

# イネ品種のいもち病圃場抵抗性の遺伝子解析

東北農業研究センター水田利用部 ぜん 善 ばやし 林 かおる 薫  
水田病虫害研究室

## はじめに

いもち病はイネの最重要病害で、その防除は現在主に薬剤によって行われている。しかし、環境に配慮した農業を推進するため、イネのもつ抵抗性の有効利用が強く求められている。特に、圃場抵抗性は、いもち病菌レースによる抵抗性の崩壊が起きにくいと、抵抗性品種の育成において非常に有用である。これまでのいもち病圃場抵抗性に関する遺伝学的研究によれば、本抵抗性は量的形質で、一部には主働抵抗性遺伝子支配のものもある(篠田ら, 1971; 鳥山ら, 1968)が、その多くはポリジーンによって支配されている。しかし、これらの詳細な遺伝解析事例は少ない。一方、近年の分子生物学的手法のめざましい発展は、これまで解析が困難であった量的形質の詳細な解析を可能にし、イネの出穂期に関しては、複数の遺伝子が単離され、遺伝子間の相互作用も解明されつつある(YAMAMOTO, et al., 2000; YANO, et al., 2000)。そこで、筆者らは、分子生物学的手法を用いて、いもち病圃場抵抗性に関する遺伝子のマップベースクローニング(DNA マーカー連鎖地図を利用した遺伝子単離)を目指し、遺伝子の数および作用力の推定、染色体上の座乗位置の決定を行った。ここではその概要を述べるとともに、同様の手法で進められている他のいもち病圃場抵抗性遺伝子の遺伝子解析についても紹介する。

## I いもち病圃場抵抗性遺伝子 *Pi 26* のマッピング

### 1 イネ系統‘中部32号’のいもち病圃場抵抗性のQTL解析

イネ系統‘中部32号’は、現在の愛知県農業総合試験場山間農業研究所において育成された系統で、いもち病真性抵抗性遺伝子型は+ (一部には *Pia* を保有しているものもある) である。本系統は葉・穂ともにいもち病に非常に強く、これは陸稲由来の圃場抵抗性によるものと推定されている。筆者らは、‘中部32号’のいもち病圃場抵抗性について、同抵抗性に関与する遺伝子

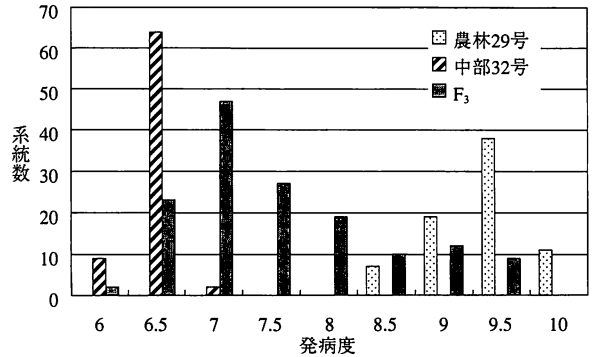


図-1 ‘農林29号’/‘中部32号’のF<sub>3</sub>系統の畑苗代における葉いもち発病度

を単離することを最終目標として、はじめに、QTL (量的形質遺伝子座) 解析により、同抵抗性に関与する遺伝子の数とその座乗染色体および座乗領域の推定を行った。すなわち、‘中部32号’と、いもち病圃場抵抗性の弱い水稲品種‘農林29号’を交配して得られたF<sub>3</sub> 149系統について、畑苗代検定により葉いもちの発病度を調査し、葉いもち圃場抵抗性の分離を調べた。そして、このF<sub>3</sub>系統の葉いもち発病度別の分布は、発病度7 (病斑面積率約60%) と9 (同90%) の2か所にピークをもつ連続分布を示すことを明らかにした(図-1)。また、両親品種およびF<sub>3</sub>系統のDNAを用いて36個のマーカーからなるDNAマーカー連鎖地図を作製し、表現型データとしてF<sub>3</sub>各系統の葉いもち発病度を用いて、QTL解析ソフトMAPMAKER/QTLによりいもち病圃場抵抗性に関する遺伝子座を連鎖地図上にマッピングした。その結果、同遺伝子座はマーカーC1172を中心とする一つの領域に存在することを示し(ZENBAYASHI, et al., 2002) (図-2)、この領域に座乗する本遺伝子は優性に作用し、全表現型分散の45.6%を説明することを明らかにした。

### 2 圃場抵抗性遺伝子 *Pi 26* の連鎖地図上へのマッピング

QTL解析の結果、‘中部32号’の示すいもち病圃場抵抗性は、優性の主働遺伝子支配であることが示された。そこで、本遺伝子を単一の遺伝子(質的形質遺伝子)として評価できるかどうか確認するために、‘農林29号’/

‘中部 32号’のF<sub>6</sub>系統の遺伝子型およびF<sub>7</sub>系統の表現型(葉いもち抵抗性)を用いて、本遺伝子を連鎖地図上に新たにマッピングした。その結果、本遺伝子はQTL解析で示されたものとはほぼ同じ位置にマッピングされた

