

イネの葉いもち発病抑制に対する量的抵抗性遺伝子の組合せ効果

—量的抵抗性遺伝子の集積利用を目指して—

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター 安 田 伸 子

はじめに

品種抵抗性を利用した病害防除技術は、食の安全・安心や環境負荷軽減に通じる減農薬を実現し、防除の省力化や低コスト化に貢献するものとして期待されている。イネの重要病害であるいもち病の防除においても、罹病性斑の形成をはほぼ完全に抑制する質的抵抗性遺伝子を持つ品種が利用されてきた。しかし、品種の普及3～4年後には、これを侵すいもち病菌レースが出現し、抵抗性が無効となってきた。近年は、いもち病菌の感染は許すがその増殖を抑制し、広範囲ないもち病菌レースに効果があるとされる量的抵抗性遺伝子の育種利用が進められている。

これまでに、外国のイネや陸稲品種のいもち病抵抗性の遺伝解析が行われ、*pi21* (FUKUOKA et al., 2009), *Pi34* (ZENBAYASHI-SAWATA et al., 2007), *Pi35* (FUKUOKA et al., 2014), *Pi39* (TERASHIMA et al., 2008), *Pi63* (XU et al., 2014) および *Pb1* (HAYASHI et al., 2010) 等の量的抵抗性遺伝子が同定されてきた。量的抵抗性遺伝子を単独で利用すると、冷害年など環境条件によっては発病が増加する。そこで、一つの品種に複数の遺伝子を集積して利用することが望まれるが、集積効果の詳細な研究事例は少ない。

筆者らは、遺伝解析の進んでいる3個の抵抗性遺伝子 *pi21*, *Pi34*, *Pi35* に着目し、遺伝子を単独あるいは2個ずつ保有する‘コシヒカリ’の戻し交雑系統を用いて、葉いもち感染の各段階における発病抑制効果ならびに遺伝子の集積効果を検討した (YASUDA et al., 2015)。

I 量的抵抗性遺伝子の単独保有系統の特徴

量的抵抗性遺伝子 *pi21* は、陸稲品種‘オワリハタモチ’の第4染色体に位置する劣性遺伝子で、量的抵抗性遺伝子としては世界で初めて単離された (FUKUOKA et al.,

2009)。遺伝子がコードしているのは、金属と結合する部位とプロリンというアミノ酸に富む領域が結合しているユニークな構造のタンパク質であることが明らかにされている。*Pi34* は陸稲品種‘戦捷’に由来する優性遺伝子で、第11染色体に座乗することが明らかとなっているが、単離はされていない (ZENBAYASHI-SAWATA et al., 2007)。*Pi35* は、中国のイネ品種‘荔支江’に由来する優性遺伝子で、第1染色体に位置し、Nucleotide-Binding Site-Leucine-Rich Repeat (NBS-LRR) と呼ばれる植物の病害抵抗性遺伝子に多く見られる構造を持っている (NGUYEN et al., 2006; FUKUOKA et al., 2014)。これらの遺伝子をそれぞれ単独で保有するイネ系統にいもち病菌を接種し、いもち病による病斑面積率を比較してみると、‘コシヒカリ’の病斑面積率は60%程度なのに対して、*pi21*, *Pi34*, *Pi35* を単独で保有する系統の病斑面積率は、それぞれ、29%, 52%, 15%で、発病抑制程度は、遺伝子により異なることが明らかとなった (図-1)。いもち病菌の感染過程ごとの遺伝子の効果を感染開始時から順を追って見てみると、どの抵抗性遺伝子も、いもち病菌がイネ細胞に侵入する頻度 (侵入率) には影響を及ぼさ

