

# イネ C ゲノム野生種 *Oryza officinalis* 由来の 縞葉枯病抵抗性に関する QTL 解析

前田英郎\*・松下 景・飯田修一・春原嘉弘・梶 亮太\*\*・平林秀介\*\*\*・小川紹文\*\*\*\*

Key words : rice, wild rice, *Oryza officinalis*, rice stripe virus, small brown plant hopper, quantitative trait loci

## 目 次

I 緒 言	29	2 縞葉枯病検定試験	31
II 材料および方法	30	3 QTL 解析	32
1 材料	30	4 ヒメトビウンカ抵抗性系統の選抜	33
2 縞葉枯病検定試験	30	IV 考 察	33
3 ヒメトビウンカ抵抗性の検定試験	30	V 謝 辞	36
4 SSR マーカー分析ならびに QTL 解析	31	VI 摘 要	36
III 結 果	31	引用文献	36
1 縞葉枯病抵抗性系統の選抜	31	Summary	38

## I 緒 言

イネ属野生種はユーラシア大陸の東南アジア地域を中心にアフリカ大陸やオーストラリア大陸など世界に広く分布し、さまざまな気候や環境条件に適した多くの種が分化している。ゲノム種においても栽培イネ *Oryza sativa* L. (2n=24, AA) と同じ A ゲノムを持つ近縁野生種から、B, C, D, E, F, K ゲノム種に分類されるゲノムを持つ野生種があり、また、倍数性においても 2 倍体だけではなく BBCC や CCDD といった異質 4 倍体野生種も存在する。このような多様な遺伝的・生態的特性を持つ野生種は、有用遺伝子の供給源として栽培イネにとって非常に重要であり、世界的な規模で収集と保存が進められている。

病虫害抵抗性に関しては、野生種の抵抗性遺伝子を栽培イネに導入する試みが古くから行われてい

る。病虫害抵抗性遺伝子は病原ウイルスの変異やレースの分化等によって抵抗性が崩壊する現象が報告されており、新たな遺伝子を探索し育種に利用する必要がある。そのため、野生種が持つ抵抗性に関して多くの研究が進められてきた。A ゲノム野生種は栽培イネとの交雑が可能であり、雑種不稔などの生殖的隔離が見られるものの通常の交雑育種法で形質を栽培イネに導入することが可能であるため、白葉枯病抵抗性などの遺伝子に関しては野生種が持つ抵抗性遺伝子が栽培イネへ導入された例も報告されている<sup>3)</sup>。病虫害抵抗性以外にも最近では A ゲノム野生種に栽培イネの収量性を向上する量的遺伝子座 (QTL: Quantitative Trait Loci) が存在することが報告されており<sup>15)</sup>、野生種にはその外見からは想像できないような変異を含むことが明らかとなった。最近では A ゲノム野生種の有用遺伝子の解析と利用を促進するため、野生種の染色体断片を「コシヒカリ」等の良食味水稻品種に DNA マーカー選抜技術

(平成18年 3 月20日受付, 平成18年 7 月20日受理)

作物開発部

\*現作物研究所

\*\*九州沖縄農業研究センター

\*\*\*作物研究所

\*\*\*\*宮崎大学

を用いて導入した染色体断片置換系統も開発されており、今後は病虫害抵抗性や環境ストレス耐性といった形質以外についても野生稻の持つ遺伝子の解析およびその利用が進むと思われる。Aゲノム野生種に存在しない形質については他のゲノムを持つ野生種に探索を進める必要があった。しかし、Aゲノム以外の野生種は栽培イネと通常の交雑ができないため、育種に利用された野生種はごく一部であった。

