

イネいもち病抵抗性遺伝子 *pi21* の発見と それを利用した育種

独立行政法人 農業生物資源研究所 ^{ふく}福 ^{おか}岡 ^{しゅう}修 ^{いち}一
愛知県農業総合試験場 ^{さか}坂 ^{のり}紀 ^{くに}邦

はじめに

作物を栽培するうえで最も大きな障害は病虫害である。ある地域に流行する病害の防除に外来の遺伝資源が利用できるようになり、その強力な抵抗性によって遺伝的改良は達成されたかに思われた。しかしながら、その効果は、遅かれ早かれ失われ、長期にわたって効果を示す品種の育成は実現できなかった。本稿では、従来の抵抗性遺伝子とは全く違うタイプの抵抗性遺伝子 *pi21* の発見と育種について述べる。この事例では、原因となる遺伝子の構造を明らかにし、他の劣悪形質にかかわる遺伝子と切り離れた優良な品種の育成へと研究成果が受け継がれており、遺伝子の情報を活かした DNA マーカー育種の初めての成功例といえる (FUKUOKA et al., 2009)。また、マイルドだが持続性のある抵抗性遺伝子の発見は、実用面でも抵抗性の科学的解明においても重要な知見である。

I 異なる種類のいもち病抵抗性

いもち病はかつて飢饉をも引き起こしたイネの深刻な病害で、被害量は年間 10 万トンに及ぶ (農林水産省統計)。したがって、生産の安定化、省農業による低コスト化、環境負荷の低減などの観点から、病気に強い品種 (抵抗性品種) への期待は大きい。

いもち病抵抗性は、1 個の遺伝子がかかわり強力な“真性抵抗性”と、複数の遺伝子がかかわりマイルドな“圃場抵抗性”の 2 種類に区分される (EZUKA, 1972)。真性抵抗性は、特定のいもち病菌にしか効果がないが、イネを病気の感染から防ぐことができる。これまでに、多数の真性抵抗性遺伝子が発見され、通常、「抵抗性」と言えば真性抵抗性を意味する。真性抵抗性を利用した品種が多数開発されてきたが、普及後数年たつと、効果が失われ、真性抵抗性は持続性に問題があることが判明した

(渡辺, 1980)。その原因は、真性抵抗性の抵抗性メカニズムにある。真性抵抗性遺伝子は一般に Nucleotide-Binding Site-Leucine-Rich Repeat (NBS-LRR) と呼ばれる構造を持ち、いもち病菌が分泌する特定の物質を認識し抵抗性を起動させる (図-1)。

特異性が高く、異なるいもち病菌が出す別の物質はおろか、物質の構造が若干変化するだけでも認識性を失う。そのため、進化の早い病原菌を、真性抵抗性だけで克服することは困難であり、そのことは植物の病害に普遍的と考えられる (JONES and DANGEL, 2006)。なお、多系品種 (マルチライン) と呼ばれる複数の真性抵抗性遺伝子を個別に持つ同質遺伝子系統を混植する方法が実用化され (進藤・堀野, 1989)、新潟県では‘コシヒカリ BL’ (BL はいもち病抵抗性系統 “Blast Resistance Lines” の略) として平成 17 年から導入され、減農業栽培を実現している (新潟県, 2008)。この方法では、複数ある真性抵抗性遺伝子のうち一部が効果を示さなくても、大半の発病しない個体が防波堤となり病気の拡散を防ぐことで、圃場全体として被害が大きく軽減される。ただし、複数の同質遺伝子系統を作成し管理しなければならないこと、いもち病菌の動向を観測し、効果のない抵抗性遺伝子の配合比率を下げるなど、抵抗性の維持には手間がかかる。

これに対して、圃場抵抗性は、真性抵抗性とは全く違うタイプの抵抗性である。いもち病菌の感染は許すが、異なる種類のいもち病菌に対して安定した効果を示す (図-1)。特に、日本陸稲品種の持つ圃場抵抗性の効果は、真性抵抗性ほど顕著ではないものの他の品種に比べて大きく、古くより多くの育種家はその解明を目指してきた。しかしながら、複数の遺伝子がかかわるうえに、真性抵抗性のように、様々な菌に対する認識性の違いから互いを区別することができないため、関与する遺伝子を特定することは難しく、効率的な品種改良を行うことはできなかった。

