

農研機構セミナー

イネいもち病「圃場抵抗性」は本当に持続的なのか？

**～抵抗性に関与する遺伝子の最新知見から
抵抗性の持続的利用戦略について考える～**

講演要旨集

平成25年11月11日（月） 13：00～17：00

つくば国際会議場 中ホール
(茨城県つくば市竹園 2-20-3)

主 催：独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構

本資料から転載、複製、引用する場合は
著者の許可を得てください。

平成25年度 農研機構セミナー

イネいもち病「圃場抵抗性」は本当に持続的なのか？

～抵抗性に関与する遺伝子の最新知見から抵抗性の持続的利用戦略について考える～

〈 目 次 〉

I. 圃場抵抗性遺伝子とそれに対応する非病原力遺伝子の最新知見

- 1) 優性圃場抵抗性遺伝子 *Pi35・Pb1* ～真性抵抗性遺伝子と同じ構造を持ち、量的抵抗性を示す遺伝子～ 1
(独) 農業生物資源研究所 林 長生
- 2) 優性圃場抵抗性遺伝子 *Pi34* ～機能未知の遺伝子を含む *Pi34* 領域の解析～ 3
農研機構東北農業研究センター 善林 薫
- 3) 非病原力遺伝子 *AVR-Pi34・AVR-Pi35* ～圃場抵抗性遺伝子に対応する非病原力遺伝子～ 5
農研機構中央農業総合研究センター 安田 伸子
- 4) 侵害菌の拡散抑制のためのリスク分析～水稻圃場に対する陸稲菌の侵入条件を考える～ 7
農研機構中央農業総合研究センター 鈴木 清樹

II. イネの病害防御機構に対する病原菌の攻撃を回避するタイプの圃場抵抗性

- 1) 劣性圃場抵抗性遺伝子 *pi21* ～育種利用可能な耐病性の負の制御因子～ 9
(独) 農業生物資源研究所 福岡 修一
- 2) 植物病原菌が劣性遺伝子を侵害しない理由を考察する～罹病性遺伝子をつぶす理由は菌にない～ 11
農研機構中央農業総合研究センター 芦澤 武人

III. 圃場抵抗性品種の普及にむけて

- 1) 圃場抵抗性の導入系統・品種について～ 普及事例と解決すべき問題点 ～ 13
愛知県農業総合試験場山間農業研究所 吉田 朋史
- 2) 長野県における抵抗性利用～有機栽培での穂いもち圃場抵抗性品種の導入に向けて～ 16
長野県農業試験場 高松 光生

優性圃場抵抗性遺伝子 *Pi35・Pb1*
～真性抵抗性遺伝子と同じ構造を持ち、量的抵抗性を示す遺伝子～

林 長生
(独) 農業生物資源研究所

いもち病抵抗性の強化は我が国のイネ育種の大きな目標であり、外国稲から導入された主働遺伝子による質的抵抗性である真性抵抗性、および陸稲や在来種等から導入された微動遺伝子やポリジーンによる量的抵抗性である圃場抵抗性が利用されてきた。真性抵抗性は強度の抵抗性であるが、単独または数個の抵抗性遺伝子を持つ品種は、普及数年で抵抗性遺伝子を侵すいもち病菌レースが発生し、罹病化することが多く安定性が問題とされた。これに対し、圃場抵抗性は作用力は真性抵抗性より小さいが、広範囲ないもち病菌の系統に抵抗性であり崩壊が起こりにくいとされ、利用が進められてきた。しかし、従来育種で複数の圃場抵抗性遺伝子を導入・集積し実用品種を育成するには、長い年月を要した。近年、イネゲノム塩基配列の整備により、10 年余りの間に 15 個以上のイネいもち病抵抗性遺伝子が単離された。そのほとんどが nucleotide-binding site と leucine-rich repeat (NBS-LRR) の共通した構造を持つ。

Pi35(t)

Pi35(t) は葉いもちに対する優性圃場抵抗性遺伝子として「北海 188 号」に見出され、QTL 解析により第 1 染色体の SSR マーカー RM1216 近傍にマッピングされた (Nguyen *et al.*, 2006)。*Pi35(t)* の遺伝子単離は現在進められているが、同領域には *Pi35(t)* と密接に連鎖かアレルの関係にある *Pi37* と *Pish* が既に単離されている。*Pi37* は中国産菌株 CHL1159 に対する抵抗性遺伝子として「St No. 1」から、*Pish* は九 77-07A 菌株に対する抵抗性遺伝子として「日本晴」から各々単離された (Lin *et al.*, 2007, Takahashi *et al.*, 2010)。両遺伝子は 4 個の NBS-LRR 遺伝子からなるクラスター内に位置し、*Pi37* は 3 番目、*Pish* は 4 番目の NBS-LRR 遺伝子になる。*Pish* が含まれる遺伝子クラスターの解析から、祖先型 NBS-LRR 遺伝子が複数回の重複と乗換えを起こした結果、4 個の NBS-LRR 遺伝子が生成したことが示された (Takahashi *et al.*, 2010)。*Pi35(t)* が座乗する領域の遺伝子クラスターは、6 個の NBS-LRR 遺伝子がクラスターを形成する *Pi9* 領域の状況に近いと推定される。従って *Pi35(t)* の持続性については、*Pi9* の知見が参考になると考えられる。

Pb1

品種の葉いもちに対する圃場抵抗性と穂いもちに対する圃場抵抗性とは並行的と考えられてきたが、中には葉いもちに弱いが穂いもちに強い農林 6 号と葉いもちに強いが穂いもちに弱い農林 8 号など逆転する例が知られている。しかし、これまでに穂いもち抵抗性遺伝子として同定されたものはない。愛知県農業総合試験場（愛知農総試）では、1960 年代から多発したイネ縞葉枯病 (RSV) に対する抵抗性育種が精力的に取り組まれてきた。RSV に対する抵抗性の遺伝資源には、中国農業試験場がインドのインディカ品種「Modan」に日本型品種「農林 8 号」を 5 回戻し交雑して育成した RSV 中間母本系統、「St No. 1」が用いられた。「月の光」は 1980 年代後半の RSV の大発生時に導入され、劇的な効果を上げた。

また、この時「月の光」や2年後に育成された「朝の光」はRSV抵抗性だけでなく穂いもち抵抗性を持つことが報告された。その後、1999年に藤井らによりこの穂いもち抵抗性は第11番染色体長腕に同定され、*Pb1*(Panicle blast resistance-1)と命名された。RSV抵抗性遺伝子と*Pb1*遺伝子は遺伝距離5.8センチモルガンで両遺伝子は連鎖関係にあった。

Pb1 遺伝子をもつ品種の特長として、次の4点が上げられる。1) 高度な穂いもち圃場抵抗性；品種による変動はあるが、葉いもち抵抗性は「やや強」～「中」に対し、穂いもち抵抗性は「極強」～「やや強」である。2) 成体抵抗性；イネの生育に従い穂いもち病罹病率が低くなり、さらに出穂直前や出穂後に最も低くなる、つまり生育に従って抵抗性が高まる。3) 優性の主働遺伝子；これまで圃場抵抗性は、ポリジーン支配とされていたが、*Pb1*は真性抵抗性遺伝子と同様に優性の主働遺伝子である。従って品種への導入が容易である。4) 長期安定性；普及品種が育成された後、30年余りが経過したが、穂いもち抵抗性は崩壊していない。

