Alternaria 属菌の宿主特異的毒素 : 植物病害の決定因子

秋光 和也^{1*}・柘植 尚志²・児玉基一朗³・山本 幹博⁴・尾谷 浩³

AKIMITSU, K.^{1*}, TSUGE, T.², KODAMA, M.³, YAMAMOTO, M.⁴ and OTANI, H.³ (2014). *Alternaria* host-selective toxins: determinant factors of plant disease.

Key words: host selectivity, pathogenicity, virulence, conditionally dispensable chromosome, secondary metabolite

Alternaria 属菌や *Cochliobolus* 属菌の特定の種・系統は、宿主特異的毒素と呼ばれる低分子の二次代謝産物を生産する。宿主特異的毒素の構造は多岐にわたり、いずれの毒素も生産菌の病原性の決定因子である。宿主特異的毒素が毒性を示す植物と、その毒素の生産菌が感染できる宿主範囲は一致し、毒素生産能の消失は病原性の失活に直結する。

宿主特異的毒素が関与する激発型伝染病害の発生は、*Alternaria* 属菌や *Cochliobolus* 属菌により引き起こされる 15 例を中心に、20 世紀以降に発病した 20 例が報告されている(第 1 表)。これらの病害は、その被害が甚大であったため、度々社会問題になってきたが、それぞれの病原菌が分泌する宿主特異的毒素の研究結果も、これまで植物病理学に大きなインパクトを残してきた。

例えば、世界最初に単離された植物抵抗性遺伝子は、*C. carbonum* race 1 の生産する宿主特異的 HC 毒素の Aeo 構造部位のカーニル基の還元化による解毒酵素をコードする *Hm1* 遺伝子であった (Johal and Briggs, 1992; Meeley *et al.*, 1992)。宿主特異的毒素のレセプターをコードする感受性遺伝子も二つ単離された。テキサス型細胞質雄性不稔系統トウモロコシのミトコンドリアゲノムから単離された *T-urf13* 遺伝子 (Dewey *et al.*, 1986, 1988) と、カンキツラフレモン

のミトコンドリアゲノムから単離された *ACRS* 遺伝子 (Ohtani *et al.*, 2002) は、それぞれ 13 kDa と 7 kDa の遺伝子産物が多量体化した膜貫入型孔形成レセプターをコードし、これらの遺伝子を大腸菌で発現させることにより、大腸菌を T 毒素や ACR 毒素に感受化させることが明らかになった。近年、シロイヌナズナの *LOV1* 遺伝子も victorin 感受性に一役を担うことが示されている (Lorang *et al.*, 2012)。また、宿主特異的毒素生合成に関しては、*Alternaria* 属菌の毒素生合成遺伝子と遺伝子クラスター研究が進展し、糸状菌の植物病原菌化の進化メカニズムの一端が明らかにされつつある。本総説では、宿主特異的毒素研究の中から、*A. alternata* の 7 つの病原型菌が生産する低分子毒素の生合成、作用機構等に関する概要をまとめた。

異なる病原型の *A. alternata* が生産する宿主特異的毒素の化学構造と特性

1888 年に千葉県松戸市で二十世紀ナシが発見された。その後、二十世紀ナシに特異的に感染して黒斑病を引き起こす *A. kikuchiana* が同定され、本菌の培養ろ液が二十世紀ナシに宿主特異的毒性を示すことが、田中彰一博士の研究により明らかにされた (Tanaka, 1933)。この培養ろ液中の毒性

¹ 国立大学法人香川大学 (〒 761-0795 香川県木田郡三木町池戸 2393) Faculty of Agriculture, Kagawa University, Miki, Kagawa 761-0795, Japan

² 国立大学法人名古屋大学 (〒 464-8601 愛知県名古屋市千種区不老町) Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Nagoya 464-8601, Japan

³ 国立大学法人鳥取大学 (〒 680-0945 鳥取県鳥取市湖山町南 4 丁目 101) Faculty of Agriculture, Tottori University, Tottori 680-8553, Japan

⁴ 国立大学法人岡山大学 (〒 700-8530 岡山県岡山市北区津島中 1-1-1) Graduate School of Environmental and Life Science, Okayama University, Okayama 700-8530, Japan

* Corresponding author (E-mail: kazuya@ag.kagawa-u.ac.jp)

この総説は先に Journal of General Plant Pathology の 80 巻 2 号の pp. 109 ~ 122 に掲載された総説 (<http://dx.doi.org/10.1007/s10327-013-0498-7>) の抄訳です。報文としてのプライオリティーは JGPP 掲載の総説にありますので、引用の際には本総説ではなく JGPP の総説を用いるようにご注意ください。