II いもち病圃場抵抗性遺伝子の発見

イネでは 1990 年代に開始されたゲノム研究の進展により、12 本の染色体別に 4 万個以上の遺伝子の配置を

Identification of a Novel Blast Resistance Gene *pi21* and Its Use for Enhancing Durable Resistance. By Shuichi FUKUOKA and Norikuni SAKA

(キーワード: イネ, いもち病抵抗性, 圃場抵抗性, 遺伝子単離, ゲノム育種)

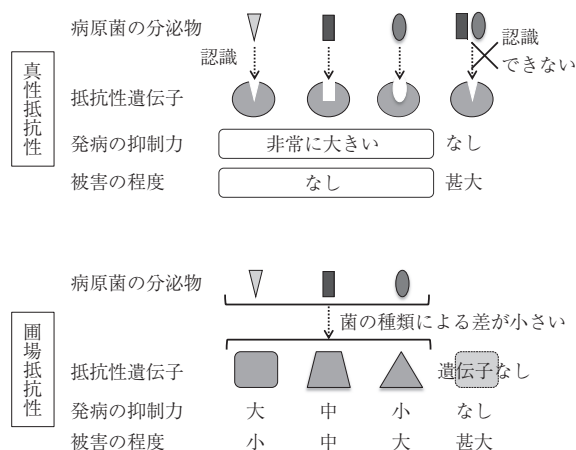


図-1 真性抵抗性と圃場抵抗性の違い

示す遺伝地図が構築され、圃場抵抗性の解明は大きな転機を迎えた。遺伝解析によって、陸稲の圃場抵抗性遺伝子が、この地図上の4箇所にあることを突き止めた(図-2)。その方法は、まず、いもち病抵抗性の日本陸稲と、罹病性の水稻とを掛け合わせ、子孫の代でたくさんの個体を得る。次に、各個体の抵抗性の程度と、遺伝地図上の各部分をどちらの親から受け継いだかを調べる。この作業では、DNA マーカーと呼ばれる道具が活躍する。両親からの受け継ぎ方は個体ごと異なるが、病気に強い個体が共通して陸稲から受け継いだ部分には、抵抗性遺伝子が含まれ、逆に、病気に弱いイネでは、その部分は水稻から受け継いでいる。このような対応関係が成り立つ場所を遺伝地図上で探すことで、抵抗性遺伝子の位置がわかる(図-3)。実際には、複数の抵抗性遺伝子に関係するため、すべての抵抗性遺伝子を引き継いだ場合や、一部だけを引き継いだ場合など条件を考慮しながら解析を行う。こうして見いだした4箇所のうち、第4染色体の中央部には、単独で十分な効果を持つ遺伝子が見つかり、これを *pi21* と命名した。同様の方法で、さらに、数千個体を分析し、遺伝子の存在範囲を大幅に狭めることができた。得られた結果を、ゲノム研究によって得られた配列と遺伝子の位置(IRGSP, 2005; OHYANAGI et al., 2006)を含む遺伝子地図上に示すと、遺伝子 ID: *Os04g0401400* が *pi21* 遺伝子であることがわかる(図-2)。

III *pi21* 遺伝子の構造と機能から見た圃場抵抗性

ゲノム情報から、遺伝子の機能が予想できるのは、一部の遺伝子に限られる。また、研究蓄積のある遺伝子であっても、我々が知らない機能を持つ可能性がある。イ

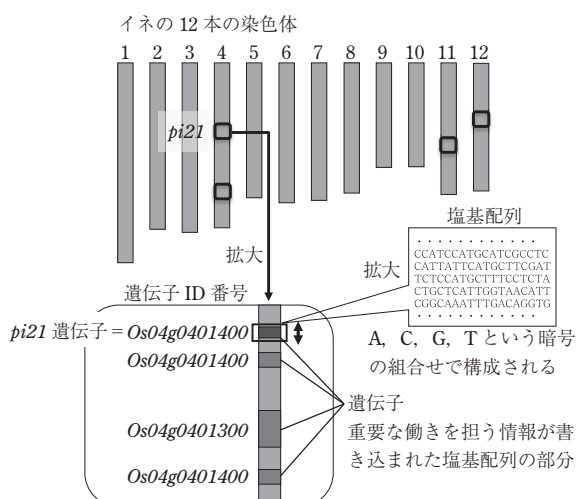


図-2 陸稲の圃場抵抗性遺伝子の遺伝地図上での位置
4箇所を□で表示する。右拡大図中の矢印は、図-3に示す方法で詳細に解析し決定された *pi21* 遺伝子の位置を示し、遺伝子 ID: *Os04g0401400* が *pi21* 遺伝子であることがわかる。