Pb1 遺伝子の単離は、遺伝子地図を作成し、その領域を狭めて目的の遺伝子を特定するマップベースクローニング法を用いた。穂いもち抵抗性検定は、愛知農総試山間農業研究所の穂いもち検定圃場で実施した。組換え系統のDNAマーカー選抜と穂いもち抵抗性検定を繰り返し、*Pb1* 遺伝子候補領域を25.8kbに絞り込み、*Pb1* 遺伝子を持たない「農林8号」に候補遺伝子を導入し、穂いもち抵抗性を示すかどうかを確認し、穂いもち抵抗性の原因遺伝子が単離された(Hayashi *et al.*, 2010)。*Pb1*は塩基数3,897、アミノ酸数1,296でイントロンはなかった。*Pb1* 遺伝子はこれまで単離された*Pib*、*Pita*など真性抵抗性遺伝子と基本的に同様なCC-NBS-LRR型の構造であった。さらに、*Pb1* 遺伝子を含む約60kbのゲノム領域は2回繰り返された反復配列(重複)を形成し、*Pb1* 遺伝子は、2番目の60kb配列の先頭に存在していることがわかった。*Pb1* 遺伝子の上流の配列を解析した結果、進化の過程におけるゲノム領域の重複により、それまで“眠っていた”*Pb1* 遺伝子が新規のプロモーター配列を獲得して目覚め(発現するようになり)、抵抗性遺伝子として機能するようになったことがわかった。

遺伝子構造の比較

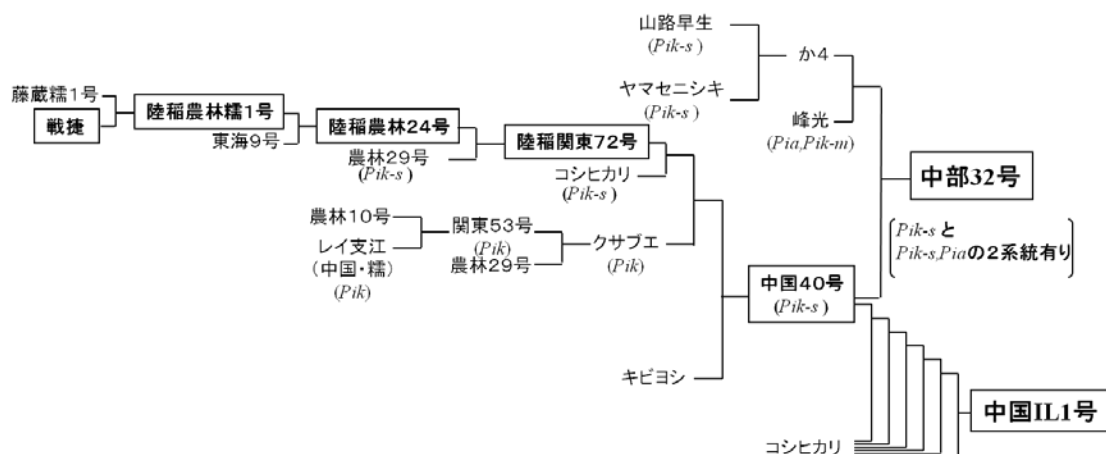
*Pi35(t)*と*Pb1*は同じCC-NBS-LRR構造をもつ。しかし、詳細に調べると*Pb1*はP-loopなど活性に関わる部位の欠如があり、明らかに異なる特徴も有していた。これらの特徴的な構造が*Pb1* 遺伝子の特長のひとつである抵抗性の安定性に関与しているかもしれない。

遺伝子の機能から推定される*Pb1*の持続性

これまでに得られた知見から*Pb1*による抵抗性の持続性について、その一部が説明されたと考えられる。1) 遺伝子発現から説明 *Pb1* 遺伝子は特定の生育時期でのみ強く発現するため、いもち病菌に対する選択圧の総量が比較的少なく、病原性変異菌の優占化による抵抗性の崩壊が起こりにくい。2) *Pb1* 遺伝子から作られる*Pb1*タンパク質が、イネの病害抵抗性誘導において主要な役割を担うWRKY45タンパク質と結合し、WRKY45タンパク質の分解が抑えられ、その結果WRKY45タンパク質が機能して抵抗性反応が誘導され、いもち病抵抗性を示す。

善林 薫
農研機構東北農業研究センター

*Pi34*は、愛知県で育成された系統「中部 32 号」が保有する陸稲品種「戦捷」に由来するいもち病圃場抵抗性遺伝子である（図 1）。「戦捷」にはいもち病圃場抵抗性 QTL が 4 座あり（坂ら、2004）、そのうち 11 番染色体の QTL が *Pi34* であると考えられる（Zenbayashi et al, 2002）。このほか、*Pi34* 保有系統には、イネ縞葉枯抵抗性遺伝子 *Stvb* とともに *Pi34* をコシヒカリに導入して育成された「中国 IL1 号」がある。



Pi34 の座乗領域と候補遺伝子

— 3 —

Pi34 保有系統のいもち病菌に対する感染応答

Pi34 保有系統の葉身に親和性のいもち病菌を接種すると、感受性品種コシヒカリと比較して罹病性の病斑数が減少し、褐点も生じる。これは真性抵抗性遺伝子 *Pizt* のように、褐点を生じない抵抗性反応とは異なる。また、感染応答の指標としてよく用いられる活性酸素種 (ROS) について、接種した葉身細胞における生成蓄積を観察すると、接種 24 時間後では、*Pi34*、*Pizt* とともに細胞単位で明瞭な ROS 蓄積が見られる被侵入細胞の割合がコシヒカリよりも多い。一方、接種 48 時間後には、*Pizt* では ROS 蓄積は被侵入細胞と隣接細胞に限られているのに対し、*Pi34* とコシヒカリでは ROS 蓄積が比較的広範囲であった (鬼頭ら、2013)。このように、感染初期から菌糸伸展に至る課程での *Pi34* と真性抵抗性遺伝子との細胞反応の差が明らかにされつつある。今後、この違いが最終的な表現型の違いにどう関係するのかについて、解析を進める予定である。

おわりに

いもち病圃場抵抗性遺伝子 *Pi34* の機能については未だ不明である。しかし、本遺伝子保有系統を特異的に強く侵すいもち病菌が陸稲から分離されていること、一方で「中部 32 号」の育成地である愛知県農業総合試験場山間農業研究所では、長年これらの系統を栽培しているが未だ抵抗性の低下が見られていないことから、*Pi34* は遺伝子レベルでの感染応答解析だけでなく、圃場抵抗性の持続性を解析する材料として貴重であると考えている。

引用文献

Zenbayashi et al. (2002) Mapping of the QTL conferring partial resistance to leaf blast in rice cultivar Chubu32. *Thor Appl Genet* 104:547-552.

坂ら (2004) 陸稲「戦捷」のいもち病圃場抵抗性 QTL 領域の作用力. 平成 16 年度研究成果情報.

鬼頭ら (2013) いもち病圃場抵抗性遺伝子 *Pi34* の単離および感染初期応答における真性抵抗性との比較. *日植病報* 79:179.