1980年代後半から国際イネ研究所 (IRRI) において開発されたAゲノム以外の野生種と栽培種との交雑法は、異なるゲノム種が持つ有用遺伝子の利用を可能とした。この方法はコルヒチン処理により4倍体とした栽培イネ (AAAA) に異種ゲノム野生種 (XX) を交雑し、胚培養を行って F<sub>1</sub> 雑種個体を得る方法で、F<sub>1</sub> 個体は AAX のゲノム構成となる<sup>7)</sup>。この F<sub>1</sub> 個体を自殖または戻し交雑と胚培養によって F<sub>3</sub> から F<sub>4</sub> 世代まで重ねると異種ゲノムの染色体が取り除かれて種子稔性を回復した系統が得られる。稔性を回復した系統は AA ゲノムに Xゲノムの染色体が1, 2本残されているもの、あるいは野生種の全染色体が取り除かれて AA ゲノムだけのものが混在した状態となる。しかし、Aゲノムの染色体だけとなった系統は、Aゲノム染色体の中に異種ゲノムの短い染色体断片が取り込まれる現象が報告されている。Ishii *et al.* (1994) はこの方法を用いてEゲノム野生種である *O. australiensis* の断片を導入した系統から新たなトビイロウンカ抵抗性遺伝子を同定しており<sup>2)</sup>、戻し交雑育種法と胚培養法を用いることで異種ゲノム野生種でも栽培イネの育種に利用できることが明らかとなった。野生稻は有用な遺伝子を保持していると同時に倒伏、脱粒性、品質低下などの栽培イネには望ましくない形質を有するが、染色体断片導入系統は染色体に取り込まれる異種ゲノムの断片の大きさが数 cM 程度と短いため、野生稻の劣悪形質が導入されにくいという利点もある。

イネ縞葉枯病に関してはこれまでにインディカ品種由来と日本陸稻由来の2種類の抵抗性が報告されているだけであり<sup>12, 13, 14)</sup>、さらなる抵抗性の探索が急務となっている。そのため、本研究ではCゲノム野生種の *O. officinalis* の染色体断片導入系統から新たな抵抗性遺伝子を探索することを目的とした。

また、縞葉枯病の媒介虫であるヒメトビウンカに対する抵抗性についても抵抗性遺伝子の探索を行った。

## II 材料および方法

### 1 材 料

抵抗性系統の選抜は九州沖縄農業研究センターにおいて作出された *O. officinalis* の染色体断片導入系統139系統を用いて行った。この系統はコルヒチン処理により4倍体とした「水稻農林29号」にCゲノム野生種である *O. officinalis* (IRGC Acc.100947) を交配し、胚培養を経て得た F<sub>1</sub> 個体に「コシヒカリ」を交雑した後に自殖と胚培養を繰り返して作出された BC<sub>1</sub>F<sub>3</sub> 139系統を分譲されたものである。染色体断片導入系統から選抜された抵抗性系統 (WL158R, WL162) はそれぞれ「コシヒカリ」と交雑し、F<sub>3</sub> 系統群96系統を作出した。これら2つの F<sub>3</sub> 系統群はそれぞれ縞葉枯病検定を行い、その結果を基に QTL 解析を行った。

### 2 縞葉枯病検定試験

縞葉枯病の検定は網室検定法を用いた<sup>4)</sup>。感受性比較品種として「コシヒカリ」、抵抗性比較品種として抵抗性遺伝子 *Stvb-i* を有する「月の光」を用いて *O. officinalis* 由来の染色体断片導入系統139系統の調査を行った。検定は苗箱に1系統20粒ずつ条播し、1.5葉期まで育苗した後、網室内に苗箱を移して縞葉枯病ウイルスを保毒しているヒメトビウンカの幼虫を3日間放飼した。ウンカを取り除いた苗は病徴が確認できるまで温室内にて3週間程度育苗した。縞葉枯病は全個体中に発病している苗の割合 (感染株率%) を調査した。調査は2反復で行い、感染株率の平均値を解析に用いた。比較品種の「コシヒカリ」と「月の光」は20列おきに配置し、合計10反復の調査を行い、抵抗性系統の WL158R ならびに WL162 については5反復調査した。

### 3 ヒメトビウンカ抵抗性の検定試験

感受性品種「コシヒカリ」、縞葉枯病抵抗性品種として「中国31号」、*O. officinalis* ならびに *O. officinalis* 由来の染色体断片導入系統139系統についてヒ

メトビウンカに対する抵抗性の調査を行った。試験管に2-3葉期の苗3本とヒメトビウンカ幼虫6頭を入れ、上からガーゼでふたをして25℃にて静置した。調査は各系統3反復行い、24時間毎に生存しているウンカの頭数から生存率を算出した。