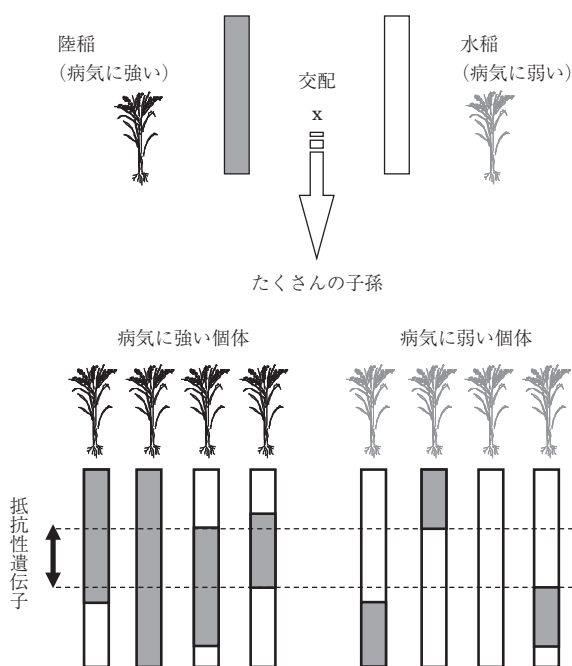


図-3 抵抗性遺伝子の位置を調べる方法

子孫の個体では、両親から遺伝子を部分的に受け継ぎ、遺伝地図上では陸稲由来(灰色)と水稻由来(白)とがモザイク状に混在し、そのパターンは個体ごとに異なる。本図では12本のうち1本の染色体だけを示す。

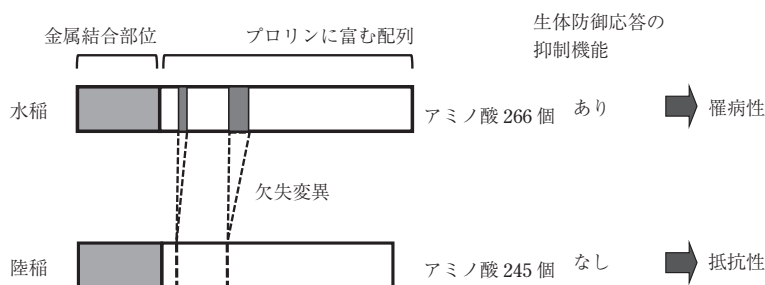
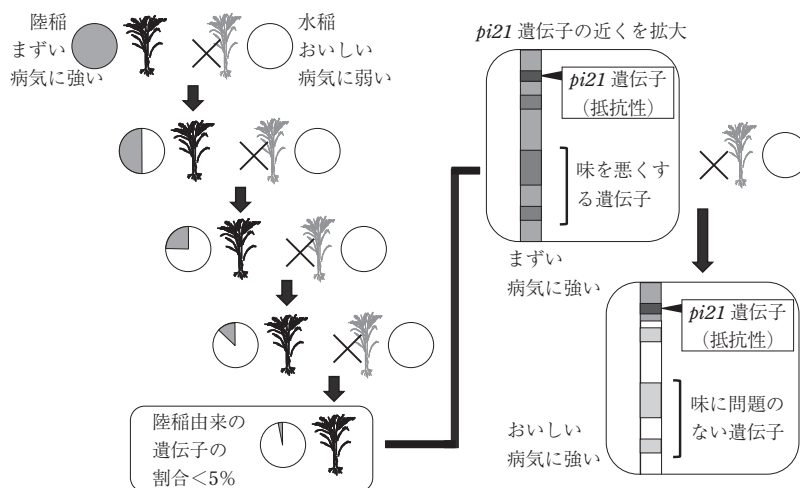
図-4 水稻と陸稻の *Pi21* 遺伝子の構造と機能の違い

図-5 圃場抵抗性遺伝子 *pi21* 遺伝子を持つ良食味水稻品種の育成
 円グラフは陸稻と水稻から受け継ぐ遺伝子の割合を示し、*pi21* 遺伝子近傍の拡大図では、灰色が陸稻、白色が水稻に由来することを示す。