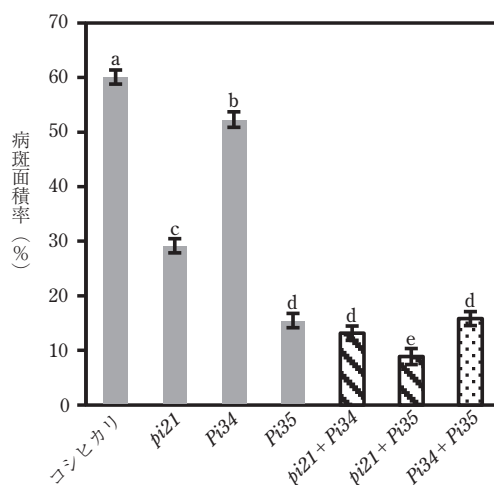


図-1 イネ系統の病斑面積率

斜線バーは集積効果あり、ドットバーは集積効果なし。図中の縦線は標準誤差。アルファベット小文字が異なる場合は有意差あり。5.8葉期のイネに接種。

Gene Combination is the Key to the Effective Control of Blast by Pyramiding Quantitative Resistance Genes of Rice. By Nobuko YASUDA

(キーワード: イネ, いもち病, 量的抵抗性遺伝子, 集積効果)

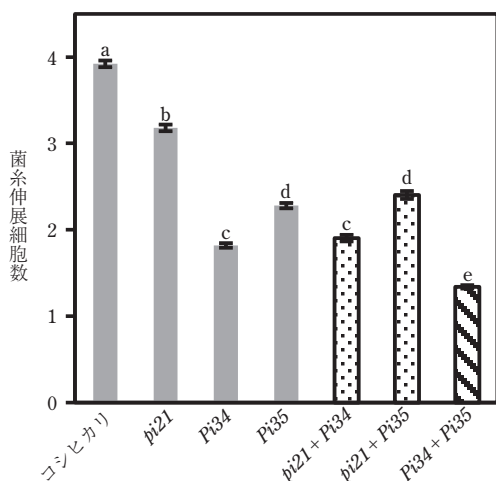


図-2 接種40時間後の菌糸伸展イネ細胞数

斜線バーは集積効果あり, ドットバーは集積効果なし. 図中の縦線は標準誤差. アルファベット小文字が異なる場合は有意差あり. 6.5葉期のイネに接種.

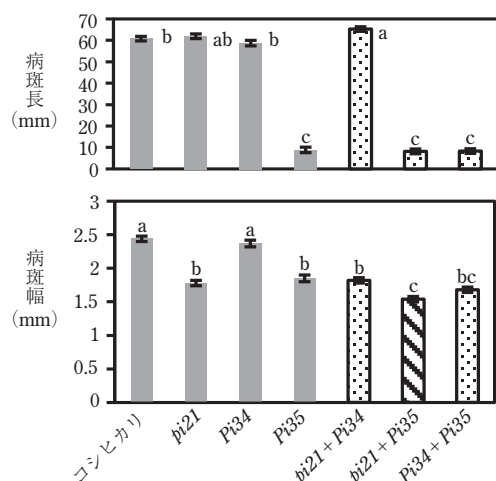


図-4 イネ系統に形成された病斑の大きさ

斜線バーは集積効果あり, ドットバーは集積効果なし. 図中の縦線は標準誤差. アルファベット小文字が異なる場合は有意差あり. 5.5葉期のイネに接種.

ないが, 感染初期 (接種40時間後) の菌糸の伸展程度は, *Pi34* の保有系統が最も短く, 次に *Pi35* の保有系統, *pi21* の保有系統の順であった (図-2)。イネの葉身に形成された病斑の数は, *pi21* を持つ系統で最も少なく, 次に *Pi35* 保有系統, *Pi34* 保有系統の順であった (図-3)。形成された病斑がどのくらいの大きさに伸展するのか, 非切断葉スポット接種 (安田ら, 2014) を行い, 20日後の病斑の長さや幅を調査したところ, *Pi35* 保有系統には, 病斑は長さも幅も短い小さな病斑が形成され

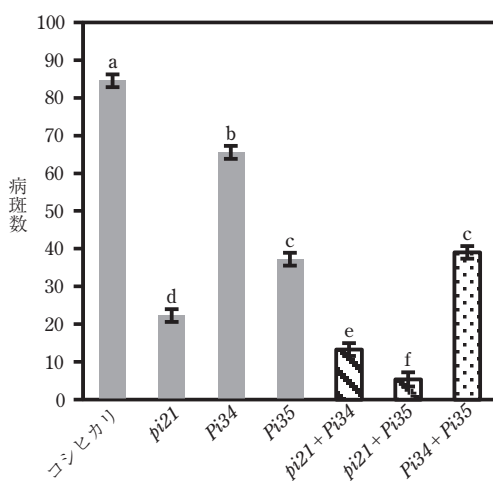


図-3 イネ系統に形成された病斑数

斜線バーは集積効果あり, ドットバーは集積効果なし. 図中の縦線は標準誤差. アルファベット小文字が異なる場合は有意差あり. 5.8葉期のイネに接種.

