地のアンデス地域やガラパゴス、栽培化地であるメキシコにおいて菌探索のフィールド調査を実施、その結果、トマト萎凋病の祖先にあたと想定される菌をペルーの野生種トマトに見出し、その後の栽培化・育種の過程でその祖先から病原菌が生まれたことを示唆した(川部 2003; 有江 2013)。その過程で行った、野生種トマト等の遺伝子解析とフンボルト海流などの地理的情報を併せ、「チリ北部~ペルー~エクアドル南部に分布・自生する野生種 *S. pimpinellifolium* が、メキシコで栽培化された後に近代育種された食用トマトと、ガラパゴス産野生種トマトの共通の祖先である」という仮説を立てるに至った。上述したように、興味深いことに、*Asc1-m*型遺伝子を持つトマトは、一部の食用トマト品種とガラパゴス産野生種トマトのみから見出される。これまで、病害抵抗性遺伝子が *S. pimpinellifolium* から食用トマトに育種で導入された例はあるものの、病害抵抗性・罹病性の決定に関与する遺伝子の野生種トマトにおける多様性解析の例は見当たらない。

2. 研究の目的

トマトのうち、栽培トマトの一部品種とガラパゴス産野生種トマトのみが、*Alternaria alternata*が産生するAAL毒素に対して共通に感受性であり、これは、*Asc1*遺伝子の変異の結果である。両トマトの共通の祖先と考えられる *S. pimpinellifolium* が多様な *Asc1*遺伝子プールを持っていて、一部の食用トマト品種とガラパゴス産野生種トマトにその

うちの変異型(*Asc1-m*)が移行したもの、すなわち、*S. pimpinellifolium*の*Asc1*遺伝子プールの中に*Asc1-m*型が存在すると推察、南米フィールド調査による*Asc1*遺伝子の多様性解析を目的とする。その結果、未詳であるトマトの祖先や進化の筋道を、病害抵抗性・感受性の決定に関与する遺伝子に基づいて解明するだけでなく、病害抵抗性品種育種に応用可能な貴重な遺伝子プール情報を提供する。

3. 研究の方法

(1)ペルー等において、*S. pimpinellifolium* フィールドを採取する。

(2)*S. pimpinellifolium* フィールド採取株のAAL毒素感受性、Aat罹病性調査。

(3)*S. pimpinellifolium* フィールド採取株が持つ*Asc1*遺伝子のPCR増幅、シーケンシング、アラインメント、多様性調査と*Asc1-m*型の分布調査。SNPsによるASC1機能変化の調査。Aat感受性ガラパゴストマトおよび食用品種の*Asc1*との比較。

(4)*S. pimpinellifolium* 個体の分子系統解析

(5)*S. pimpinellifolium* の生息する地域にAAL毒素を産生する *A. alternata* が存在するかについてのフィールド調査

4. 研究成果

(1)ペルー各地等においてフィールド調査を実施、*S. pimpinellifolium*の採取とアクセシビリティの確立

フィールド調査の記録

2015.01.26-27 Texcoco (Mexico) 有江、(柏)

2015.01.28-29 La Molina (Peru) 有江、(柏)

2016.01.24-26 Arequipa (Peru) 有江、見玉 (Caballero Aragon、Caceres de Baladrrago、Huarhua Zaquinaula)

2016.01.27-29 La Molina (Peru) 有江、見玉 (Caballero Aragon、Huarhua Zaquinaula)

2016.10.14 La Molina (Peru) 有江、(都筑、Caballero Aragon、Huarhua Zaquinaula、Sierra)

2016.10.25,31,11/2,10,15 La Molina (Peru) (都筑、Huarhua Zaquinaula)

2016.11.4,8,19 Lima (Peru) (都筑、Huarhua Zaquinaula)

2017.01.27-28 Trujillo (Peru) 有江、(都筑、Caballero Aragon、Huarhua Zaquinaula、Miranda、)

2017.01.29-31 Chiclayo (Peru) 有江、(都筑、Caballero Aragon、Huarhua Zaquinaula、Campos、Jpege Roberto、Vásquez Núñez)

2017.01.31-02.02 Piura (Peru) 有江、(都筑、Caballero Aragon、Huarhua Zaquinaula、Javier Alva)

2017.02.03 La Molina (Peru) 有江、(都筑、

Caballero Aragon、Huarhua Zaquinaula)

2017.02.26 Quillabamba (Peru) (都筑、Blas、Flores、Angel、Tobaru、Ureta)

2018.01.20–22 Quillabamba (Peru) 有江、児玉 (Caballero Aragon、Torres Arias、Mamani)

2018.01.23 Cuzco (Peru) 有江、児玉 (Caballero Aragon、Torres Arias)

2018.01.25–26 La Molina (Peru) 有江、児玉 (Caballero Aragon)

この結果、ペルーから、240 の *S. pimpinellifolium* (以下、野生種) アクセションを確立、以下に供試した。メキシコから、約 10 の *S. lycopersicum* var. *ceraciforme* のアクセションを確立、以下に供試した。