第 1 表 宿主特異的毒素を生産する病原性糸状菌一覧

病原菌	病名	毒素	毒素生成遺伝子 (座乗染色体サイズ)	感受性作物 (品種・系統等)	感受性の 遺伝的背景	毒素作用点	発見年
Alternaria 属菌：							
<i>Alternaria alternata</i>							
pathotypes							
Apple (<i>A. mali</i>)	リンゴ斑点落葉病	AM 毒素	AMT 遺伝子群 (< 1.8 Mb)	リンゴ (インド, レッ ドゴールド, 等)	1 あるいは複数の遺 伝子支配 (感受性優性)	葉緑体細胞膜	1933
Japanese pear (<i>A. kikuchiana</i>)	ナシ黒斑病	AK 毒素	AKT 遺伝子群 (1.0 Mb)	日本ナシ (二十世紀, 新水, 等)	1 主導遺伝子支配 (感受性優性)	細胞膜	1966
Rough lemon (<i>A. citri</i>)	ラフレモン leaf spot 病	ACR 毒素	ACRT 遺伝子群 (< 1.5 Mb)	ラフレモン	ACRS 遺伝子 (毒素レセプター)	ミトコンドリア	1979
Strawberry	イチゴ黒斑病	AF 毒素	AFT 遺伝子群 (< 2.0 Mb)	イチゴ (盛岡 16 号, ロビンソン, 等)	1 主導遺伝子支配 (感受性優性)	細胞膜	1979
Tangerine (<i>A. citri</i>)	タンゼリン brown spot 病	ACT 毒素	ACTT 遺伝子群 (< 2.0 Mb)	タンゼリン, マンダ リン, 等		細胞膜	1979
Tobacco (<i>A. longipes</i>)	タバコ赤星病	AT 毒素		<i>Nicotiana</i> 属植物		ミトコンドリア	1980
Tomato (<i>A. alternata</i> f. sp. <i>lycopersici</i>)	トマトアルタナリア 茎枯病	AAL 毒素	ALT 遺伝子群 (1.0 Mb)	トマト (ファースト, アーリーバック 7, 等)	ASC 遺伝子 (抵抗性不完全優性)	セラミド合成酵素	1976
<i>Alternaria brassicae</i>	キャベツ黒斑病・ ハクサイ黒斑病等	ABR 毒素		<i>Brassica</i> 属植物			2008
<i>Alternaria brassicicola</i>	キャベツすす病等	AB 毒素		<i>Brassica</i> 属植物			1998
<i>Alternaria tenuissima</i>							
Pigeon pea pathotype	キマメ leaf spot 病	ATC 毒素		キマメ (バハール, 等)		ミトコンドリア	1993
Helminthosporium 属菌：							
<i>H. carbonum</i> (syn. <i>Bipolaris zeicola</i>) race 1 (the teleomorph <i>Cochliobolus carbonum</i> race 1)	トウモロコシ 北方斑点病	HC 毒素	TOX2 遺伝子群	トウモロコシ (K-44, K-61, 等)	Hm 遺伝子 (抵抗性優性/HC 毒 素解毒酵素)	ヒストン脱アセチ ルカ酵素	1965
<i>H. carbonum</i> (<i>B. zeicola</i>) race 3	トウモロコシ 北方斑点病	BZR 毒素		トウモロコシ, イネ			1991
<i>H. maydis</i> (<i>C. maydis</i>) race T	トウモロコシ ごま葉枯病	HMT 毒素 (= T 毒素)	TOX1 遺伝子群	トウモロコシ (T 型優性不稔細胞質)	T-urf13 遺伝子 (毒素レセプター)	ミトコンドリア	1970
<i>H. sacchari</i>	さとうきび 眼点病	HS 毒素		サトウキビ (51-NG 97, 等)		細胞膜	1971
<i>H. victoriae</i> (<i>C. victoriae</i>)	エンバク victoria blight 病	HV 毒素 (= victorin)	TOX3 遺伝子群	エンバク (ビクトリア, 等)	Vb 遺伝子 (感受性優性)	細胞膜	1947
その他：							
<i>Corynespora cassicola</i>	トマト target leaf spot 病	CC 毒素		トマト (Ife, 等)			1975
<i>Periconia circinata</i>	モロコシ milo 病	PC 毒素		モロコシ (Giant milo, 等)	Pc 遺伝子 (感受性優性)	細胞膜	1961
<i>Phyllosticta maydis</i>	トウモロコシ yellow leaf blight 病	PM 毒素		トウモロコシ (T 型 優性不稔細胞質)	T-urf13 遺伝子 (毒素レセプター)	ミトコンドリア	1973
<i>Pyrenophora</i> <i>tritichi-repentis</i>	コムギ tan spot 病	タンバク質 毒素	Ptr 遺伝子等	コムギ	Tsn1 遺伝子, 等 (感受性優性)		1989
<i>Stagonospora nodorum</i>	コムギ SN blotch 病	タンバク質 毒素	Sn 遺伝子等	コムギ	Snn1, 2 遺伝子, 等 (感受性優性)		2004

成分は、後に AK 毒素と命名され、1960 年代に鳥取大学の西村正暘博士 (後に名古屋大学)、甲元啓介博士、尾谷 浩博士らにより毒素研究が開始された (Nishimura and Kohmoto, 1983)。1960–70 年代は、宿主特異的毒素を生産する *Alternaria* 属菌による病害が数多く報告され、リンゴ斑点落葉病菌 (*A. mali*)、タバコ赤星病菌 (*A. longipes*)、トマトアルタナリア茎枯病菌 (*A. alternata* f. sp. *lycopersici*)、カンキツ類の

Alternaria leaf spot 病菌および *Alternaria* brown spot 病菌 (異なる病原型を示す *A. citri*)、イチゴ黒斑病菌 (*A. alternata* strawberry pathotype) が、分子量 1000 以下の低分子の宿主特異的毒素を生産する *Alternaria* 属の病原菌として今日知られている (第 1 表)。