#### 4 SSR マーカー分析ならびに QTL 解析

DNA は CTAB 法を用いて抽出した<sup>8)</sup>。F<sub>3</sub> 集団については各系統20個体の幼苗をまとめてサンプリングし、DNA を抽出した。核酸遺伝子増幅反応 (PCR) は反応液20  $\mu$ l (DNA 10ng, primer 1pmol, 0.4 unit *Taq* polymerase) で GeneAmp PCR system 9700 (Perkin Elmer, USA) を用いて95℃ 1分, 55℃ 1分, 72℃ 30秒の35サイクルで行った。PCR 後の反応液は4% (W/V) アクリルアミドゲルで電気泳動を行い, Panaud *et al.* (1996) の銀染色法でバンドを検出した<sup>9)</sup>。

DNA マーカーには12本の染色体に偏り無く配置された SSR マーカー528種類を用いた<sup>6, 10)</sup>。第2染色体領域の一部については Maeda *et al.* (2004) が設計した SSR マーカー51種類 (MS-1 から MS-51) についても解析に使用した<sup>5)</sup>。連鎖地図の構築は両親間で多型を示した SSR マーカーの F<sub>2</sub> 分離データを基に算出した。縞葉枯病抵抗性に関する QTL の解析には連鎖地図情報と縞葉枯病検定結果を基に解析ソフト MAPL を用いて行い<sup>11)</sup>, LOD 値が3.0以上の領域を検出した。

### III 結 果

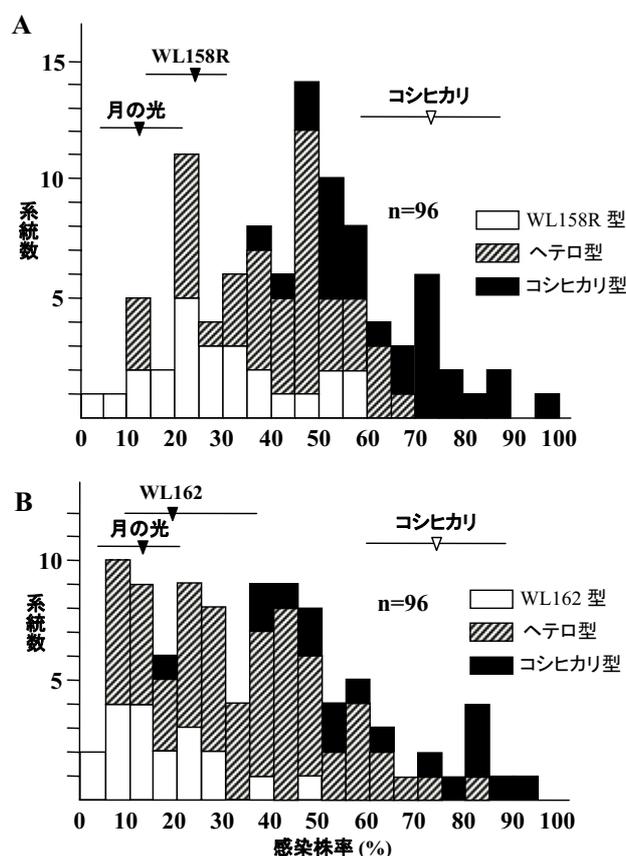
#### 1 縞葉枯病抵抗性系統の選抜

*O. officinalis* (IRGC Acc.100947) の染色体断片を導入した F<sub>3</sub> 139系統について縞葉枯病検定を行った結果、中程度以上の抵抗性を示す5系統が選抜された。これらの系統については系統内で抵抗性が分離しているために中程度の抵抗性と判定された可能性が考えられた。そのため、検定に用いた苗から発病していない個体をポットに移植し、自殖種子を得た。この種子を用いて再度縞葉枯病検定を行った結果、5系統のうち2系統が抵抗性を示し、3系統が罹病性と判定された。抵抗性を示した2系統をそれぞれ「WL158R」ならびに「WL162」と命名し、以降の