(2) *S. pimpinellifolium* フィールド採取株の AAL 毒素感受性、Aat 罹病性調査

ペルー産 *S. pimpinellifolium* 2 アクセション (うち 1 は、ペルー国立農業試験場 INIA では *S. cerasiforme* と同定) が、AAL 毒素に感受性であることを見出した。

(3) *S. pimpinellifolium* フィールド採取株が持つ *Asc1* 遺伝子の PCR 増幅、シーケンシング、アラインメント、多様性調査と *Asc1-m* 型の分布調査。SNPs による *ASC1* 機能変化の調査。Aat 感受性ガラパゴストマトおよび食用品種の *Asc1* との比較

上記、AAL 毒素感受性の 2 アクセションの *Asc1* 遺伝子のシーケンシングを行ったところ、異なる変異様式であることを見出した。このうち 1 つの変異様式は、食用トマト愛知ファーストと同じであった。

(4) *S. pimpinellifolium* 個体の分子系統解析

上記、2 アクセションを含む、 β -チューブリン遺伝子塩基配列などに基づく分子系統樹を描いた。上記 2 アクセションのうちに、食用トマト愛知ファーストと極めて近縁なものがあつた。

(5) *S. pimpinellifolium* の生息する地域に AAL 毒素を産生する *A. alternata* が存在するかについてのフィールド調査

各フィールドにおいて、*A. alternata* 選択培地を用いて、*A. alternata* の分離を試みたが、予想と異なり、分離できた頻度は大変低く、かつ、分離できた株の中に、AAL 毒素を産生するものは見出されなかった。

結果の要約

研究開始当初の仮説のとおり、ペルー産 *S. pimpinellifolium* に、AAL 毒素に感受性のアクセションの存在を認め、その変異様式を調査した。その結果、食用トマト品種愛知ファーストと同様な変異を持つものを認め、それが、ペルーの野生種由来であることが示唆された。

研究協力機関

Universidad Nacional Agraria La Molina (Peru)

Universidad Nacional de Piura (Peru)

Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (Peru)

Cornell University (USA)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

① Ayukawa Y, Hanyuda S, Fujita N, Komatsu K, Arie T (2017) Novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay with a universal QProbe can detect SNPs determining races in plant pathogenic fungi. *Sci Rep* 7:4253 査読有
DOI: 10.1038/s41598-017-04084-y

② Kashiwa T, Kozaki T, Ishii K, Turgeon BG, Teraoka T, Komatsu K, Arie T (2017) Sequencing of individual chromosomes of plant pathogenic *Fusarium oxysporum*. *Fungal Genet Biol* 98:46–51 査読有
DOI: 10.1016/j.fgb.2016.12.001

③ Takao K, Akagi Y, Tsuge T, Harimoto Y, Yamamoto M, Kodama M (2016) The global regulator LaeA controls biosynthesis of host-specific toxins, pathogenicity and development of *Alternaria alternata* pathotypes. *J Gen Plant Pathol* 82:121–131 査読有
DOI: 10.1007/s10327-016-0656-9

④ Takao K, Akagi Y, Tsuge T, Kodama M (2016) Functional characterization of putative G protein-coupled receptors in the tomato pathotype of *Alternaria alternata*. *J Gen Plant Pathol* 82:1–7 査読有
DOI: 10.1007/s10327-016-0647-x

⑤ 児玉基一郎・赤木靖典・高尾和実・難波栄二・山本幹博・秋光和也・柘植尚志 (2014) ゲノム解析から見た植物病原糸状菌の二次代謝産物生合成系と病原性の進化・多様性. *日植病報* 80:207–216 査読有

⑥ Akimitsu K, Tsuge T, Kodama M, Yamamoto M, Otani H (2014) *Alternaria* host-selective toxins: determinant factors of plant disease. *J Gen Plant Pathol* 80:109–122 査読有
DOI:10.1007/s10327-013-0498-7

[学会発表] (計 17 件)

① 下条正隆・都宮理奈子・赤木靖典・石原亨・有江力・児玉基一郎 (2018) *Alternaria alternata* 18257 株が保有するトマチナーゼ遺伝子 *AaTom1* の病理学的意義. 平成 29 年度日本植物病理学会関西西部会

② 永井瞭汰・澄川敦馬・吾郷亜希・赤木靖典・

板井章浩・有江力・児玉基一朗 (2018) トマト野生種におけるトマトアルターナリア萎枯病菌 抵抗性遺伝子 *Asc1* の欠失による AAL 毒素感受性化. 平成 30 年度日本植物病理学会大会

③ Kodama M, Akagi Y, Tsuge T (2016) The evolution of mycotoxin/phytoxin biosynthesis and virulence in the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata*. International Symposium of Mycotoxicology 2016 (ISMYCO 2016) 招待講演

④ Arie T (2016) Diversity of pathogenicity of the tomato wilt fungus. Amsterdam University Seminar 招待講演