これらの *Alternaria* 属病原菌の多くは、病害発生時には固有の種として同定されていたが、後に各病原菌の孢子形態

が *A. alternata* と一致することが明らかになり、*A. alternata* の病原性に関する種内変異系統（病原型 pathotype）として位置付けることが提案された（Nishimura, 1980; Nishimura and Kohmoto, 1983）。これに対して、宿主特異的毒素生産性 *Alternaria* 属病原菌の種間で形態変異があるとの説を唱える報告もあるが（Simmons and Roberts, 1993）、*A. alternata* は変異が多い菌で、形態変異による種の分類は困難であることが広く認知され、さらに複数の分子系統学的解析からも病原型説の正当性が確認されている（Andrew *et al.*, 2009; Kusaba and Tsuge, 1994, 1995; Peever *et al.*, 2004; Pryor and Gilbertson, 2000; Rotem, 1994; Tsuge *et al.*, 2013）。

ナシ黒斑病菌が生産する AK 毒素 I の化学構造は、田中彰一博士が培養ろ液の毒性を発見してから約 50 年後に決定され（Nakashima *et al.*, 1985）、その後 *A. alternata* の 7 つの病原型のうち、タバコ赤星病菌が生産する AT 毒素以外の 6 つの病原型菌の生産するすべての毒素の化学構造が明らかにされた（Kohmoto and Otani, 1991）。これらの宿主特異的毒素は、それぞれの毒素構造の化学的特性から、デカトリエン酸エステル化合物（AK 毒素、AF 毒素、ACT 毒素）、環状ペプチド化合物（AM 毒素）、ポリケチド化合物（AAL 毒素、ACR 毒素）に分けられる（Kohmoto and Otani, 1991）。ナシ黒斑病菌の生産する AK 毒素、イチゴ黒斑病菌の生産する AF 毒素、*Alternaria brown spot* 病菌の生産する ACT 毒素には、これら 3 毒素がそれぞれ共有する部分構造として、9,10-epoxy-8-hydroxy-9-methyl-decatricenoic acid（デカトリエン酸）が存在する（Kohmoto *et al.*, 1993; Nakashima *et al.*, 1985; Nakatsuka *et al.*, 1986b）。リンゴ斑点落葉病菌の生産する AM 毒素は、非リボソームペプチド合成酵素がアミノ酸のペプチド結合を触媒する環状ペプチド構造（cyclo-(L- α -amino-p-methoxyphenyl valeryl-dehydroalanyl-L-alanyl-L- α -hydroxyisovaleryl-lactone)）を有している（Okuno *et al.*, 1974; Ueno *et al.*, 1975, 1977）。トマトアルタナリア茎枯病菌の生産する AAL 毒素とカンキツ *Alternaria brown spot* 病菌が生産する ACR 毒素（C19 の polyalcohol で α -dihydropyrone ring を持つ）は、いずれもポリケチド化合物であり（Bottini and Gilchrist, 1981; Bottini *et al.*, 1981; Gardner *et al.*, 1985; Gilchrist and Grogan, 1976; Nakatsuka *et al.*, 1986a）、それぞれの毒素に特異的なポリケチド合成酵素が毒素生産の主酵素である。AAL 毒素の構造は *Fusarium verticillioides* (syn. *F. moniliforme*) の生産するマイコトキシン fumonisin に類似し、sphingosine や sphinganine と類似性を示す。

病原性における宿主特異的毒素の役割と作用機構

宿主特異的毒素の定義は、1) 宿主選択的毒性、2) 宿主

植物の毒素耐性度と病害抵抗性の一致、3) 病原菌の毒素生産能と病原性の一致、4) 病原菌の孢子発芽時や侵入時の毒素放出、5) 感染初期の宿主における生化学的変化の毒素処理による再現、6) 放出された毒素による病原菌感染の誘導とされ、現在までに単離された *A. alternata* の生産する全ての宿主特異的毒素はこの定義に当てはまる（Kohmoto and Otani, 1991; Nishimura and Kohmoto, 1983; Otani *et al.*, 1995; Scheffer and Livingston, 1984; Yoder, 1980）。病原性において、これらの毒素は必須因子であり、非病原性 *A. alternata* の孢子発芽液に毒素を混ぜて接種すると、病原菌と同様に病徴が誘起される（Akimitsu *et al.*, 1989; Otani *et al.*, 1975; Yamagishi *et al.*, 2006; Yamamoto *et al.*, 1984）。