ネには4万個以上の遺伝子があるが、機能について実験的なデータが整っているものはごく一部に過ぎない。そのため、ゲノム研究の発展には、遺伝子がどのような特性に寄与するのかについての地道な実験的なデータの積み上げが欠かせない。遺伝子 ID: *Os04g0401400*, つまり *pi21* 遺伝子は、金属と結合する部位とプロリンというアミノ酸配列に富むユニークな構成であった。真性抵抗性のような NBS-LRR 構造の遺伝子ではないことから、真性抵抗性遺伝子とは全く異なる機能を持つと予想された(図-4)。また、病気に弱い水稻が持つ *pi21* 遺伝子と陸稻が持つ *pi21* 遺伝子とを比較すると、陸稻の *pi21* 遺伝子では、プロリンに富む領域で合計23個のアミノ酸が欠失しており、この領域が抵抗性の違いに重要な役割を果たすものと考えられる。いもち病菌感染時の組織学的観察を行うと、*pi21* 遺伝子は、菌のイネへの侵入を抑制しないが、イネ細胞内での菌糸の進展を抑制

することがわかった。また、形質転換実験によって、水稻が持つ *pi21* 遺伝子には、生体防御応答を抑制する機能があり、その結果、罹病性となっているが、陸稻の *pi21* 遺伝子では、その抑制機能が失われることで抵抗性となることがわかった。植物の生体防御応答は、促進あるいは抑制機能を持つ複数の遺伝子の調節によって、不必要な生体防御応答が起きるのを防ぎ、最適な強度を保っているものと考えられるが、関与する遺伝子の大半は明らかでない。今回の研究によって、それに関与する抑制遺伝子のひとつが同定され、その機能が変化することで、いもち病圃場抵抗性が生み出されることが明らかになった。陸稻の *pi21* 遺伝子は、他の病害抵抗性を強化しないことから、その生体防御応答は、いもち病菌に共通し、他の病原菌にはない物質によって誘導される可能性が高い。また、陸稻の *pi21* 遺伝子による生体防御応答性の変化は、通常の栽培条件でイネの生育には全く

影響しないことから、そこで受ける非生物ストレスで誘導される生体防御応答に対する影響は少ないものと考えられる。*pi21* 遺伝子はイネ以外の植物でもいもち病抵抗性を変化させることから、他の植物種の生体防御応答にもかかわる可能性が示された (NAKAO et al., 2011)。今後、植物の生体防御応答における *pi21* 遺伝子の位置付けについてさらなる解明が進めば、圃場抵抗性の持続性の根拠がより明解な形で説明できるであろう。

IV ゲノム情報を活用した不良形質の除去

pi21 遺伝子を持つ陸稲がいもち病に強いことは、80 年以上も前から育種家の間で知られていた。しかしながら、陸稲と交配して作りたいもち病に強いイネでは食味が悪く、結果的に抵抗性品種の育成につながらなかった。DNA マーカーを用いることによって、陸稲の *pi21* 遺伝子を保持しながら、遺伝子の大半を水稻へと、短時間で確実に置き換えることができた (図-5 左)。ところが、できあがった系統は陸稲から持ち込む遺伝子の割合が5%未満であるにもかかわらず、やはり食味が劣った。5%のほとんどは、*pi21* 遺伝子と一緒に固まりとして持ち込まれており、*pi21* 遺伝子の近くの遺伝子の中に、味を悪くする遺伝子が含まれる可能性が考えられた。このことを検証すべく、良食味品種のコシヒカリと交雑を重ねてつくった6千個体の育種材料について *pi21* 遺伝子周辺の状況を調べた。その結果、*pi21* の数個隣の遺伝子までを陸稲から受け継いだ系統では味が劣り、*pi21* 遺伝子のすぐ隣の遺伝子を水稻から受け継ぐ系統では、食味が改善された。このことから、この数個の遺伝子の中に食味を悪くする遺伝子が含まれることがわかった (図-5 右)。この情報をもとにいもち病に強い良食味品種‘ともほなみ (中部 125 号)’を作り出すことに成功した。食味がよい個体の出現確率は2,000分の1と低く、この情報がない場合には、いもち病抵抗性と食味について、膨大な量の子孫の系統の栽培と特性試験を繰り返さなければならぬ。したがって、今回のケースでは、ゲノム情報を駆使することでのみ問題の解決が可能であったといっても過言ではなく、まさにDNAマーカー選抜育種の真骨頂といえよう。