⑤ Arie T (2016) Variations in avirulence genes on small chromosomes in the tomato wilt fungus, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; emergence of new biotypes, rapid race determination methods, and control of the disease. The 2016 KSP Spring Meeting and International Conference 招待講演

⑥ Kodama M, Akagi Y, Tsuge T (2016) The evolution of mycotoxin/phytoxin biosynthesis and virulence in the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata*. International Symposium of Mycotoxicology 2016 (ISMYCO 2016)

⑦ 鮎川侑・小松健・寺岡徹・有江力 (2016) トマト萎凋菌レース 3 の AVR2 点変異の LAMP-QP 法による検出. 平成 28 年度日本植物病理学会大会

⑧ 田村咲子・赤井浩太郎・鮎川侑・柏毅・中田菜々子・寺岡徹・小松健・有江力 (2016) AVR2 と SIX5 を喪失した トマト萎凋病菌の発生. 平成 28 年度日本植物病理学会大会

⑨ 赤井浩太郎・菊池秀・田村咲子・鮎川侑・寺岡徹・小松健・有江力 (2016) トマト萎凋病菌における 多様な非病原性遺伝子の変異. 平成 28 年度日本植物病理学会大会

⑩ 都宮理奈子・赤木靖典・石原亨・有江力・児玉基一朗 (2016) *Alternaria alternata* が保有するトマチナーゼ遺伝子の病理学的役割. 平成 28 年度日本植物病理学会大会

⑪ 赤木靖典・柘植尚志・有江力・児玉基一朗 (2016) 非病原性 *Alternaria alternata* における conditionally dispensable chromosome 様染色体の構造解析. 平成 28 年度日本植物病理学会大会

⑫ Arie T (2015) Emergence and divergence of the tomato wilt pathogen in the coevolution with tomato, from phylogenetic, molecular and genomic aspects. International Workshop, FCA-UNESP and TUAT:30 years of a successful partnership 招待講演

⑬ 吾郷亜希・赤木靖典・板井章浩・有江力・児玉基一朗 (2015) トマト野生種におけるトマトアルターナリア萎枯病感受性に関与す

る抵抗性遺伝子 *Asc1* の欠失. 平成 27 年度日本植物病理学会関西支部会

⑭ 赤木靖典・柘植尚志・有江力・児玉基一朗 (2015) *Alternaria alternata* 病原型が保有する conditionally dispensable chromosome の起源. 平成 27 年度日本植物病理学会関西支部会

⑮ 鮎川侑・柏毅・小松健・寺岡徹・有江力 (2015) キャベツ萎黄病菌は生育に必須でない複数の小型染色体を保持する. 平成 27 年度日本植物病理学会関東支部会

⑯ Arie T (2015) Emergence of wilt pathogen and its races in the history of domestication and breeding of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). 2015 UNALM Seminar

⑰ 赤木靖典・柘植尚志・有江力・児玉基一朗 (2014) 非病原性 *Alternaria alternata* における conditionally dispensable chromosome (CDC) 様染色体の探索. 平成 26 年度日本植物病理学会大会

[図書] (計 1 件)

① 児玉基一朗 (2018) 「トマト」乾燥地フォトブックシリーズ vol.2、乾燥地の有用植物 食べる植物(辻本壽・留森留土編、今井出版、p. 90

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有江 力 (ARIE, Tsutomu)
東京農工大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号：00211706

(2) 研究分担者

児玉基一朗 (KODAMA, Motoichiro)
鳥取大学・大学院連合農学研究科・教授
研究者番号：00183343

寺岡徹 (TERAOKA, Tohru)
東京農工大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号：60163903

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

赤木靖典 (AKAGI, Yasunori)
柏毅 (KASHIWA, Takeshi)
都筑麟 (TSUZUKI, Rin)
Liliana Maria Aragon Caballero
(CABALLERO ARAGON, Liliana Maria)
Fatima Caceres de Baladrrago (CACERES DE BALADRRAGO, Fatima)
Medali Heidi Huarhua Zaguinaula (HUARHUA ZAGUINAULA, Medali Heidi)
Cledy Ureta Sierra (SIERRA, Cledy Ureta)
Ines Carolina Torres Arias (TORRES ARIAS,

Ines Carolina)
César Estela Campos (CAMPOS, César Estela)
Jpege Roberto Caceda Rodriguez (CACEDA RODRIGUEZ, Jpege Roberto)
Leopoldo Pompeyo Vásquez Núñez (VASQUEZ-NUNEZ, Leopoldo Pompeyo)
Teófilo Arias Miranda (MIRANDA, Teófilo Arias)
Javier Javier Alva (JAVIER ALVA, Javier)
Jesus Lizarano Mamani (MAMANI, Jesus Lizarano)
Raul Blas (BLAS, Raul)
Joel Flores (FLORES, Joel)
Joel Angel (ANGEL, Joel)
Jorge Tobaru (TOBARU, Jorge)
B Gillian Turgeon (TURGEON, B Gillian)