宿主特異的毒素が宿主に選択的毒性を発揮できるメカニズムとして、レセプター仮説が唱えられた。毒素に感受性を示す宿主品種のみがレセプターを持ち、毒素と相互反応した結果、宿主抵抗性が抑制されて毒素生産菌の感染が成立するとともに、毒素の毒性により細胞死が引き起こされるという仮説である（Kohmoto and Otani, 1991; Nishimura and Kohmoto, 1983; Otani *et al.*, 1995; Pringle and Scheffer, 1964; Scheffer and Livingston, 1984）。この仮説を支持する結果が、T 毒素（= HMT 毒素）、ACR 毒素、victorin（= HV 毒素）とその宿主植物で示されたことを緒言でも述べた（Dewey *et al.*, 1986; Lorang *et al.*, 2012; Ohtani *et al.*, 2002）。*C. heterostrophus* race T により生産される長鎖のポリケチド構造である T 毒素は、テキサス型細胞質雄性不稔系統（T-cms）のトウモロコシにのみ毒性を示す（Dewey *et al.*, 1986, 1988）。この T 毒素への感受性を担う 13 kDa のミトコンドリア膜貫入型レセプタータンパク質をコードする *T-urf13* 遺伝子が、感受性トウモロコシのミトコンドリアゲノムから単離された（Dewey *et al.*, 1986, 1988）。興味深いことに、ACR 毒素はラフレモンミトコンドリアに対して、T 毒素の T-cms トウモロコシミトコンドリアへの作用と同じ作用を示し、ラフレモンミトコンドリアゲノムからも 7 kDa のミトコンドリア膜貫入型レセプタータンパク質をコードする *ACRS* 遺伝子が単離された（Ohtani *et al.*, 2002）。両遺伝子の配列は大きく異なるが、いずれもミトコンドリア膜で両親媒性 4 量体を形成し、孔形成型レセプター様の配列を持つ（Ohtani *et al.*, 2002）。さらに、両遺伝子を大腸菌でそれぞれ発現させることにより、毒素耐性である大腸菌が毒素感受化するようになることが明らかになっている（Dewey *et al.*, 1988; Ohtani *et al.*, 2002）。victorin に関しては、毒素感受性を担う遺伝子として *LOV1* 遺伝子が単離されたが、毒素との結合に関しては明らかではない。しかし、victorin 生産菌の宿主エンバク葉から 100 kDa の結合タンパク質が単離されており、感受性誘

導のトリガー因子の一つとして毒素の結合が示唆されている (Akimitsu *et al.*, 1992; Wolpert and Macko, 1989).

宿主特異的毒素は強い毒性を持つため、感染時に毒素生産菌が分泌する毒素で宿主細胞が壊死して、腐生菌と同じ性質を持つ *A. alternata* が死細胞に侵入しているという考え方もあるが、接種後の経時的な感染行動の観察から、宿主特異的毒素は宿主抵抗反応を抑制するサプレッサー作用を持つという仮説が唱えられ、これを支持する結果が示されている (Kohmoto and Otani, 1991; Nishimura and Kohmoto, 1983; Otani *et al.*, 1995; Scheffer and Livingston, 1984). 例えば、AM 毒素が誘起する壊死形成は、602 nm 付近の光照射で抑制されるが、同毒素の生産菌の感染は抑制されないため、菌の感染に壊死形成は不可欠ではないことが示されている (Tabira *et al.*, 1989). AK 毒素、AF 毒素、ACT 毒素は、いずれの毒素も作用点が宿主の原形質膜の機能破壊で、AK 毒素、AF 毒素に関しては、電顕所見や各種阻害剤解析により詳細が報告され、ACT 毒素の作用機構も両毒素に類似すると考えられている (Akimitsu *et al.*, 2003; Kohmoto *et al.*, 1993; Maekawa *et al.*, 1984; Otani *et al.*, 1985; Tsuge *et al.*, 2013). これらの毒素はいずれも迅速に細胞死を誘導するため、宿主抵抗反応抑制作用を検証することは困難である。しかしながら、作用機構がミトコンドリア膜への孔形成による酸化的リン酸化阻害である ACR 毒素は、細胞死に至るまで時間があるため、その間の防御関連遺伝子発現の挙動が解析された。その結果、ACR 毒素生産菌接種後に防御関連遺伝子発現は、抑制または遅延すると報告されている (Gomi *et al.*, 2002a, b, 2003). *C. carbonum* race 1 が生産する宿主特異的毒素である HC 毒素も、その作用は毒性というより cytostatic であると報告されている (Walton, 1996; Wolpert *et al.*, 2002).

また、これらの報告とは別に、セラミド生合成阻害を引き起こす AAL 毒素や、アポトーシス様反応を引き起こす victorin による細胞死誘導は、過敏反応死を誘導する経路と同様であると報告され (Gilchrist, 1998; Markham and Hille, 2001; Richael and Gilchrist, 1999; Wolpert *et al.*, 2002), さらに、ACT 毒素は毒素非感受性のカンキツ葉で各種防御関連遺伝子の発現を誘導することも明らかになっている (Akimitsu *et al.*, 2003; Shishido *et al.*, 2012).

宿主特異的毒素生産の分子遺伝学的解析

Alternaria 属菌の宿主特異的毒素生合成遺伝子クラスター研究は、遺伝子タギング法の一つである REMI (restriction enzyme-mediated integration) 法により、AK 毒素を生産するナシ黒斑病菌を用いて開始された (Tanaka *et al.*, 1999; Tanaka and Tsuge, 2000). デカトリエン酸合成に関係する遺