表-1 量的抵抗性遺伝子保有系統の発病抑制効果

抵抗性遺伝子	感染初期の 菌糸伸展 抑制効果	病斑数 抑制効果	病斑の 大きさ	病斑面積率 抑制効果
<i>pi21</i>	△	◎	↓	○
<i>Pi34</i>	◎	△	↓	△
<i>Pi35</i>	○	○	↓	◎
<i>pi21</i> + <i>Pi34</i>	= <i>Pi34</i>	> <i>pi21</i>	↓	> <i>pi21</i>
<i>pi21</i> + <i>Pi35</i>	= <i>Pi35</i>	> <i>pi21</i>	↓	> <i>Pi35</i>
<i>Pi34</i> + <i>Pi35</i>	> <i>Pi34</i>	= <i>Pi35</i>	↓	= <i>Pi35</i>

たが, *pi21* 保有系統には, 幅は狭いものの長さは‘コシヒカリ’の病斑と同等の細長い病斑が形成された (図-4)。ところが, *Pi34* 保有系統に形成された病斑は, ‘コシヒカリ’の病斑と幅も長さも同等の大きな病斑であった (図-4)。以上の結果から, 抵抗性遺伝子の種類により, 抑制するいもち病の感染過程や抑制程度が異なることが明らかとなった (表-1)。つまり, *pi21* は病斑数と横方向への病斑拡大を強く抑制し, *Pi34* は感染初期の菌糸伸展を強く抑制して, 病斑数をやや抑制した。また, *Pi35* は, 侵入率以外の全過程を強く抑制した。

II 量的抵抗性遺伝子の集積効果

2個の遺伝子を集積した場合, *Pi34* と *Pi35* を集積した系統における感染初期の菌糸伸展程度は, *Pi34* また

は *Pi35* 単独保有系統よりも小さかった (図-2)。また、*pi21* を *Pi34* または *Pi35* と集積したときの病斑数や病斑面積率も、それぞれの遺伝子単独の場合よりも小さく、遺伝子の集積効果が現れた (図-1, 3)。これに対して、*Pi34* と *Pi35* を集積したときの病斑数および病斑面積率は、いずれも *Pi35* 単独の場合と同等であり、集積効果は現れなかった (図-1, 3)。このように、遺伝子の組合せにより、集積効果が現れる場合と、現れない場合があることが明らかとなった (表-1)。つまり、せっかく労力をかけて遺伝子を集積した品種を育成しても、遺伝子の組合せによっては、期待通りの抵抗性を得られない可能性が出てきた。集積効果が現れない場合は、集積した2個の遺伝子のうち抑制効果のより強い方の遺伝子の反応が優先していた。それに対して、*pi21* を他の遺伝子と組合せた場合に集積効果が多く現れた。これは、*pi21* の抵抗性メカニズムが *Pi34* や *Pi35* と異なるためではないかと考えられた。*pi21* は、*Pi35* のように NBS-LRR 構造を持つ多くの抵抗性遺伝子とは異なり、イネ体内でのいもち病菌の伸展に必要な因子 (優性の *Pi21* 遺伝子) が変異したことで抵抗性を発現すると推察されている (NAKAO et al., 2011; 福岡・坂, 2013)。また、抵抗性への関与が知られている植物ホルモンのエチレンやサリチル酸シグナルの量の変化に伴う反応の違いから、*pi21* と *Pi34* の抵抗性は異なるメカニズムによると推察されている (FUKUOKA et al., 2015)。このことから、発病抑制のメカニズムが異なる遺伝子を組合せると、集積効果が得られると考えられた。それでは量的抵抗性遺