解析に供試した。

#### 2 縞葉枯病検定試験

網室検定法での感受性比較品種「コシヒカリ」の感染株率は58.3%から90.9%であり、平均値は74.2%であった。抵抗性比較品種である「月の光」の感染株率は4.0%から20.8%であり、平均感染株率は12.8%となった。WL158R の平均感染株率は23.7% (14.3から31.3%) であり、WL162 は9.1%から38.1%で平均感染株率は WL158R よりもやや低い19.1%であった。WL158R と感受性系統「コシヒカリ」との F<sub>3</sub> 系統群96系統の縞葉枯病検定結果を第1図Aに示した。この集団における F<sub>3</sub> 系統群は抵抗性側から感受性側まで連続した分布となった。一方、WL162 / 「コシヒカリ」 F<sub>3</sub> 系統群96系統は第1図Bのような分布を示した。この集団においては



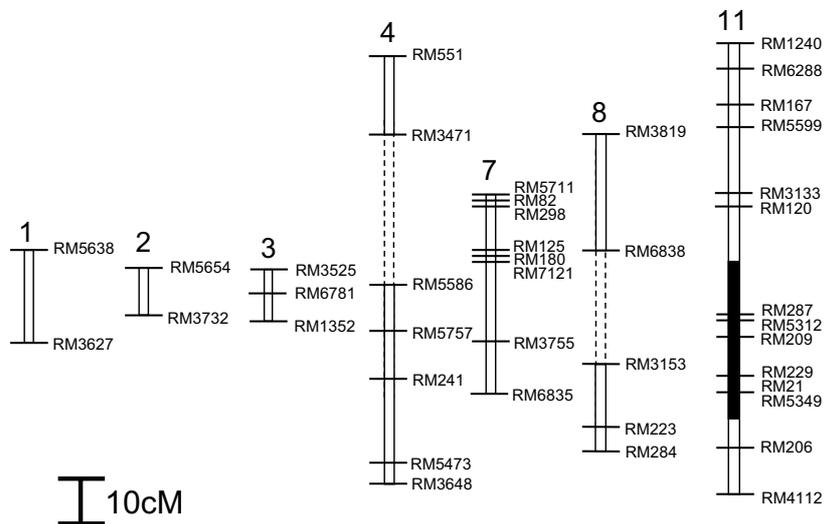
第1図 F<sub>3</sub> 系統群の縞葉枯病感染率の分布  
(A) WL158R / コシヒカリ F<sub>3</sub> 系統群の分布と SSR マーカー RM209 の遺伝子型による分類  
(B) WL162 / コシヒカリ F<sub>3</sub> 系統群の分布と SSR マーカー RM209 の遺伝子型による分類