V いもち病圃場抵抗性育種における展望

‘ともほなみ’は、いもち病の多発地帯でも被害を大きく軽減できる。食味は‘コシヒカリ’並に優れており、収量性も‘コシヒカリ’とほぼ同等との評価を得ている (坂ら, 2012)。*‘ともほなみ’*の収穫時期は‘コシヒカリ’より2日程度早い。全国の‘コシヒカリ’栽培地域を中心に、

いもち病発生地域を含めた広い地域での普及が見込まれる。これによって、いもち病の農薬を減らした良食味米の生産が可能となり、消費者の安全・安心志向に応えることができる。また、‘ともほなみ’の重要性は、これまで困難であった *pi21* 遺伝子の利用を実現した点にある。これを母本とした新たな品種開発も進められており、全国各地で *pi21* 遺伝子を持つ品種が生まれることを期待したい。多くのイネ品種でこの遺伝子を調べたところ、病気に強いタイプの遺伝子は、我が国の陸稲など、ごく一部のイネにしか存在しないこともわかっており、陸稲の *pi21* 遺伝子は、世界中の多くのイネでいもち病抵抗性の改良に役立つ可能性も秘めている。

抵抗性遺伝子の持続性は、他の抵抗性遺伝子の効果がない条件で、大規模の面積で長期間栽培しないと評価できない、との指摘がある。一世紀にわたり安定したいもち病抵抗性を維持する陸稲品種は、複数の抵抗性遺伝子を持っており、‘ともほなみ’の栽培は、*pi21* 遺伝子の真の実力が評価される機会となる。異なる種類のいもち病菌に対して一様の効果を示すうえに、ある程度の感染を許す *pi21* 遺伝子の特性は、“菌の進化を促さない”という持続性を保つうえで重要な要件を満たしており、短期間で効果を失う可能性は低いと考えている。現在、*pi21* 以外の圃場抵抗性遺伝子の解析も進められており、そのような遺伝子の構造と機能が明らかとなれば、イネのいもち病圃場抵抗性が体系的に理解されるようになる。また、*pi21* 遺伝子とそれらを組合せることで、さらに安定性の高いいもち病抵抗性品種が開発も可能となる。

おわりに

マイルドな効果の遺伝子は、その存在自体を知ることさえ難しかった。ゲノム情報は、その正確な位置を知り、それに基づき品種開発をも行うことを実現した。今回の研究は、農業生物資源研究所と愛知県農業総合試験場山間農業研究所が中心となり、石川県立大学、STAFF 研究所、農業・生物系特定産業技術研究機構作物研究所と共同で行い、農林水産省研究プロジェクト (「アグリ・ゲノム研究の総合的な推進」, 「新農業展開ゲノムプロジェクト」) の長期間にわたる支援を受け実現した。関係した多くの方々の努力に対して感謝の念に堪えない。答えがわかってしまうと、当たり前の結末と考えられがちであるが、多くの実験データを緻密に分析し、紆余曲折の後にたどり着いたものであり、研究としては、今後明らかにすべきことも多い。イネの遺伝地図の情報は年々充実しているものの、品質や収量性を含めて育種に必要な情報はいまだ不十分である。育種学研究にかかわるも

のとして、日々進歩する解析技術の後押しを受けながら、地道な解析データを積み上げ、品種改良の新たな突破口を見いだしていきたい。

引用文献

- 1) EZUKA, A. (1972): Rev. Plant Prot. Res. 5: 1 ~ 21.
- 2) FUKUOKA, S. et al. (2009): Science 325: 998 ~ 1001.
- 3) International Rice Genome Sequencing Project (2005): Nature 436: 793 ~ 800.

- 4) JONES, J. D. G. and J. L. DANGEL (2006): Nature 444: 323 ~ 329.
- 5) NAKAO, M. et al. (2011): Sci Rep. 1: 171.
- 6) 新潟県 (2008): <http://www.pref.niigata.lg.jp/nosanengei/1204823747830.html>
- 7) OHYANAGI, H. et al. (2006): Nucleic Acids Res. 34: D741 ~ D744.
- 8) 坂 紀邦ら (2012): 育種学研究 14: 77 ~ 82.
- 9) 進藤敬助・堀野 修 (1989): 東北農試研報 79: 1 ~ 13.
- 10) 渡辺進二 (1980): イネのいもち病と抵抗性育種, 山崎義人・高坂淳爾 編, 博友社, 東京, p. 34 ~ 46.