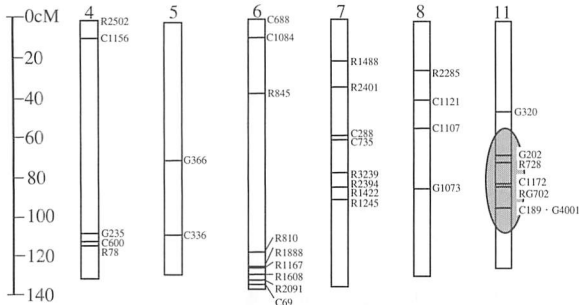


図-2 農林 29号/中部 32号のF<sub>3</sub>系統から作成した連鎖地図といもち病圃場抵抗性に関するQTLの位置  
注) 楕円で示した領域：いもち病圃場抵抗性関連QTLの座乗領域。

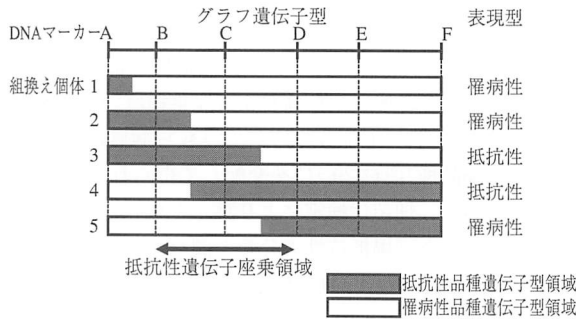


図-3 組換え個体のグラフ遺伝子型と表現型の対応付けによる遺伝子座乗位置の決定方法の模式図  
注) 図ではDNAマーカー間の組換え位置を便宜上2マーカー間の中央としている。

ため、これをPi 26と命名した。

マップベースクローニングによって遺伝子を単離するためには、標的遺伝子近傍に、DNAマーカーを多数設定することが必要である。一般的に、両親品種の遺伝的背景が遠縁であるほどDNAマーカーは得られやすい。そこで、11番染色体長腕領域がIndica品種‘Kasalath’に置換したコシヒカリ(染色体断片置換系統)と‘中部 32号’を交配して解析集団を養成した。また、遺伝子の位置は、遺伝子近傍で組換えを生じた個体を多数選抜し、各個体の遺伝子型と表現型(いもち病圃場抵抗性)を対応づけることで決定できる(図-3)。そこで、本交配からのF<sub>2</sub>集団の中からPi 26領域の遺伝子型がヘテロであった6個体を選び、これらからF<sub>3</sub>集団(934系統)を養成し、本集団から、DNAマーカーによる遺伝子型判別により遺伝子近傍で組換えを生じた個体を選抜した。各組換え個体の次世代種子(組換えF<sub>4</sub>系統)を用いて、いもち病圃場抵抗性検定を行い、組換え位置と抵抗性(あるいは罹病性)との関係から、Pi 26の座乗領域を調べた。その結果、Pi 26は、DNAマーカーC 1172とC 30038の間の遺伝距離約4.8 cMの領域に座乗することが明らかとなった(図-4)。F<sub>3</sub>集団中、この2マーカー間で組換えを生じた個体数は43個体であった。

3 Pi 26座乗領域の物理地図作製

遺伝距離は組換え頻度から推定された相対値であり、遺伝子の座乗領域の実際の長さ(塩基数)は不明である。そこで、イネゲノム由来のBACクローン(塩基数既知)を用いて当該領域をカバーする物理地図を作製した。All Rice Genome Database (<http://riceblast.dna.affrc.go.jp/>) およびKasalath BAC-end sequence (<http://rgp.dna.affrc.go.jp/blast/runblast.html>) を利

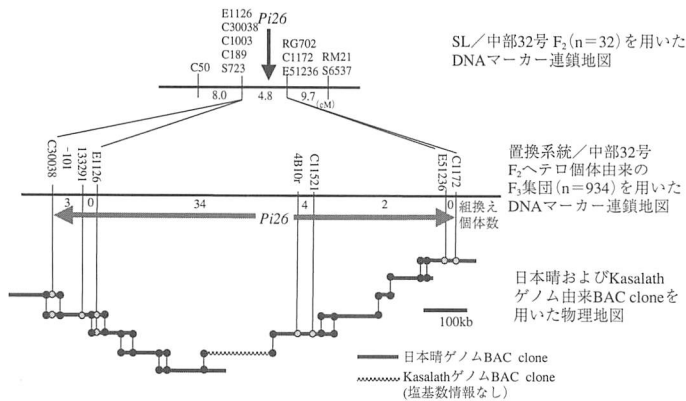


図-4 Pi 26の座乗領域のDNAマーカー連鎖地図、組換え個体数および物理地図

用してBLASTによる相同性検索を行ったところ、DNAマーカーC1172とC30038間を10個のBACクローンでカバーするコンティグが得られ、その物理距離は約1.1 Mbであると推定された。