WL158R / 「コシヒカリ」の集団よりもやや抵抗性側に分布が偏る結果となった。

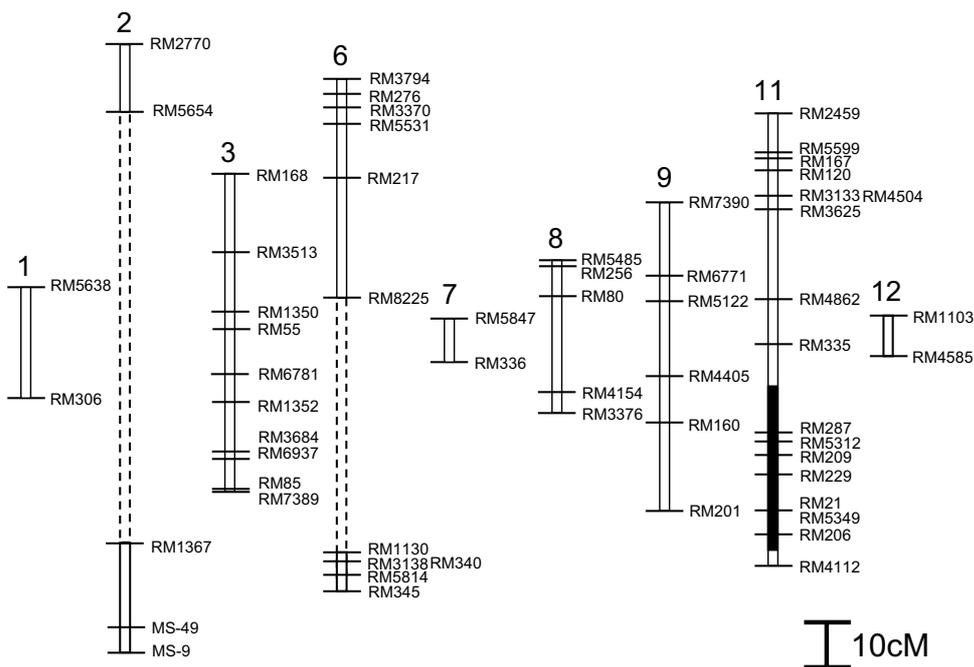
### 3 QTL 解析

SSR マーカー528種類を用いて「コシヒカリ」、WL158R, WL162 についてスクリーニングを行った結果、「コシヒカリ」と WL158R との間では61種類, 「コシヒカリ」と WL162 との間では90種類が

多型を示した。これらの多型を示したマーカーに関しては *O. officinalis* についてもスクリーニングを行い, *O. officinalis* 由来の染色体が WL158R および WL162 のどの領域に導入されているかを調査した。その結果, WL162 については第5染色体の SSR マーカー RM153 付近に *O. officinalis* 由来の染色体が見いだされたが, WL158R については検出できなかった。



第2図 WL158R / コシヒカリ F<sub>3</sub> 集団における連鎖地図と縞葉枯病抵抗性に関する QTL  
 ■ : LOD 値3.0以上の領域



第3図 WL162 / コシヒカリ F<sub>3</sub> 集団における連鎖地図と縞葉枯病抵抗性に関する QTL  
 ■ : LOD値3.0以上の領域

多型を示した SSR マーカー61種類を用いて WL158R/「コシヒカリ」F<sub>3</sub> 系統群での分離を調査し、連鎖地図を構築した。その結果、41マーカー、9連鎖群で7本の染色体からなる合計318.2cMの連鎖地図が構築された。第5、第6、第9、第10、第12染色体には多型を示すマーカーが少なく、連鎖地図は構築されなかった。F<sub>3</sub> 系統の縞葉枯病抵抗性検定における感染株率(%)と連鎖地図を基に QTL 解析を行った結果、第11染色体の長腕に LOD 値で7.97(寄与率64.5%)の QTL が検出された(第2図)。LOD 値のピークは SSR マーカー RM209 の近傍に検出された。

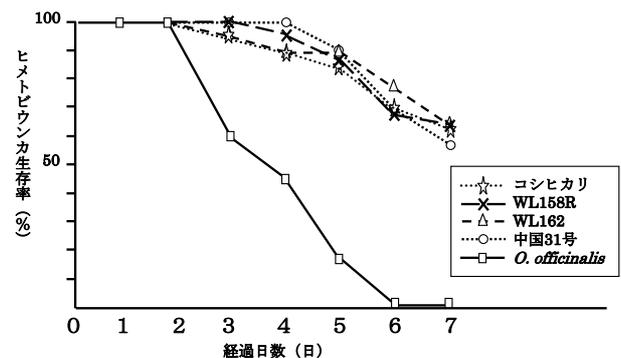
WL162/「コシヒカリ」F<sub>3</sub> 系統群では61マーカー、11連鎖群で9本の染色体に520.6cMの連鎖地図が構築された。この連鎖地図を基に QTL 解析を行った結果、この集団に関しても WL158R/「コシヒカリ」F<sub>3</sub> 系統群で検出されたのとはほぼ同じ第11染色体の長腕に QTL が検出された(第3図)。LOD 値のピークも SSR マーカー RM209 の近傍に検出され、LOD 値は8.99(寄与率52.6%)であった。連鎖地図が構築されなかったマーカーに関しては t 検定を行い、近傍領域の QTL の有無を検証したが、縞葉枯病抵抗性に関与すると思われるマーカーは見いだされなかった。WL162 は第5染色体長腕領域に *O. officinalis* の染色体が導入されていたが、この領域についても抵抗性には関与しないことが判明した。