非病原力遺伝子 *AVR*Pi*34*・*AVR*Pi*35* ～圃場抵抗性遺伝子に対応する非病原力遺伝子～

安田 伸子

農研機構中央農業総合研究センター

いもち病に対する真性抵抗性遺伝子を導入したイネ品種では、いもち病菌の侵入・伸展が阻止され、病斑はほとんど形成されないか、小さな病斑ができては拡大しない高度な抵抗性が発揮される。しかし、普及3～4年後には、真性抵抗性遺伝子を導入したイネ品種を侵すことのできる病原性のいもち病菌が出現・蔓延し、真性抵抗性が崩壊する現象が起きるため、持続性が問題となっている。

いもち病菌の病原性とイネの抵抗性の間には、遺伝子対遺伝子説が成立すると考えられている。この説によると、いもち病菌には、イネ品種の持つ抵抗性遺伝子に対応する非病原力遺伝子（エフェクター遺伝子※）が存在し、抵抗性遺伝子の種類と非病原力遺伝子（エフェクター遺伝子）の種類の組み合わせにより、感染が成立するかどうかが決まる。従って、新たな真性抵抗性遺伝子を導入したイネ品種を罹病させる病原性のいもち病菌の出現は、新たな真性抵抗性遺伝子に対応する非病原力遺伝子（エフェクター遺伝子）の変異によるものと考えられる。非病原力遺伝子（エフェクター遺伝子）は、かつて非病原性遺伝子と呼ばれていたが、細菌病や他の糸状菌病での機能解明の結果、対応する抵抗性遺伝子が存在しない場合には、病原菌の病原力に関与する機能を持つことが多いため、現在では、非病原力遺伝子（エフェクター遺伝子）という用語が一般に使われる。

抵抗性が崩壊する危険性がある真性抵抗性遺伝子を持つイネ品種に対して、圃場抵抗性遺伝子を持つイネ品種は、いもち病菌の侵入は許すものの、病斑の伸長や孢子形成を抑制することにより、結果として、圃場での病気の蔓延速度を抑制するなど、比較的効果の弱い抵抗性を示し、菌株によらず等しく効果があり、抵抗性が崩壊する心配が無いと考えられてきた。

しかし、近年、圃場抵抗性遺伝子 *Pi34* や *Pi35* を持つイネ品種を強く侵す菌株の存在が確認された。*Pi34* を持つイネ品種を強く侵す菌株と侵さない菌株を交配した F1 菌株を用いて遺伝解析をした結果、*Pi34* を持つイネ品種を強く侵す形質は、いもち病菌の1個の遺伝子座により支配されていることが示された。また、*Pi35* を持つイネ品種を強く侵す菌株の解析でも、同様の結果が得られ、抵抗性遺伝子に対応する個々の非病原力遺伝子 *AVR*Pi*34*、*AVR*Pi*35* が存在する可能性が示唆された。これにより、圃場抵抗性遺伝子を持つイネ品種であっても、崩壊の危険性について検討する必要性が出てきたと考えている。

植物の抵抗性遺伝子がどのように非病原力遺伝子を認識しているのかについては、これまで精力的に研究されており、リガンド・レセプターモデルとガードモデルの大きく分けて2種類のモデルが提唱されている。リガンド・レセプターモデルは、非病原力遺伝子の産物を受容体である抵抗性遺伝子の産物が直接認識して抵抗性を発現するというモデルで、アマのさび病の非病原力遺伝子 *AvrL567* とこれに対応する抵抗性遺伝子 *L5*、*L6*、*L7* や、シロイヌナズナの抵抗性遺伝子 *RRS1-R* と植物病原細菌 *Ralstonia solanacearum* の *PopP2* 遺伝子の関係において、提唱されている。もう一方のガードモデルでは、抵抗性遺伝子産物は、植物自身の特定のタンパク質をモニターしており、このタンパク質が非病原力遺伝

子の働きにより変化した場合に、この変化を認識して抵抗性を発現する。例えば、シロイヌナズナの抵抗性遺伝子 *RPM1* や *RPS2* は、自身の RIN4 というタンパク質をモニターしており、植物病原細菌 *Pseudomonas syringae* の遺伝子 *AvrRpm1* や *AvrB*、あるいは *AvrRpt2* の作用により、RIN4 がリン酸化されたり切断されたりするのを認識して、抵抗性を発現させる。

イネのいもち病抵抗性遺伝子の場合、*Pita*、*Pik (k-m)*、*Pia* は、リガンドーレセプターモデルに従い、*Piz-t* と *Pii* は、ガードモデルに従う可能性が提示されている。*Pita* や *Piz-t* として 1 個の NB-LRR クラスに分類される遺伝子が単離されているが、*Pik (k-m)* や *Pia*、*Pii* は、2 個の NB-LRR クラスに分類される遺伝子のセットによって構成されている。また、抵抗性遺伝子 *Pi33* に対する非病原力遺伝子 *ACE1* は、polyketide synthase と nonribosomal peptide synthetase が結合したようなタンパク質をコードしており、それ自身が抵抗性遺伝子に認識されるというよりは、むしろ、この遺伝子の働きによって生成された 2 次代謝産物がイネに認識されることで、抵抗性が発現されるのではないかと考えられている。

このように、イネがいもち病菌を認識する機構は、当初予想していたより遙かに多様であることが明らかとなってきた。このような多様な機構が存在するのであれば、病原性変異菌の出現を許すかどうか、どの程度許すのかは、その個々の機構によって異なるのではないかと考えている。抵抗性遺伝子の持続的利用を図るなら、従来の真性抵抗性、圃場抵抗性という分類に基づき持続性を議論するのではなく、メカニズムに基づいて分類する術を模索すべきステージに移行しつつあるのではないか。抵抗性遺伝子がいもち病菌を認識するメカニズム、抵抗性発現の結果いもち病菌の侵入・伸展等を抑制するメカニズム、いもち病菌が非病原力遺伝子を変異させるメカニズムなど、詳細を明らかにすることによって、持続的に利用可能な遺伝子がどのような遺伝子であるかを解明し、その持続的な利用法を考案する必要があると考えている。

※エフェクター遺伝子

病原菌が生産するタンパク質や低分子化合物で、宿主（この場合は植物）の細胞構造や細胞の機能を変化させる働きを持つものをエフェクターと呼ぶ。植物病原菌は、感染時に様々なエフェクターを植物細胞内に分泌することにより、基礎的抵抗性などの植物の機能を攪乱させ、感染を成立させる。しかし、ある種のエフェクターは、植物の抵抗性遺伝子により直接、あるいは間接的に認識されてしまう。この場合、植物が抵抗性を発現することにより、感染は失敗に終わる。このように、抵抗性を誘導し、感染失敗の原因となったエフェクターをコードする遺伝子のことを非病原力遺伝子と呼ぶ。つまり、非病原力遺伝子は、ある種のエフェクター遺伝子のことである。