伝子の集積効果は、どのようにして生じるのだろうか？それは、量的抵抗性遺伝子が、いもち病菌の伸展を完全には抑制できないことと関係があると思われる。量的抵抗性遺伝子は、遺伝子の種類によって抑制する感染過程と抑制程度に違いがあるが、*pi21* と *Pi34* を組合せた場合などには、組合せた2個の遺伝子のうち、感染過程ごと、イネ組織ごとに、より強い抵抗性を示す遺伝子が異なっている。したがって、2個の遺伝子を集積した場合には、感染過程ごと、イネ組織ごとに、優先する遺伝子が交替するのではないだろうか (図-5)。この交替の結果、2個の遺伝子の間に集積効果が現れると考えている。このため、一つの品種に複数の量的抵抗性遺伝子を集積し、より大きな発病抑制効果を得るには、抵抗性の発現様式が異なる遺伝子の組合せを用いることが重要であると考えられた。

III 量的抵抗性遺伝子の集積と持続性

かつては、量的抵抗性遺伝子は、いもち病菌のレースや菌株によらず等しく効果があり、抵抗性崩壊の危険性がなく、長期間にわたって利用できると考えられてきたが、*Pi34* や *Pi35*, *Pi63* には、これを強く侵す菌株の存在が確認された (ZENBAYASHI-SAWATA et al., 2005; 安田ら, 2008; Xu et al., 2014)。このことから、量的抵抗性遺伝子であっても、抵抗性崩壊の危険性について議論する必要性が生じた。

抵抗性遺伝子の持続性は、その遺伝子を侵害する菌株の出現頻度と、侵害菌が優占化するまでに要する時間に

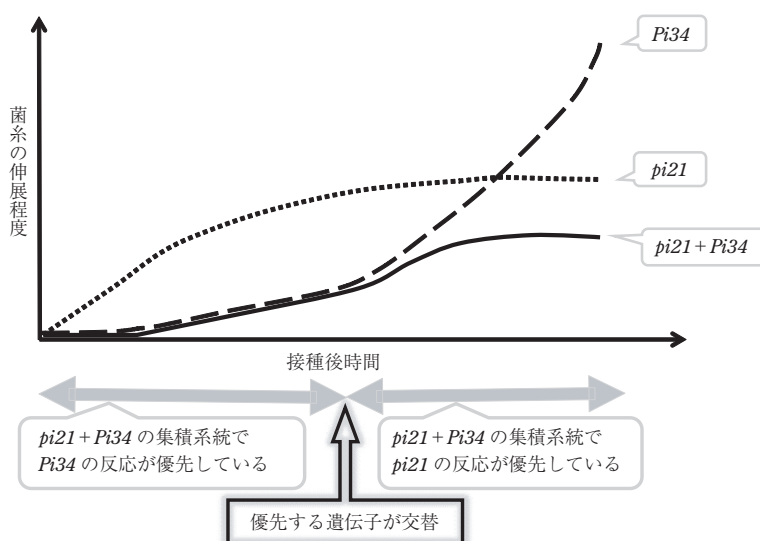


図-5 *pi21 + Pi34* の集積系統において集積効果が現れる理由 (仮説図)

より決定される。*pi21*や*Pb1*等、これまでに侵害菌の存在が確認されていない遺伝子に今後侵害菌が出現しないという根拠は、今のところ見つからない。量的抵抗性遺伝子を持つイネ品種では、質的抵抗性遺伝子と異なり、侵害菌以外でもある程度発病するため、侵害菌が優占化するまでに時間がかかると考えられる。また、*Pb1*は、穂いもちに対して抵抗性を発揮する遺伝子であり、発現期間が限られていることが、侵害菌が生じてその菌が優占化しない理由となっていると推察されている (HAYASHI et al., 2010)。これらの特徴から量的抵抗性遺伝子は、ある程度持続的に利用可能と考えられるが、具体的に何年間利用できるかは、今後の検討課題である。