伝子群が明らかになり、これらの遺伝子のオーソログが、同じデカトリエン酸構造を保有する AF 毒素や ACT 毒素の生産菌ゲノムから次々と単離された (Hatta *et al.*, 2002; Masunaka *et al.*, 2000; Ruswandi *et al.*, 2005; Tanaka *et al.*, 1999; Tanaka and Tsuge, 2000). さらに、AK 毒素・AF 毒素・ACT 毒素生産菌ゲノム解析が進み、デカトリエン酸以外の構造の生合成を担う酵素等をコードする生合成遺伝子群も単離され (Ajiro *et al.*, 2010; Ito *et al.*, 2004; Miyamoto *et al.*, 2010), 興味深いことにいずれの遺伝子群も特定の小型染色体上にクラスター化して座乗することが明らかになった (Hatta *et al.*, 2002; Ito *et al.*, 2004; Masunaka *et al.*, 2005; Miyamoto *et al.*, 2008; Tsuge *et al.*, 2013). これらの遺伝子群のコードする各毒素生合成酵素や制御因子の機能解析には、相同組み換えを介した標的遺伝子破壊法や RNA サイレンシング法が用いられ、標的とする遺伝子産物の機能消失が毒素生産の停止に直結することにより、毒素生合成に必須であることが証明された。AK 毒素・AF 毒素・ACT 毒素生合成遺伝子クラスター解析とともに、環状ペプチド化合物である AM 毒素、ポリケチド化合物である AAL 毒素・ACR 毒素の生合成遺伝子クラスターの解析も同様に進められ (Akagi *et al.*, 2009; Akamatsu *et al.*, 2003; Harimoto *et al.*, 2007, 2008; Izumi *et al.*, 2012a, b; Johnson *et al.*, 2000; Tsuge *et al.*, 2013; Yamagishi *et al.*, 2006), これらの生合成遺伝子クラスターも、AK 毒素・AF 毒素・ACT 毒素生合成遺伝子クラスターと同様に、各毒素生産菌の保有する小型染色体に座乗することが明らかになった。これらの小型染色体は、非病原性の *Alternaria* 属菌には存在しない 2 Mb 以下の染色体であり、その多くは生存には必要ない“余分な染色体” (conditionally dispensable (CD) chromosome) であった (Ajiro *et al.*, 2010; Akagi *et al.*, 2009; Akamatsu *et al.*, 1999; Harimoto *et al.*, 2007; Hatta *et al.*, 2002; Izumi *et al.*, 2012a, b; Johnson *et al.*, 2001; Masunaka *et al.*, 2005; Miyamoto *et al.*, 2008, 2009, 2010; Tsuge *et al.*, 2013). これらの染色体に、各毒素生合成遺伝子クラスターが水平移動して、毒素生産に進化した可能性もあり、植物病原糸状菌の寄生性を制御する遺伝情報を探るべく、研究は現在も続いている。

1933 年に田中博士により開始された *Alternaria* 属菌の生産する宿主特異的毒素に関する研究は、80 年余りを経て、毒素の化学構造の決定、作用機構の解明、毒素生合成遺伝子クラスターの解析と、弛まなく続けられてきた。*Alternaria* 宿主特異的毒素生合成遺伝子クラスターとそれらが座乗する CD 小型染色体の解析や、レセプターを中心とした毒素感受性を担う遺伝学的機構の解明により、今後植物と病原菌間の宿主特異性や寄生性獲得のメカニズムが明

らかになる日が必ず来ると考える。

謝 辞

筆者らは故西村正陽先生、甲元啓介先生のご指導のもと、これらの研究を進めてきました。本稿で紹介した研究は、多くの *Alternaria* 宿主特異的毒素研究者の先生方、諸先輩方の築かれた研究成果を踏まえ、学生諸氏の奮闘により展開されたものです。また、本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金の補助を受けて行われたものです。ここに記して、心より感謝の意を表します。