侵害菌の拡散抑制のためのリスク分析 ～水稲圃場に対する陸稲菌の侵入条件を考える～

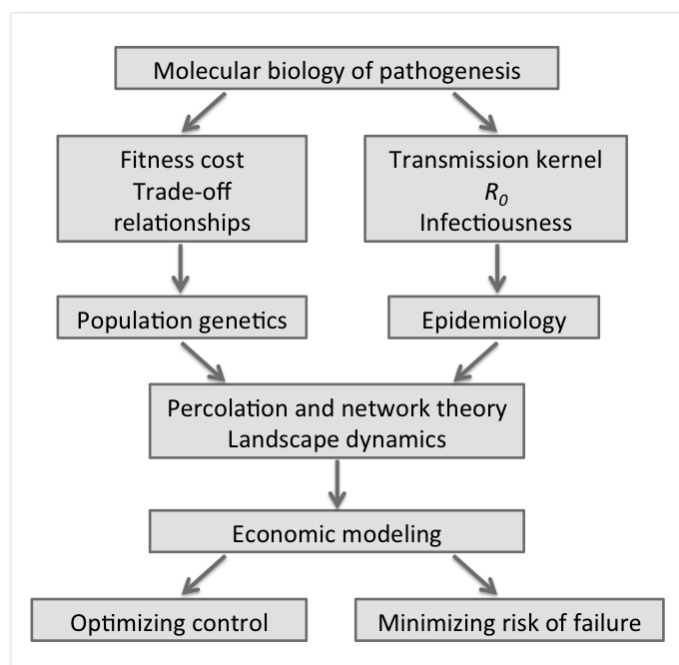
鈴木清樹

(独) 農研機構 中央総合農業研究センター

圃場抵抗性に限らず、植物の病害に対する防除手段を持続的に利用するためには、その作用機序の詳細を明らかにするだけでなく、有効な施用法の策定とその明確な評価基準が必要となる。しかしながら、作物の抵抗性崩壊や薬剤耐性菌出現に関する理論的な学説や、実証研究における知見の蓄積は非常に乏しく、殊に進化生態や疫学的な側面については依然として発展途上の段階にあると言える。そもそも我々が折り込まなければならないファンダメンタルズとは何なのか？まずは多角的にリスク要因を洗い出す作業を経て、関連する疫学的な要素の絞り込みが重要である。

本講演では、1) イネいもち病菌の拡散抑制に圃場抵抗性がどのように寄与し得るのか？ 2) 圃場抵抗性の導入が十分に機能している水稲栽培において、その現状を脅かすリスク要因はどのようなものか？この2点を踏まえ、イネいもち病の圃場抵抗性における侵害菌の蔓延に対するリスク評価項目の策定のための、包括的な議論の土台を提供したい。

[資料 1]

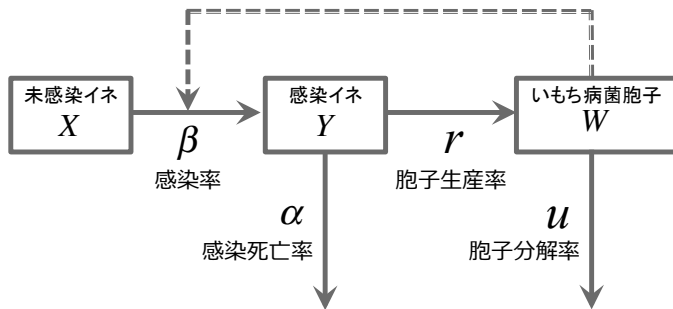


病害防除戦略における意思決定には、非常に多くの考慮すべき要因がある。左図はGilligan(2008)が提唱する持続的な病害防除における一般的なスキームであり、分子生物学的な知見から集団遺伝学および疫学的な解析を経て、空間生態学、そして経済学的な評価へと繋がっている。本講演では、フィットネスコストとトレードオフの関係、基本増殖率(R_0)を起点とした疫学パラメータの構成成分、空間的異質性(spatial heterogeneity)が感染拡大に与える効果を考察する。

Gilligan, C.A. (2008). Sustainable agriculture and plant disease: an epidemiological perspective. *Philos. Trans. R. Soc. B-Biol. Sci.* 363(1492):741–759

[資料 2]

いもち病菌胞子の自由生活を考慮した疫学モデルを構築し、イネの感染個体の侵入条件を起点とした疫学パラメータの構成成分およびメタパラメータ化の一例を以下に示した。



病原体の自由生活を拡張した単純な SIR モデルの場合、感染個体の侵入

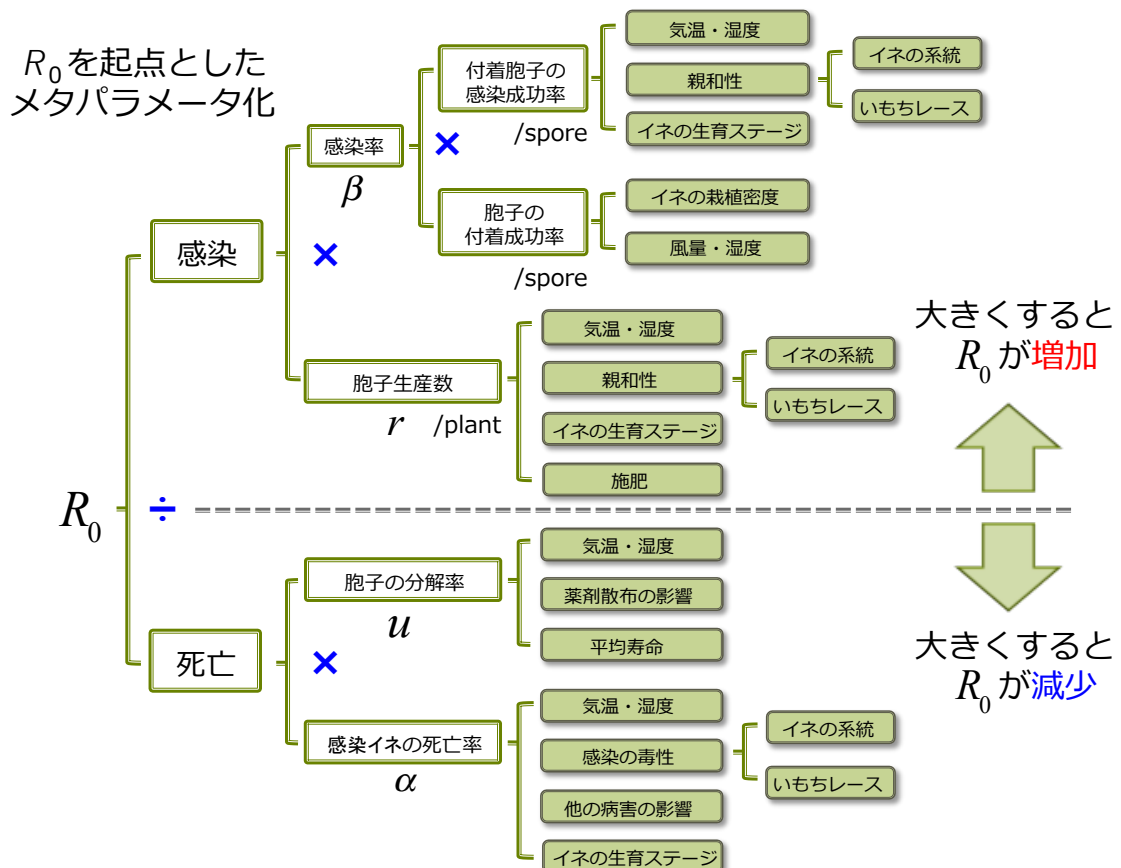
条件は $\frac{r \beta}{\alpha u} > 1$ であり、感染イネ 1