## II いもち病圃場抵抗性遺伝子解析の進展と品種育成への利用

筆者らの他にも、いくつかの研究グループが、イネいもち病圃場抵抗性に関する遺伝子解析を行っている。福岡らは、陸稲品種‘オワリハタモチ’のいもち病圃場抵抗性について、圃場抵抗性弱品種‘日本晴’との交配により得られたF<sub>4</sub>系統を用いてQTL解析を行い、4番染色体に2個、9番および12番染色体に各1個のいもち病圃場抵抗性関連QTLを見出した(FUKUOKA and OKUNO, 2001)。そして、その中で最も作用力の強いQTLを*pi 2I*と命名して座乗領域の絞り込みを行い、*pi 2I*座を含む1個のPACクローンを選抜した(FUKUOKA, et al., 2002)。また、藤井らは、Indica品種‘Modan’に由来するイネ縞葉枯ウイルス抵抗性をもつ育成系統・品種が、穂いもちに対しても強い圃場抵抗性を示すこと(藤井ら, 1999)に着目し、この穂いもち圃場抵抗性遺伝子を*Pb 1*と命名して、イネ縞葉枯病抵抗性遺伝子*Stb-i*の単離のために作成されたDNAマーカー(HAYANO-SAITO, et al., 1998)等を利用して、共同で*Pb 1*選抜マーカーを開発した(FUJII, et al., 2000)。これらのDNAマーカーは、品種育成の際の選抜マーカーとして利用され、愛知県では‘コシヒカリ’に*Stb-i*および*Pb 1*を導入した複合抵抗性コシヒカリ同質遺伝子系統の開発に成功している(杉浦ら, 2001)。なお、本系統は2002年に‘コシヒカリ愛知SBL’として品種登録出願されている。

## おわりに

筆者らは単離の標的としている*Pi 26*について、今後遺伝子近傍領域のDNAマーカーをさらに充実させ、組換え個体の遺伝子型解析により遺伝子座領域の絞り込みを行い、最終的には‘中部32号’ゲノムを用いたBACライブラリーを作成してそこから*Pi 26*を含むクローンを選抜し、塩基配列解読および機能遺伝子の解析を行う予定でいる。なお、今回紹介した主働遺伝子支配のいもち病圃場抵抗性遺伝子といもち病菌レースとの特異性については、‘中部32号’で一部の菌系で特異性が報告されており(小泉・藤, 1995)、その他、主働圃場抵抗性遺伝子*Pif*についても菌系特異性の報告がある(柚木ら, 1970)。しかし、多くの場合、本抵抗性は菌系非特異的であるとされている。これらの圃場抵抗性遺伝子の病原菌認識機構およびその作用機作と、真性抵抗性遺伝子のそれらとの差異は非常に興味深い研究テーマである。また、遺伝子近傍DNAマーカーを利用して、これらの抵抗性遺伝子を効率的・複合的に導入することで、抵抗性崩壊の危険性がより少ない品種の育成が期待できる。

## 参考文献

- 1) FUJII, K. et al. (2000): Breeding Science 50: 183~188.
- 2) 藤井 潔ら (1999): 育種学研究 1: 203~210.
- 3) FUKUOKA, S. and K. OKUNO (2001): Theor. Appl. Genet. 103: 185~190.
- 4) FUKUOKA, S. et al. (2002): 3rd IRBC Abstracts: 33.
- 5) HAYANO-SAITO, Y. et al. (1998): Theor. Appl. Genet. 96: 1044~1049.
- 6) 小泉信三・藤 晋一 (1995): 愛知農総試研報 27: 85~93.
- 7) 篠田治躬ら (1971): 中国農試報 A 20: 1~25.
- 8) 杉浦直樹ら (2001): 育種学研究 3 (別冊1): 200.
- 9) 鳥山国土ら (1968): 育種 18 (別冊1): 145~146.
- 10) YAMAMOTO, T. et al. (2000): Genetics 154: 885~891.
- 11) YANO, M. et al. (2000): Plant Cell. 12: 2473~2483.
- 12) 柚木利文ら (1970): 中国農試報 E 6: 21~41.
- 13) ZENBAYASHI, K. et al. (2002): Theor. Appl. Genet. 104: 547~552.
- 14) 善林 薫ら (2002): 日植病報 68(2): 178.

年刊資料

## 農薬適用一覧表 2003年版(平成15農薬年度)

農林水産省農薬検査所 監修 B5判 本文867頁  
定価13,650円税込み(本体13,000円) 送料サービス

作物別・病害虫別に適用のある農薬名と商品名が一覧表になった資料です。稲用の種子消毒・箱施用剤、ブームスプレーヤ・常温煙霧および航空機利用(無人ヘリを含む)などに適用のある農薬については別表にまとめました。

お申し込みは直接当協会へ、前金(現金書留・郵便振替)で申し込むか、お近くの書店でお取り寄せ下さい。  
社団法人 日本植物防疫協会 出版情報グループ 〒170-8484 東京都豊島区駒込1-43-11  
郵便振替口座 00110-7-177867 TEL(03)3944-1561(代) FAX(03)3944-2103 メール: order@jppa.or.jp