

比較ゲノミクスをベースにしたイチゴ炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 種複合体の解析

国立研究開発法人 理化学研究所 環境資源科学研究センター 白 須 賢

はじめに

Colletotrichum gloeosporioides 種複合体に属する *Colletotrichum* 属菌は、炭疽病を引き起こす経済的に重要な病原体を数多く含んでいる。これまで、このグループ内の異なる種は、多遺伝子系統解析でしか区別できなかった。最近になって比較ゲノミクス手法によって、*C. gloeosporioides* 種複合体内の *Colletotrichum fructicola*, *Colletotrichum aenigma* および *Colletotrichum siamense* を PCR 増幅産物の大きさの差異に基づいて区別できるマーカーが開発された。このマーカーを用いて、日本の千葉県の一葉から 20 年以上にわたり収集された 115 の分離株を同定すると、主に *C. fructicola* であった (GAN et al., 2017)。日本のイチゴに感染する *Colletotrichum* 属菌の種を判別することで、イチゴの品種改良、農薬選定、栽培体系に大きく寄与できると考えられる。本稿では、この研究を例に比較ゲノミクス手法を使ったマーカー開発の概要を紹介したい。

I *C. gloeosporioides* 種複合体によるイチゴ炭疽病

子囊菌系の真菌である *Colletotrichum* 属菌は、様々な植物に炭疽病を引き起こす。特に日本のイチゴ栽培において、炭疽病は主要な問題となっている (SUZUKI et al., 2010)。潜在感染した植物の混栽によって、発症した植物が一つでも存在すると圃場全体に感染が広がるため、発病植物の早期発見と分離菌株の正確な同定が重要である。これまで、日本および他の地域においてイチゴ炭疽病が *C. gloeosporioides* の感染に起因していることが報告されていたが、*C. gloeosporioides* 種複合体に属するどの種の菌がイチゴ炭疽病を引き起こすかはよくわかっていなかった (SMITH, 2008; SUZUKI et al., 2010)。ただ、PCR 分析によって、遺伝的に区別され得る菌株によって感染が引き起こされることが示されていた (SUZUKI et al., 2010; 2012)。

Comparative Genomics-based Analysis of Strawberry Anthracnose Pathogens. By Ken SHIRASU

(キーワード: ゲノム科学, イチゴ炭疽病, *Colletotrichum* 属)

最近になって、分子マーカーを用いた系統解析により、*Colletotrichum* 属の多くの菌種が独立した系統に分類されることが明らかになってきた (CAI et al., 2011)。これらの系統のいくつかは、密接に関連する種複合体として体系的に分類されている (WEIR et al., 2012)。例えば *C. gloeosporioides* 種複合体内の多くの種は、リボゾームの internal transcribed spacer (ITS) 配列や、形態学的特徴および既知の宿主範囲に基づいて、*C. gloeosporioides sensu lato* (広義) として分類されている (HYDE et al., 2009)。しかしながら、このような種複合体内の異なる種は、真菌種の分類に長い間使用されてきた ITS 配列のみでは、区別できないことが示されている (WEIR et al., 2012)。同じ種複合体に属する菌においても、種が異なれば感染戦略は異なる可能性があり、複合体内の種を判別することが重要となる (CAI et al., 2011)。例えば、*Colletotrichum kahawae* は、コーヒーに強く感染できる病原菌であるが、*Colletotrichum asianum*, *C. fructicola* および *C. siamense* はコーヒーにとってはいわゆる日和見病原菌であり、*C. kahawae* と同じレベルの防御対策を必要としないことが知られている (PRIHASTUTI, et al., 2009)。

II イチゴからの炭疽病菌の分離と比較ゲノム解析

千葉県の千葉市、印旛、君津、安房、山武、および海匝地域において、炭疽病を発症したイチゴ (*Fragaria × ananassa*)、あるいは無作為にサンプリングされた健全なイチゴから潜在感染していると思われる菌株を分離すると、これらの分離菌株は、プライマー CgInt およびユニバーサルプライマー ITS4 (MILLS et al., 1992) を用いた解析によって *C. gloeosporioides* 種複合体に属することが示唆された (SUZUKI et al., 2008)。さらに rep-PCR 分析により遺伝的に異なる 3 菌株を判別するとともに、次世代シーケンサーを用いて、全ゲノム配列が決定された (GAN et al., 2013; 2017)。この 3 菌株は ACT, CAL, CHS-1, ITS, GAPDH および TUB 配列の多遺伝子系統解析によって、*C. fructicola*, *C. aenigma*, *C. siamense* と同定された (図-1)。