登録が失効した農薬 (25.2.1 ~ 2.28)

掲載は、**種類名**、登録番号：**商品名**（製造者又は輸入者）登録失効年月日。

「殺虫剤」

- **D-D 剤**
15366: **DC 油剤** (エス・ディー・エス バイオテック) 13/2/18
- **DEP 粉剤**
11333: **ディブテレックス粉剤** (ユービーエルジャパン) 13/2/22
11336: **ホクコーディブテレックス粉剤** (北興化学工業) 13/2/22
11480: **三共ディブテレックス粉剤** (三井化学アグロ) 13/2/27
12413: **サンケイディブテレックス粉剤** (琉球産経) 13/2/27
15796: **ホクコーディブテレックス粉剤 DL** (北興化学工業) 13/2/27
15799: **サンケイディブテレックス粉剤 DL** (サンケイ化学) 13/2/27
- **DEP 乳剤**
3328: **サンケイディブテレックス乳剤** (サンケイ化学) 13/2/27
3340: **日農ディブテレックス乳剤** (日本農薬) 13/2/27
6978: **三共ディブテレックス乳剤** (ホクサン) 13/2/27
11499: **ホクコーディブテレックス乳剤** (北興化学工業) 13/2/27
12414: **サンケイディブテレックス乳剤** (琉球産経) 13/2/27
22686: **ホクサンディブテレックス乳剤** (ホクサン) 13/2/27
- **EPN 乳剤**
6711: **ホクコー EPN 乳剤** (北興化学工業) 13/2/23
- **エトフェンプロックス・DEP 粉剤**
18070: **ボロンク粉剤 DL** (保土谷 UPL) 13/2/27
- **ダイアジノン粒剤**
11772: **ヤシマダイアジノン粒剤 5** (協友アグリ) 13/2/6
11773: **ホクコーダイアジノン粒剤 5** (北興化学工業) 13/1/30

「殺虫殺菌剤」

- **アレスリン・チオファネートメチルエアゾル**
15359: **トップジン MS エアゾル** (日本曹達) 13/2/18

「殺菌剤」

- **EDDP 乳剤**
8561: **ヒノザン乳剤 30** (バイエル クロップサイエンス) 13/2/19
- **トリアジメホン水和剤**
15445: **バイレトン水和剤 25** (バイエル クロップサイエンス) 13/2/28
15476: **バイレトン水和剤 5** (バイエル クロップサイエンス)

13/2/28

- **トリアジメホン乳剤**
15475: **バイレトン乳剤** (バイエル クロップサイエンス) 13/2/28
- **ビテルタノール水和剤**
16303: **バイコラル水和剤** (バイエル クロップサイエンス) 13/2/28
16947: **ホクコーバイコラル水和剤** (北興化学工業) 13/2/28
- **フェンヘキサミド水和剤**
20593: **三共バスタード顆粒水和剤** (ホクサン) 13/2/28
- **ホセチル・ポリカーバメート水和剤**
19980: **ゴーレット水和剤** (ダウ・ケミカル) 13/2/27
19982: **TG ゴーレット水和剤** (東洋グリーン) 13/2/27
- **ポリカーバメート水和剤**
10556: **ビスダイセン水和剤** (ダウ・ケミカル) 13/2/27
22293: **ビスダイセン水和剤** (ダウ・ケミカル) 13/2/27

「除草剤」

- **アシュラム・グルホシネート液剤**
21890: **キングロード液剤** (バイエル クロップサイエンス) 13/2/7
21892: **キングロード L 液剤** (バイエル クロップサイエンス) 13/2/7
- **カルブチレート・テトラピオン粒剤**
21896: **草ぼうず** (住商アグロインターナショナル) 13/2/7
- **グルホシネート液剤**
18057: **ハヤブサ** (バイエル クロップサイエンス) 13/2/18
- **デシルアルコール・ブトルアリン乳剤**
21245: **イエローリボン** (エス・ディー・エス バイオテック) 13/2/25

「誘引・誘殺・交尾阻害剤」

- **ダイアモルア剤**
17212: **コナガコン** (サンケイ化学) 13/2/27

「植物生長調整剤」

- **ジベレリン水溶液**
15897: **ジベレリン明治錠剤** (Meiji Seika ファルマ) 13/2/13

「農薬肥料」

- **ウニコナゾール P 複合肥料**
19913: **くみあいスミコート U 入り複合コープシヨート 35** (コープケミカル) 13/2/10