個体から生産される胞子数 r/α と 1 胞子が生み出す感染イネ数 β/u の積となっている。この侵入条件は、一般に感染個体の基本増殖率

$R_0 > 1$ の条件と同じであり、 R_0 が

1 を超えると未感染イネ集団中に感染個体が増加する環境が整う。下図は R_0 を構成する疫学パラメータを感染とその変動要因をチャートにまとめたものであり、点線より上部の感染プロセスに関する成分の寄与が大きいと悪材料(小さいと好材料)、逆に下部の死亡プロセスに関する成分の寄与が大きい場合は好材料(小さいと悪材料)となる。

また、ここに示した R_0 の構成成分以外にも、感染イネや胞子の越冬率や感染開始時刻等、種子流通網や圃場間の空間配置、品種の作付け割合などが感染動態に大きく影響する。



劣性圃場抵抗性遺伝子 *pi2l*
～育種利用可能な耐病性の負の制御因子～
福岡 修一
(独) 農業生物資源研究所

いもち病はイネの深刻な病害であり、抵抗性品種の育成が長年行われてきたが、品種育成と新たな病原菌レースの広がりとの競争であった。これまでに 80 種類以上のいもち病抵抗性遺伝子が見出されているが、その大半は優性抵抗性遺伝子であり、劣性抵抗性遺伝子は *pi2l* と近年報告された *pi55(t)* に限られる。オオムギうどん粉病抵抗性遺伝子 *mlo*、イネ白葉枯病抵抗性遺伝子 *xa5*、*xa13* など、他の病虫害抵抗性遺伝子を含めても劣性遺伝子が抵抗性を付与する例は少ない。抵抗性遺伝子を作用力で分類すると、これまでの研究は、質的応答を示す遺伝子が対象とされ、強力な防御応答を起動させる仕組みを解明するものであった。一方、量的な応答を示す抵抗性は、病原菌レースが変動しても安定した効果を示すとされるが、遺伝子を同定し、特性を解明することは難しい。したがって、劣性、かつ量的な抵抗性を示す *pi2l* 遺伝子の研究は、いもち病抵抗性の新たな側面を明らかにし、画期的な抵抗性品種に役立つものとするものと期待される。

pi2l 遺伝子は、日本陸稲品種「オワリハタモチ」のいもち病圃場抵抗性を支配する主要な QTL として見出された。遺伝子の配列比較や遺伝解析から、この遺伝子は大半の日本陸稲品種が持つことがわかっている。*pi2l* 遺伝子はいもち病の感染自体を防がないものの、植物細胞内での菌糸の進展を抑え、実用的なレベルの抵抗性を付与する。我が国に分布する様々ないもち病菌レースに対する効果に差がないことから、*pi2l* 遺伝子はいもち病菌の集団構成を急激に変化させる要因とはならず、持続性が担保されるものと考えられる。

pi2l 遺伝子は、金属結合部位とプロリンに富むアミノ酸配列をコードし、耐病性を負に制御する。つまり、水稻品種がもつ機能型の対立遺伝子 (*Pi2l*) は、植物細胞内で菌糸の進展を促進する罹病性遺伝子であり、日本陸稲の対立遺伝子 (*pi2l*) では、その機能が低下することで抵抗性となる。*pi2l* 遺伝子の分子レベルの知見は、「罹病性遺伝子は本来、植物の生育に必須の遺伝子であり、病原菌はこれを利用して植物体内での寄生性を高めた」というシナリオを裏付ける。アジア栽培イネ (*Oryza sativa* L.) に見られる *pi2l* 遺伝子の DNA 変異は、重要な機能を担うと考えられる金属結合部位にはない。3 カ所あるタンパク-タンパク相互作用にかかわるプロリンリッチモチーフのコード領域のうちの 1 カ所には変異がなく、種内変異の分布は、日本陸稲と同じ 2 カ所に限られる。また、この遺伝子の発現を抑制する形質転換体では弱勢個体の出現頻度が高かった。これらのことから、日本陸稲の *pi2l* 遺伝子は、植物に必要な機能を保持し、菌糸の進展を抑制する能力を獲得したものと考えられる。

pi2l 遺伝子による抵抗性は、植物細胞への菌の侵入を抑制せず、感染初期の細胞応答は典型的な罹病反応に似る。しかし、葉鞘裏面に接種した場合、*pi2l* 遺伝子を持つ植物では、接種後数日後に多くの感染細胞で防御応答が起こり、圃場検定では、葉の表面に多数の褐点状の病徴が認められる。また、接種直後の防御応答関連遺伝子の応答性が高いことも *pi2l* 遺伝子による抵抗性の特徴である。この現象はエリシター液のみの接種でも再現できた。持続性の高い遺伝子として知られる *mlo* 遺伝子は、菌の侵入抑制や細胞骨格の再構成による防御応答などの複数のメカニズムに関与しており、*pi2l* 遺伝子も感染後の菌糸の進

展を抑制するだけでなく、エリシター誘導性の防御応答性にも関与することは興味深い。耐病性のシグナル伝達系を制御する *WRKY45* や *BSR1* 遺伝子の過剰発現体は、いもち病菌だけではなく、白葉枯病など他の病害にも効果がある。これに対して、*pi2l* 遺伝子は白葉枯病や紋枯病には効果がないことから、耐病性のシグナル伝達系を直接制御する因子ではない可能性が高い。

劣性抵抗性遺伝子はヘテロの状態では抵抗性を発現しないため、表現型による選抜ができない。また、*pi2l* 遺伝子を保有する日本陸稲品種はコメの食味や品質、栽培特性が悪く、長年、陸稲品種を用いたいもち病抵抗性の改良は困難であった。*pi2l* 遺伝子が単離・同定されたことによって、日本陸稲の *pi2l* 遺伝子と密接に連鎖する食味を低下させる遺伝子を排除することに成功し、食味が良くいもち病抵抗性の品種「ともほなみ（中部 125 号）」が育成された。この研究から、*pi2l* 遺伝子には、耐病性を負に制御する遺伝子の利用に付随する、種子稔性の低下や植物体が小さくなるなどの実用上問題となる特性を伴わないことが確認された。

植物と微生物は長年にわたる攻防の過程で、耐病性あるいは病原性に関わる複雑なしくみを構築してきた。これまでに単離された質的な優性抵抗性遺伝子の大半は nucleotide binding site-leucine-rich repeat (NBS-LRR) やレセプター様キナーゼ遺伝子など、感染の成否を決定する、植物 - 微生物相互作用の最前線を防衛するタイプの抵抗性であった。これに対して、量的な劣性抵抗性遺伝子である *pi2l* は、エリシター誘導性の防御応答から、感染後の菌糸の進展抑制という、前線から後方までの幅広い事象に関与することが明らかとなり、質的抵抗性に比べて作用力が小さいことも含めて、持続性に貢献するものと考えられる。日本陸稲を含め、持続性が確認されている品種は、複数の抵抗性遺伝子を持っている。したがって、*pi2l* 遺伝子単独での持続性を検証するためには、*pi2l* のみを保有する「ともほなみ」、あるいは、これを母本として育成される品種における菌のレース変動を調査する必要がある。また、いもち病の激発地において安定した効果を維持するためには、*pi2l* 遺伝子を他の圃場抵抗性遺伝子と組み合わせて使用することが望ましいと考えられ、*pi2l* 遺伝子と相性のよい遺伝子を探すことが必要である。現在、コシヒカリを遺伝背景として、複数の圃場抵抗性遺伝子を組み合わせた系統のシリーズを作出し、評価を進めている。