量的抵抗性遺伝子を集積すると、ある抵抗性遺伝子の侵害菌による発病を別の遺伝子が抑制するため (FUKUOKA et al., 2015)、侵害菌の急激な増殖を抑制することが可能と考えられる。実際、量的抵抗性遺伝子を多く保有しているイネ品種が、長期間にわたって抵抗性を維持し続けたという報告がある (LIU et al., 2009)。しかし、質的抵抗性遺伝子の集積が必ずしも持続性の向上に貢献しなかった例もあることから、いもち病菌の動態研究を通じて、有効な集積の条件を検討する必要がある。本研究において、遺伝子の種類により、抑制するいもち病の感染過程や抑制程度が異なることが示されたことから、量的抵抗性遺伝子のいもち病菌への作用点は多様であると考えられる。このように作用点の異なる遺伝子を集積することは、菌に多面的な制限を課すことになり、侵害菌の出現・増殖を抑制するのに有効だと考えている。

お わ り に

量的抵抗性遺伝子を効果的かつ持続的に活用するためには、単独の遺伝子に頼るのではなく、複数の遺伝子を利用していもち病菌の発病を制御することが必要であり、加えて、異なる特性を持つ遺伝子を適切に組合せることが重要であると考えられる。そのためには、第一に、育種に利用可能な遺伝子の種類を増やす必要があり、さらに多くの遺伝子の解析が求められる。第二に、有効な

遺伝子の組合せを提示するために、各遺伝子の特性を知る必要がある。例えば、イネの白葉枯病抵抗性遺伝子の場合、その分子メカニズムから *xa5* と *Xa27* を集積すると抵抗性が弱まることが予想されていたが、集積系統の育成によりこのことが実証された (Gu et al., 2009)。別の抵抗性遺伝子 *Xa7* は、他の遺伝子では効果が低下する高温域でより強い抵抗性を発揮し、高温期における菌量を制限することから、遺伝子の持続性に貢献すると考えられている (WEBB et al., 2010)。いもち病抵抗性遺伝子についても精力的に研究が進められているものの、量的抵抗性遺伝子については、まだ始まったばかりである。今後は、抵抗性発現の分子メカニズムや環境応答性等も含めて、各遺伝子の詳細な特性を研究することで、効果的な遺伝子の組合せの予測が可能になると考えられる。

本研究は、農林水産省委託プロジェクト「新農業展開ゲノムプロジェクト」の支援を受けて行ったものであり、関係各位に対してこの場を借りて深く感謝申し上げます。

引 用 文 献

- 1) 福岡修一・坂 紀邦 (2013): 植物防疫 **67**: 214 ~ 222.
- 2) FUKUOKA, S. et al. (2009): Science **325**: 998 ~ 1001.
- 3) ——— et al. (2014): Sci. Rep. **4**: 4550. doi: 10.1038/srep04550
- 4) ——— et al. (2015): Sci. Rep. **5**: 7773. doi: 10.1038/srep07773
- 5) Gu, K. et al. (2009): Mol. Plant Pathol. **10** (6): 829 ~ 835.
- 6) HAYASHI, N. et al. (2010): Plant J. **64**: 498 ~ 510.
- 7) LIU, B. et al. (2009): Advances in Genetics, Genomics and Control of Rice Blast Disease, Springer, Netherlands, Dordrecht, p.385 ~ 402.
- 8) NAKAO, M. et al. (2011): Sci. Rep. **1**: 171. doi: 10.1038/srep00171
- 9) NGUYEN, T.T.T. et al. (2006): Theor. Appl. Genet. **113**: 697 ~ 704.
- 10) TERASHIMA, T. et al. (2008): Plant Breed. **127**: 485 ~ 489.
- 11) WEBB, K. M. et al. (2010): New Phytologist **185**: 568 ~ 576.
- 12) Xu, X. et al. (2014): Mol. Breeding doi: 10.1007/s11032-014-0067-6
- 13) 安田伸子ら (2008): 日植病報 **74** (3): 191.
- 14) ———ら (2014): 関東東山病虫研報 **61**: 6 ~ 8.
- 15) YASUDA, N. et al. (2015): Plant Dis. **99**: 904 ~ 909.
- 16) ZENBAYASHI-SAWATA, K. et al. (2005): J. Gen. Plant Pathol. **71**: 395 ~ 401.
- 17) ——— et al. (2007): Phytopathology **97** (5): 598 ~ 602.