引用文献

- Ajiro, N., Miyamoto, Y., Masunaka, A., Tsuge, T., Yamamoto, M., Ohtani, K., Fukumoto, T., Gomi, K., Peever, T.L., Izumi, Y., Tada, Y. and Akimitsu, K. (2010). Role of the host-selective ACT-toxin synthesis gene *ACTTS2* encoding an enoyl-reductase in pathogenicity of the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 100: 120–126.
- Akagi, Y., Akamatsu, H., Otani, H. and Kodama, M. (2009). Horizontal chromosome transfer, a mechanism for the evolution and differentiation of a plant-pathogenic fungus. *Eukaryot. Cell* 8: 1732–1738.
- Akamatsu, H., Taga, M., Kodama, M., Johnson, R., Otani, H. and Kohmoto, K. (1999). Molecular karyotypes for *Alternaria* plant pathogens known to produce host-specific toxins. *Curr. Genet.* 35: 647–656.
- Akamatsu, H., Otani, H. and Kodama, M. (2003). Characterization of a gene cluster for host-specific AAL-toxin biosynthesis in the tomato pathotype of *Alternaria alternata*. *Fungal. Genet. Newsl.* 50 (Suppl.): 355.
- Akimitsu, K., Kohmoto, K., Otani, H. and Nishimura, S. (1989). Host-specific effect of toxin from the rough lemon pathotype of *Alternaria alternata* on mitochondria. *Plant Physiol.* 89: 925–931.
- Akimitsu, K., Hart, L.P., Walton, J.D. and Hollingsworth, R. (1992). Covalent binding sites of victorin in oat leaf tissues detected by anti-victorin polyclonal antibodies. *Plant Physiol.* 98: 121–126.
- Akimitsu, K., Peever, T.L. and Timmer, L.W. (2003). Molecular, ecological and evolutionary approaches to understanding *Alternaria* diseases of citrus. *Mol. Plant Pathol.* 4: 435–446.
- Andrew, M., Peever, T.L. and Pryor, B.M. (2009). An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. *Mycologia* 101: 95–109.
- Bottini, A.T. and Gilchrist, D.G. (1981). Phytotoxins. I. A 1-aminodimethyl-heptadecapentol from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Tetrahedron Lett.* 22: 2719–2722.
- Bottini, A.T., Bowen, J.R. and Gilchrist, D.G. (1981). Phytotoxins. II. Characterization of a phytotoxic fraction from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Tetrahedron Lett.* 22: 2723–2726.
- Dewey, R.E., Levings, C.S. III. and Timothy, D.H. (1986). Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique transcriptional unit in the texas male-sterile cytoplasm. *Cell* 44: 439–449.
- Dewey, R.E., Siedow, J.N., Timothy, D.H. and Levings, C.S. III. (1988). A 13-kilodalton maize mitochondrial protein in *E. coli confers* sensitivity to *Bipolaris maydis* toxin. *Science* 239: 293–295.
- Gardner, J.M., Kono, Y., Tatum, J.H., Suzuki, Y. and Takeuchi, S. (1985). Structure of major component of ACRL toxins, host-specific phytotoxic compound produced by *Alternaria citri*. *Agri. Biol. Chem.* 49: 1235–1238.
- Gilchrist, D.G. and Grogan, R.G. (1976). Production and nature of a host-specific toxin from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 66: 165–171.
- Gilchrist, D.G. (1998). Programmed cell death in plant disease: the purpose and promise of cellular suicide. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36: 393–414.
- Gomi, K., Itoh, N., Yamamoto, H. and Akimitsu, K. (2002a). Characterization and functional analysis of class I and II acidic chitinase cDNA from rough lemon. *J. Gen. Plant Pathol.* 68: 191–199.
- Gomi, K., Yamamoto, H. and Akimitsu, K. (2002b). Characterization of lipoxygenase gene in rough lemon induced by *Alternaria alternata*. *J. Gen. Plant Pathol.* 68: 21–30.
- Gomi, K., Yamasaki, Y., Yamamoto, H. and Akimitsu, K. (2003). Characterization of hydroperoxide lyase gene and effect of C6-volatiles on expression of genes of the oxylipin metabolism in citrus. *J. Plant-Physiol.* 160: 1219–1231.
- Harimoto, Y., Hatta, R., Kodama, M., Yamamoto, M., Otani, H. and Tsuge, T. (2007). Expression profiles of genes encoded by the supernumerary chromosome controlling AM-toxin biosynthesis and pathogenicity in the apple pathotype of *Alternaria alternata*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20: 1463–1476.
- Harimoto, Y., Tanaka, T., Kodama, M., Yamamoto, M., Otani, H. and Tsuge, T. (2008). Multiple copies of AMT2 are prerequisite for the apple pathotype of *Alternaria alternata* to produce enough AM-toxin for expressing pathogenicity. *J. Gen. Plant Pathol.* 74: 222–229.
- Hatta, R., Ito, K., Hosaki, Y., Tanaka, T., Tanaka, A., Yamamoto, M., Akimitsu, K. and Tsuge, T. (2002). A conditionally dispensable chromosome controls host-specific pathogenicity in the fungal plant pathogen *Alternaria alternata*. *Genetics* 161: 59–70.
- Ito, K., Tanaka, T., Hatta, R., Yamamoto, M., Akimitsu, K. and Tsuge, T. (2004). Dissection of the host range of the fungal plant pathogen *Alternaria alternata* by modification of secondary metabolism. *Mol. Microbiol.* 52: 399–411.
- Izumi, Y., Kamei, E., Miyamoto, Y., Ohtani, K., Masunaka, A., Fukumoto, T., Gomi, K., Tada, Y., Ichimura, K., Peever, T.L. and Akimitsu, K. (2012a). Role of pathotype-specific *ACRTS1* gene encoding a hydroxylase involved in the biosynthesis of host-selective ACR-toxin in the rough lemon pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 102: 741–748.
- Izumi, Y., Ohtani, K., Miyamoto, Y., Masunaka, A., Fukumoto, T., Gomi, K., Tada, Y., Ichimura, K., Peever, T.L. and Akimitsu, K. (2012b). A polyketide synthase gene, *ACRTS2*, is responsible for biosynthesis of host-selective ACR-toxin in the rough lemon pathotype of *Alternaria alternata*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 25: 1419–1429.