以上の研究は、農林水産省委託プロジェクト研究（「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」、「気候変動に対応した循環型食料生産等のための技術開発」）の支援を受け実施した。

植物病原菌が劣性遺伝子を侵害しない理由を考察する ～罹病性遺伝子をつぶす理由は菌にない～

芦澤 武人

農研機構中央農業総合研究センター

真性抵抗性と圃場抵抗性は、圃場で観察された植物病害の発生の有無と抑制程度を分類するために使われてきた用語である。近年、個々の真性・圃場抵抗性遺伝子の種類や構造が明らかになるにつれて、植物の抵抗性遺伝子の産物と菌の非病原力遺伝子の産物（エフェクター）との関係を基準に、抵抗性遺伝子を分類するようになってきている。イネの場合、真性抵抗性遺伝子では、優性で NB-LRR 構造を持ち、数年で抵抗性が無効になるものがほとんどを占める。圃場抵抗性遺伝子では、*Pb1* のように優性で NB-LRR 構造を持つが、我が国での罹病化の報告はなく、これらを侵害する菌がないかあっても蔓延していないものが当てはまる。また、劣性で NB-LRR 構造を持たず、侵害する菌がないものも圃場抵抗性遺伝子に該当する。本講演では、劣性抵抗性遺伝子の機能とそれらを侵害する病原が出現しにくい理由について考察したい。

劣性遺伝子の場合、対立する優性遺伝子がどのような構造を持つかを調べることにより、抵抗性の機能を類推できる。イネの優性遺伝子 *Pi21* は、NB-LRR 構造を持たず、プロリンに富むアミノ酸配列を持つタンパク質が機能を持ち、いもち病菌の菌糸進展を促進する。これに対し、劣性遺伝子 *pi21* ではプロリンに富むアミノ酸配列の一部が欠失している。つまり、*Pi21* が機能せず、菌糸伸張が抑制されることで抵抗性を示すと考えられている。いもち病菌が *pi21* を侵害するためには、*pi21* 遺伝子産物の存在下で機能するエフェクターを菌が作る必要があるが、*Pi21* が菌にとって「好都合な罹病性遺伝子」であるために、菌が *Pi21* に対するエフェクターを作る必要性はないであろう。逆に、劣性遺伝子 *pi21* に適応することは、菌が生存しにくくなることを示す。現在までのところ、*pi21* を強く侵すいもち病菌の報告や事例はない。

オオムギうどんこ病に対する劣性抵抗性遺伝子 *mlo* は、すでに 30 年以上利用されている。すべてのうどんこ病菌レースに対して抵抗性を示すことが知られており、導入品種は 70 万 ha（1990 年）におよぶ。優性の対立遺伝子 *Mlo* は抵抗性を負に制御しており、菌の侵入をモニタリングする機能を司ると考えられている。*Mlo* の突然変異によって得られたオオムギでは、菌の侵入によって迅速に過酸化水素による細胞死を誘導し、細胞への侵入を阻止することが分かっている。構造的には *mlo* 遺伝子産物は 6 回膜貫通構造をもち、菌の侵入により形成された吸器を、植物の細胞壁から形成された構造物が菌を取り囲んで栄養吸収を妨げる。

ウイルスの中で Potyvirus に対する抵抗性遺伝子はその半数が劣性遺伝子である。ウイルスが宿主細胞内で増殖するためには、5'キャップと 3'ポリ A を持つ宿主 mRNA との競合に勝ち抜く必要があるが、劣性遺伝子では、翻訳開始因子 eIF4F（eIF4G+eIF4E+eIF4A）に変異が生じてウイルスの 5'キャップ構造が付着することができなくなり、ウイルスが増殖できなくなると考えられている。しかし、1 例ではあるが、劣性遺伝子を持つ植物に対してウイルスが感染性を示すようになった事例が報告されている。同様な例はトウモロコシごま葉枯病抵抗性遺伝子 *rhm* でも知られており、病斑拡大を抑制するような表現型を示す、

rhm 保有品種に対してこれを強く侵害する菌が得られている。

以上のように、劣性遺伝子は多くの場合、対立する罹病性遺伝子が機能しなくなること
で抵抗性が発揮される。これら劣性遺伝子は抵抗性発現のメカニズムを考えると長期間安
定に利用できるものが多いと考えられる。しかし例外もあるので、侵害するよう変異した
病原の出現や蔓延を防止する方策についても考える必要がある。

参考文献（発表内容を含む）

【総説】

Richard, W. et al. 2013 Annual Review of Phytopathology 51:14.1-14.29.

【Avr-Pita】

Jia, Y. et al. 2000 The EMBO Journal 19:4004-4014.

【Pb1】

Hayashi, N. et al. 2010 The Plant journal 64:498-510.

【pi21】

Nakao, M. et al. Scientific Reports 1:171.

Fukuoka, S. et al. 2009 Science 325:998-1001.

【xa5, xa13】

Anjali, S. et al. 2007 Molecular Plant Microbe Interactions 20:731-739.

【Xa21】

Han, S. W. et al. 2011 PLoS ONE 6:1-10.

Song, W. Y. et al. 1995 Science 270:1804-1806.

Lee, S. W. et al. 2009 Science 326:850-853.

【Yr36】

Fu, D. et al. 2009 Science 323:1357-1359.

【Lr34】

Simon, G. et al. 2009 Science 323:1360-1363.

Joanna, R. M. et al. 2013 Plant Biotechnology Journal 11:847-854.

【mlo】

Buschges, R. 1997 Cell 88:695-705.

Devoto, A. et al. 2003 Journal of Molecular Evolution 56:77-88.

Eichmann, R. and Huckelhoven, R. 2008 Journal of Plant Physiology 165:5-18.

Freialdenhoven, A. et al. 1996 The Plant Cell 8:5-14.

Huckelhoven, R. and Kogel, K. H. 2003 Planta 216:891-902.

Humphry, M. et al. 2011 Molecular Plant Pathology 12:866-878.

Jorgensen, J. H. 1992 Euphytica 63:141-152.

Kim, M. C. et al. 2002 416:447-450.

Walter, M. et al. 1993 Molecular Genetics and Genomics 239:122-128.

【eIF4F】

Truniger, V. and Aranda, M. A. 2009 Advances n Virus Research 75:120-149.

【rhm】

月星ら 1994 日植病報 60:331.

Tsukiboshi, T. et al. 1996 JARQ 30:91-96.

圃場抵抗性の導入系統・品種について ～普及事例と解決すべき問題点～

吉田 朋史

愛知県農業総合試験場山間農業研究所

育成地の沿革

愛知県農業総合試験場山間農業研究所は、愛知県東部の山間部に位置し、岐阜、長野両県に接する豊田市稲武町に立地する。1933（昭和 8）年に、愛知県立農事試験場稲橋試験地として設立されてから現在に至るまで約 80 年間にわたり、組織改編、名称変更を行いつつ、一貫して水稻のいもち病抵抗性を育種目標とした品種改良に取り組んできた。当所は、標高 505m、年間平均気温 11.5℃、年間日照時間約 1,500 時間、年間降水量約 2,000mm という気象条件で、全国でも有数のいもち病高発生条件の試験地であり、毎年安定したいもち病発病検定をほ場で行うことができる。このため、1967（昭和 42）年には、「温暖地の山間・中山間地向きいもち病抵抗性優良品種の育成」を目的に農林水産省水稻育種指定試験地が設置され、2010（平成 22）年度に指定試験事業が終了するまでの 44 年間に、19 品種、142 地方番号系統（中部系統）を育成した。なお、指定試験以前の育成品種 52 品種を合わせると育成品種の合計は 71 品種であり、現在もいもち病抵抗性水稻品種の育成を継続している。

愛知県農業総合試験場山間農業研究所育成の主な圃場抵抗性遺伝子導入品種・系統

山間農業研究所では、ほ場における葉いもち、穂いもちの検定結果により、いもち病圃場抵抗性系統を選抜してきた。主に陸稲「戦捷」の持つ圃場抵抗性を導入する育種を行い、チヨニシキ（S61 品種登録、12,636ha、S63）、峰ひびき（H15 品種登録、22ha、H16）、コノエモチ（H1 品種登録、1,312ha、H10）、夢山水（H13 品種登録、45ha、H21）等の品種を育成してきた。その間に育成したミネアサヒ（S56 品種登録）は、良食味を最大の目的としたために、葉いもち、穂いもちともに「やや弱」となったが、愛知県の他、全国的に普及し、最大普及面積は 15,877ha（H6）に達した。

平成 10 年代後半に DNA マーカーが活用されるようになると、ほ場検定とともに、DNA マーカーを活用した圃場抵抗性遺伝子の導入育種が取り入れられ、インディカ稲「Modan」に由来する *Pb1*、陸稲「戦捷」に由来する *pi21*、中国水稻品種「ハオナイファン（Haonaihuan；毫乃煥）」に由来する *Pi39* 等の圃場抵抗性遺伝子の導入の効率化が図られている。

以下に、近年育成した、これまでに特定されてきた圃場抵抗性遺伝子を持つ品種とその特性を示す。

（1）きぬはなもち（中部糯 110 号、H23 品種登録）

穂いもち圃場抵抗性遺伝子 *Pb1* を持つ。ただし、育成に DNA マーカーは利用していない。いもち病真性抵抗性遺伝子（推定）は、*Pia* 及び *Pii*。葉いもちは「やや強」、穂いもちは「強」。イネ網葉枯病抵抗性遺伝子 *Stvb-i* を持つ。育成地での熟期は「中生の晩」。もちは、白度が高く、きめが細かく滑らかで粘りがあってよく伸びる。普及面積 2ha。

(2) みねはるか (中部 111 号、H20 愛知県奨励品種採用、H22 品種登録)

いもち病圃場抵抗性遺伝子 *Pi39* を持つ。いもち病真性抵抗性遺伝子 (推定) は、*Pii*。葉いもち「極強～強」、穂いもち「極強～強」。イネ縞葉枯病には罹病性。育成地での熟期は、ミネアサヒ、コシヒカリと同熟期の「中生の中」。良食味品種。普及面積 133ha。

(3) ともほなみ (中部 125 号、H24 品種登録)

いもち病圃場抵抗性遺伝子 *pi21* を持つ。いもち病真性抵抗性遺伝子 (推定) は、+。葉いもち「極強～強」、穂いもち「強」。イネ縞葉枯病には罹病性。育成地での熟期は、コシヒカリよりやや早い「中生の早」。愛知県、(独) 農業生物資源研、(独) 農研機構の 3 者による共同育成。ゲノム育種法を用いて、陸稲「戦捷」の持つ *pi21* と強く連鎖する、食味を低下させる領域を取り除くことに初めて成功した良食味品種。普及面積 3ha。

(4) 中部 134 号 (H25 品種登録出願)

いもち病圃場抵抗性遺伝子 *Pi39* 及び穂いもち圃場抵抗性遺伝子 *Pb1* を持つ。いもち病抵抗性遺伝子 (推定) は、*Pia* 及び *Pii*。葉いもち「極強」、穂いもち「極強」。イネ縞葉枯病には罹病性。育成地での熟期は、あきたこまちの同熟期の「早生」の良食味系統。

愛知県農業総合試験場作物研究部育成の *Pb1* 導入品種と普及地域

愛知県長久手市の愛知県農業総合試験場作物研究部では、昭和 30 年代後半にイネ縞葉枯ウイルス抵抗性のインド型イネ品種 Modan を遺伝資源とする St. No. 1 等を抵抗性母材としたイネ縞葉枯病抵抗性育種が進められ、多くのイネ縞葉枯病抵抗性実用品種を育成した。

それらの品種は、Modan に由来するイネ縞葉枯病抵抗性遺伝子 *Stvb-i* を持ち、同時に第 11 染色体長腕で連鎖する穂いもち圃場抵抗性遺伝子 *Pb1* も導入されたことが後年判明した。

以下に、愛知県農業総合試験場作物研究部で育成された、穂いもち圃場抵抗性遺伝子 *Pb1* とイネ縞葉枯病抵抗性遺伝子 *Stvb-i* を併せ持つ育成品種を示す。コシヒカリ愛知 S B L のイネ縞葉枯病及び穂いもち抵抗性、ゆめまつりのツマグロヨコバイ抵抗性について DNA マーカー選抜が実施され、その他については生物検定による選抜で育成された。

(1) 月の光 (愛知 56 号、S61 登録) 栃木、群馬、愛知。24, 715ha (H1)

(2) 朝の光 (愛知 61 号、S63 登録) 群馬、埼玉。24, 586ha (H6)

(3) 葵の風 (愛知 78 号、H2 登録) 愛知。4, 635ha (H6)

(4) あかね空 (愛知 76 号、H5 登録) 埼玉、愛知、佐賀。3, 059ha (H6)

(5) 祭り晴 (愛知 92 号、H7 登録) 神奈川、愛知、大阪、京都、島根。8, 534ha (H12)

(6) あさひの夢 (愛知 93 号、H12 登録) 栃木、群馬、山梨、岐阜、静岡、愛知、長崎。
20, 045ha (H23)

(7) 大地の風 (愛知 96 号、H14 登録) 愛知。1, 057ha (H21)

(8) あいちのかおり S B L (愛知 100 号、H15 登録) 静岡、愛知。16, 111ha (H24)

- (9) コシヒカリ愛知 S B L (愛知 106 号、H17 登録) 愛知。約 100ha (H24)
(10) ゆめまつり (愛知 108 号、H22 登録) 群馬、愛知。873ha (H24)

解決すべき問題点

これまでに圃場抵抗性遺伝子として分類されている遺伝子でも、抵抗性の崩壊の可能性が否定できない。このため、今後も新しい圃場抵抗性遺伝子の探索を継続していく必要がある。当场育成の中部系統の中には、*Pb1*、*Pi39*、*pi21* 等の既知の圃場抵抗性遺伝子を保有していないが、圃場での抵抗性検定の結果、抵抗性「強」の系統が多数存在する。これらを探索することにより、新規の圃場抵抗性遺伝子を見出すことができる可能性がある。また、海外の遺伝資源からも新規の圃場抵抗性遺伝子の探索を継続して行っている。