- Johal, G.S. and Briggs, S.P. (1992). Reductase activity encoded by the *HMI* disease resistance gene in maize. *Science* 258: 985–987.
- Johnson, R.D., Johnson, L., Itoh, Y., Kodama, M., Otani, H. and Kohmoto, K. (2000). Cloning and characterization of a cyclic peptide synthetase gene from *Alternaria alternata* apple pathotype whose product is involved in AM-toxin synthesis and pathogenicity. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13: 742–753.
- Johnson, L., Johnson, R.D., Akamatsu, H., Salamiah, A., Otani, H., Kohmoto, K. and Kodama, M. (2001). Spontaneous loss of a conditionally dispensable chromosome from *Alternaria alternata* apple pathotype leads to loss of toxin production and pathogenicity. *Curr. Genet.* 40: 65–72.
- Kohmoto, K. and Otani, H. (1991). Host recognition by toxigenic plant pathogens. *Experientia* 47: 755–764.
- Kohmoto, K., Itoh, Y., Shimomura, N., Kondoh, Y., Otani, H., Kodama, M., Nishimura, S. and Nakatsuka, S. (1993). Isolation and biological activities of two host-specific toxins from the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 83: 495–502.
- Kusaba, M. and Tsuge, T. (1994). Nuclear ribosomal DNA variation and pathogenic specialization in *Alternaria* fungi known to produce host-specific toxins. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 3055–3062.
- Kusaba, M. and Tsuge, T. (1995). Phylogeny of *Alternaria* fungi known to produce host-specific toxins on the basis of variation in internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Curr. Genet.* 28: 491–498.
- Lorang, J., Kidarsa, T., Bradford, C.S., Gilbert, B., Curtis, M., Tzeng, S.C., Maier, C.S. and Wolpert, T.J. (2012). Tricking the guard: exploiting plant defense for disease susceptibility. *Science* 338: 659–662.
- Maekawa, N., Kohmoto, K., Kuwada, M., Yamamoto, M., Nishimura, S. and Watanabe, Y. (1984). Studies on host-specific AF-toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype causing *Alternaria* black spot of strawberry. (1) Production of host-specific toxins and their biological activities. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 50: 600–609.
- Markham, J.E. and Hille, J. (2001). Host-selective toxins as agents of cell death in plant–fungus interactions. *Mol. Plant Pathol.* 2: 229–239.
- Masunaka, A., Tanaka, A., Tsuge, T., Peever, T.L., Timmer, L.W., Yamamoto, H., Yamamoto, M. and Akimitsu, K. (2000). Distribution and characterization of *AKT* homologs in the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 90: 762–768.
- Masunaka, A., Ohtani, K., Peever, T.L., Timmer, L.W., Tsuge, T., Yamamoto, M., Yamamoto, H. and Akimitsu, K. (2005). An isolate of *Alternaria alternata* that is pathogenic to both tangerines and rough lemon and produces two host-selective toxins, ACT- and ACR-toxins. *Phytopathology* 95: 241–247.
- Meeley, R.B., Johal, G.S., Briggs, S.P. and Walton, J.D. (1992). A biochemical phenotype for a disease resistance gene of maize. *Plant Cell* 4: 71–77.
- Miyamoto, Y., Masunaka, A., Tsuge, T., Yamamoto, M., Ohtani, K., Fukumoto, T., Gomi, K., Peever, T.L. and Akimitsu, K. (2008). Functional analysis of a multicopy host-selective ACT-toxin biosynthesis gene in the tangerine pathotype of *Alternaria alternata* using RNA silencing. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21: 1591–1599.
- Miyamoto, Y., Ishii, Y., Honda, A., Masunaka, A., Tsuge, T., Yamamoto, M., Ohtani, K., Fukumoto, T., Gomi, K., Peever, T.L. and Akimitsu, K. (2009). Function of genes encoding acyl-CoA synthetase and enoyl-CoA hydratase for host-selective ACT-toxin biosynthesis in the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* 99: 369–377.
- Miyamoto, Y., Masunaka, A., Tsuge, T., Yamamoto, M., Ohtani, K., Fukumoto, T., Gomi, K., Peever, T.L., Tada, K., Ichimura, K. and Akimitsu, K. (2010). *ACTTS3* encoding a polyketide synthase is essential for the biosynthesis of ACT-toxin and pathogenicity in the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23: 406–414.
- Nakashima, T., Ueno, T., Fukami, H., Taga, T., Masuda, H., Osaki, K., Otani, H., Kohmoto, K. and Nishimura, S. (1985). Isolation and structures of AK-toxin I and II, host-specific phytotoxic metabolites produced by *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. *Agric. Biol. Chem.* 49: 807–815.
- Nakatsuka, S., Goto, T., Kohmoto, K. and Nishimura, S. (1986a). Host-specific phytotoxins. *In* Natural Products and Biological Activities (Imura, H., Goto, T., Murachi, T. and Nakajima, T., eds.). pp. 11–18, University of Tokyo Press, Tokyo.
- Nakatsuka, S., Ueda, K., Goto, T., Yamamoto, M., Nishimura, S. and Kohmoto, K. (1986b). Structure of AF-toxin II, one of the host-specific toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype. *Tetrahedron Lett.* 27: 2753–2756.
- Nishimura, S. (1980). Host-specific toxins from *Alternaria alternata*: problems and prospects. *Proc. Jpn. Acad.* 56B: 362–366.
- Nishimura, S. and Kohmoto, K. (1983). Host-specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. *Annu. Rev. Phytopathol.* 21: 87–116.
- Ohtani, K., Yamamoto, H. and Akimitsu, K. (2002). Sensitivity to *Alternaria alternata* toxin in citrus because of altered mitochondrial RNA processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 99: 2439–2444.
- Okuno, T., Ishita, Y., Sawai, K. and Matsumoto, T. (1974). Characterization of alternariolide, a host-specific toxin produced by *Alternaria mali* Roberts. *Chem. Lett.* 6: 635–638.
- Otani, H., Nishimura, S., Kohmoto, K., Yano, K. and Seno, T. (1975). Nature of specific susceptibility to *Alternaria kikuchiana* in Nijisseiki cultivar among Japanese pears (V) Role of host-specific toxin in early step of infection. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 41: 467–476.
- Otani, H., Kohmoto, K., Nishimura, S., Nakashima, T., Ueno, T. and Fukami, H. (1985). Biological activities of AK-toxins I and II, host-specific toxins from *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 51: 285–293.
- Otani, H., Kohmoto, K. and Kodama, M. (1995). *Alternaria* toxins and their effects on host plants. *Can. J. Bot.* 73: 453–458.
- Peever, T.L., Su, G., Carpenter-Boggs, L. and Timmer, L.W. (2004). Molecular systematics of citrus-associated *Alternaria* species. *Mycologia* 96: 119–134.
- Pringle, R.B. and Scheffer, R.P. (1964). Host-specific plant toxins. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2: 133–156.
- Pryor, B.M. and Gilbertson, R.L. (2000). Molecular phylogenetic

- relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. *Mycol. Res.* 104: 1312–1321.
- Richael, C. and Gilchrist, D. (1999). The hypersensitive response: a case of hold or fold? *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55: 5–12.
- Rotem, J. (1994). The genus *Alternaria*: biology, epidemiology, and pathogenicity. American Phytopathological Society Press, St. Paul.
- Ruswandi, S.R., Kitani, K., Akimitsu, K., Tsuge, T., Shiraishi, T. and Yamamoto, M. (2005). Structural analysis of cosmid clone pcAFT-2 carrying *AFT10-1* encoding an acyl-CoA dehydrogenase involved in AF-toxin production in the strawberry pathotype of *Alternaria alternata*. *J. Gen. Plant Pathol.* 71: 107–116.
- Scheffer, R.P. and Livingston, R.S. (1984). Host-selective toxins and their role in plant diseases. *Science* 223: 17–21.
- Shishido, H., Miyamoto, Y., Ozawa, R., Taniguchi, S., Takabayashi, J., Akimitsu, K. and Gomi, K. (2012). Geraniol synthase whose mRNA is induced by host-selective ACT-toxin in the ACT-toxin-insensitive rough lemon (*Citrus jambhiri*). *J. Plant Physiol.* 169: 1401–1407.
- Simmons, E.G. and Roberts, R.G. (1993). *Alternaria* themes and variations (73). *Mycotaxon* 48: 109–140.
- Tabira, H., Otani, H., Shimomura, N., Kodama, M., Kohmoto, K. and Nishimura, S. (1989). Light-induced insensitivity of apple and Japanese pear leaves to AM-toxin from *Alternaria alternata* apple pathotype. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 55: 567–578.
- Tanaka, S. (1933). Studies on black spot disease of the Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.). *Mem. Coll. Agric. Kyoto Univ.* 28: 1–31.
- Tanaka, A., Shiotani, H., Yamamoto, M. and Tsuge, T. (1999). Insertional mutagenesis and cloning of the genes required for biosynthesis of the host-specific AK-toxin in the Japanese pear pathotype of *Alternaria alternata*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 12: 691–702.
- Tanaka, A. and Tsuge, T. (2000). Structural and functional complexity of the genomic region controlling AK-toxin biosynthesis and pathogenicity in the Japanese pear pathotype of *Alternaria alternata*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 13: 975–986.
- Tsuge, T., Harimoto, Y., Akimitsu, K., Ohtani, K., Kodama, M., Akagi, Y., Egusa, M., Yamamoto, M. and Otani, H. (2013). Host-selective toxins produced by the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata*. *FEMS Microbiol. Rev.* 37: 44–66.
- Ueno, T., Nakashima, T., Hayashi, Y. and Fukami, H. (1975). Structures of AM-toxin I and II, host specific phytotoxic metabolites produced by *Alternaria mali*. *Agric. Biol. Chem.* 39: 1115–1122.
- Ueno, T., Nakashima, T., Uemoto, M., Fukami, H., Lee, S.N. and Izumiya, N. (1977). Mass spectrometry of *Alternaria mali* toxins and related cyclodepsipeptides. *Biol. Mass Spectrom.* 4: 134–142.
- Walton, J.D. (1996). Host-selective toxins: agents of compatibility. *Plant Cell* 8: 1723–1733.
- Wolpert, T.J. and Macko, V. (1989). Specific binding of victorin to a 100-kDa protein from oats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 86: 4092–4096.
- Wolpert, T.J., Dunkle, L.D. and Ciuffetti, L.M. (2002). Host-selective toxins and avirulence determinants: what's in a name? *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 251–285.
- Yamagishi, D., Akamatsu, H., Otani, H. and Kodama, M. (2006). Pathological evaluation of host-specific AAL-toxins and fumonisin mycotoxins produced by *Alternaria* and *Fusarium* species. *J. Gen. Plant Pathol.* 72: 323–327.
- Yamamoto, M., Nishimura, S., Kohmoto, K. and Otani, H. (1984). Studies on host-specific toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype causing *Alternaria* black spot of strawberry: (2) Role of toxins in pathogenesis. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 50: 610–619.
- Yoder, O.C. (1980). Toxins in pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.* 18: 103–129.