既知の圃場抵抗性遺伝子については、DNA マーカーを利用して、複数の遺伝子を集積した品種を育成していくことが、いもち病抵抗性の高度化、安定化のために有効であると考えられる。現在、当所で育種に活用しているのは、*Pb1*、*pi21*、*Pi39* 等であり、それぞれ DNA マーカーを用いた選抜が可能となっている。今後も、新規圃場抵抗性遺伝子の探索とマーカー化を進め、圃場抵抗性遺伝子を導入した材料の養成を効率的に実施し、圃場抵抗性遺伝子を複数導入集積した系統を、様々な遺伝子の組み合わせで行うとともに、宝とも言えるいもち病検定ほ場での検定結果を活用することにより、いもち病に極強い良食味品種の開発を継続して行っていきたい。

長野県における抵抗性利用 ～有機栽培での穂いもち圃場抵抗性品種の導入に向けて～

高松 光生
長野県農業試験場

研究の目的

食の安全性や環境に配慮した低コスト・省力生産が求められるなかで、耐病性品種育成に寄せられる期待は大きい。水稻ではいもち病に対する抵抗性遺伝子を導入して抵抗性を付与し、あわせて良食味等の特性を持った品種育成が望まれている。

真性抵抗性遺伝子は多数存在し、それらに対する罹病性反応と抵抗性反応からイネいもち病菌レースが同定されている。過去に新たな真性抵抗性遺伝子を持った水稻品種が育成されたが、新しいレースの出現によって抵抗性崩壊の事例があり、抵抗性品種を安定的に利用するため、同質遺伝子系統の利用が進められている。この場合でも、複数の真性抵抗性を侵害する新たなレースが出現し、抵抗性が崩壊する懸念がある。一方、穂いもち圃場抵抗性遺伝子は、抵抗性崩壊の事例がなく、安定している。

本研究では、コシヒカリいもち病抵抗性同質遺伝子系統8系統に、穂いもちに対して強い発病抑制効果のある穂いもち圃場抵抗性遺伝子 *Pb1* を導入して、より幅広いレースに対して安定した抵抗性を発揮するいもち病抵抗性同質遺伝子系統を育成した。この選抜にはいもち病抵抗性遺伝子に連鎖した DNA マーカーを用い、効率的に抵抗性遺伝子の集積を図る。また、育成した系統の県内での栽培特性を調査し、適応性を検討した。

育成経過

平成 16 年に、ササニシキ BL 1 号（いもち病真性抵抗性遺伝子 *Pik* 保持）、ササニシキ BL 2 号（同 *Pik^m* 保持）ササニシキ BL 3 号（同 *Piz* 保持）、ササニシキ BL 4 号（同 *Piz^t* 保持）、ササニシキ BL 5 号（同 *Pita²* 保持）、ササニシキ BL 6 号（同 *Pita* 保持）、ササニシキ BL 7 号（同 *Pib* 保持）ササニシキ BL 8 号（同 *Pii* 保持）をコシヒカリにそれぞれ交配した。

平成 17 年に、各交配組合せの F1 を花粉親として、コシヒカリにそれぞれ戻し交配した。

平成 18 年に、各交配系統の真性抵抗性遺伝子の有無を DNA マーカーで判別し、コシヒカリ愛知 SBL（穂いもち圃場抵抗性遺伝子 *Pb1* 保持）を種子親として交配した。

以降、各 8 交配系統について真性抵抗性遺伝子と穂いもち圃場抵抗性遺伝子の有無を DNA マーカーで確認し、選抜しながら 3 回コシヒカリに戻し交配し、平成 21 年に戻し交配を終了した。平成 21 年秋から DNA マーカーにより両遺伝子をホモで保持する個体の選抜を開始し、平成 22 年から系統選抜により形質の固定を図った（図 1）。

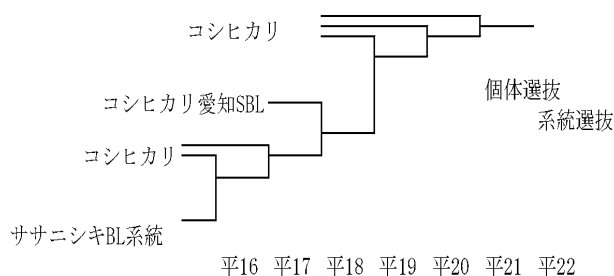


図 1 系譜

抵抗性の検定

いもち病検定試験をいもち病検定圃場で実施した。供試した系統数は、コシ PbBL1 からコシ PbBL8 それぞれ 4、5、2、4、3、4、5、5 系統で、5 月 30 日に 1 株 3 本植で移植した。出穂期のほか、葉いもち、穂いもちの発病程度を調査した。

葉いもちは、コシPbBL1からコシPbBL7では発病は殆ど見られなかった。コシPbBL8の葉いもち発病程度はコシヒカリと同程度かやや少なかった（表 1）。

隣接しているコシヒカリ圃場では葉いもちが多発したのに対し、検定圃場での葉いもちの発生は少なめであったが、これは抵抗性遺伝子系統の混植によるバリア効果が発揮されていたものと推察された。

穂いもちは、コシPbBL1からコシPbBL8では枝梗いもちが認められた。穂首いもちは、選抜系統以外ではコシPbBL1で 1 系統、コシでPbBL8で 3 系統認められたが、ごくわずかであった。圃場抵抗性遺伝子の効果と推察された。

表 1 いもち病発病程度（平成23年 農業試験場）

系統名	抵抗性 遺伝子		葉 いもち	穂 いもち
コシ PbBL1	<i>Pb1</i>	<i>Pik</i>	0.0	2.5
コシ PbBL2	<i>Pb1</i>	<i>Pik^m</i>	0.3	2.2
コシ PbBL3	<i>Pb1</i>	<i>Piz</i>	1.0	1.4
コシ PbBL4	<i>Pb1</i>	<i>Piz^t</i>	0.0	1.9
コシ PbBL5	<i>Pb1</i>	<i>Pita²</i>	0.0	2.5
コシ PbBL6	<i>Pb1</i>	<i>Pita</i>	0.0	1.7
コシ PbBL7	<i>Pb1</i>	<i>Pib</i>	0.0	1.9
コシ PbBL8	<i>Pb1</i>	<i>Pii</i>	2.5	2.9
コシヒカリ			3.8	5.5

試験場所：長野市中条いもち病検定現地圃場

耕種概要

播種：4 月 21 日、移植日：5 月 30 日 区制・反復：1 区 7 株 3 本植え 2 反復

接種：自然感染（指標品種のいもち発病から *Pia*、*Pii* を侵すレースが優占と推定）

調査方法

葉いもち・穂いもち発病程度（いもち病特性検定試験調査基準による）

葉いもち：0（病斑なし）～10（全茎葉枯死）

穂いもち：0（罹病なし）～10（全穂穂首いもち）

育成系統の利用について

育成系統は、いもち病多発地帯での適応性を確認する。

育成系統は、いもち耐病性の良食味系統として、交配母本に活用できる。