#### 4 ヒメトビウンカ抵抗性系統の選抜

*O. officinalis* ならびに感受性品種「コシヒカリ」、抵抗性遺伝子 *Stvb-i* を有する「中国31号」、WL158R、WL162 におけるヒメトビウンカ生存率の変化を第4図に示した。試験に供試した5系統とも2日後までは100%の生存率を示したが、*O. officinalis* では2日目以降の生存率が急激に低下し、6日目にはすべてのウンカが死滅した。「コシヒカリ」では4日目までほぼ100%のウンカが生存していたが、その後徐々に生存率が低下した。「中国31号」の生存率の推移は「コシヒカリ」とほぼ同じであり、ウイルスに対する抵抗性遺伝子 *Stvb-i* はヒメトビウンカに対して影響を及ぼさないことを確認した。「コシヒカリ」と *O. officinalis* における生存率に最

も開きが生じたのは試験開始から5日後で、「コシヒカリ」における生存率が88.9%であったのに対して *O. officinalis* では生存率が16.5%となった。WL158R ならびに WL162 における5日後の生存率は「コシヒカリ」と同程度であり、WL158R ならびに WL162 が持つ縞葉枯病抵抗性はヒメトビウンカ耐虫性ではなく、縞葉枯病ウイルスに対する抵抗性であることが示唆された。

*O. officinalis* の染色体断片導入系統139系統についても同じ試験を行い、ヒメトビウンカ抵抗性が導入された系統を選抜した結果、5日後のヒメトビウンカ生存率が「コシヒカリ」よりも低下する系統を6系統選抜した。これらの系統についても系統内で抵抗性が分離している可能性があったため、各系統10株から自殖種子を採種し、これらの種子を用いて再度ヒメトビウンカ抵抗性検定を行った。抵抗性検定は各系統5反復の調査を行ったが、「コシヒカリ」と明確な差を示す系統は選抜できなかった。そのため、5反復のうちの一つでも生存率の低下が見られた系統については再度自殖種子を取り、検定を繰り返した。しかし、最終的にヒメトビウンカに明確な抵抗性を示す系統は得られなかった。



第4図 *O. officinalis* のヒメトビウンカに対する抵抗性

## IV 考 察

本研究において筆者らは新規の縞葉枯病抵抗性遺伝子を探索するため、Cゲノム野生種 *O. officinalis* に由来する抵抗性を解析した。異種ゲノム染色体を栽培種に導入した系統については、戻し交雑および自殖を繰り返すことで野生種の染色体が消失し、種子稔性を回復することが知られている。稔性を回復

した系統はAゲノム染色体に野生種の染色体が1, 2本残されている系統と, すべてが消失してAゲノムだけとなった系統が混在した状態となっている. 野生種の染色体がそのままの形で残されている系統は, 染色体が重複したトリソミック (三染色体的植物) の形態的特徴を示すため, 粒形, 芒の長さ, 葉舌などの特徴から判別が可能である. このような野生種のトリソミック系統群は MAALs (Monosomic Alien Addition Lines) 呼ばれ, イネの各染色体に対応した MAALs が作出されている<sup>7)</sup>. 本研究において解析に用いた, 「水稻農林29号」(4倍体) / *O. officinalis* / 「コシヒカリ」の組合せから作出された BC<sub>1</sub>F<sub>3</sub> 139系統については, 染色体数を測定することはできなかったが, トリソミック系統の明確な形態的特徴を示す系統は観察されなかったため, 野生種染色体の大部分は取り除かれていたものと推察された. 縞葉枯病に抵抗性を示した WL158R ならびに WL162 についてもトリソミック系統のような特徴は見られず, 「コシヒカリ」との交雑 F<sub>3</sub> 集団において SSR マーカーの分離も正常であったため, ほぼAゲノムの染色体に固定していると推察された.

SSR マーカー528種類を用いて「コシヒカリ」, WL158R, WL162 についてスクリーニングを行った結果, 「コシヒカリ」と WL158R との間では61種類 (11.6%), 「コシヒカリ」と WL162 との間では90種類 (17.0%) で多型を示した. 多型が得られた割合は非常に低いものであったが, これは交雑に用いた「コシヒカリ」と「水稻農林29号」の近縁度が高いためと考えられた. 「コシヒカリ」の親である「水稻農林22号」は「水稻農林29号」と同じ組合せ(「農林8号」/「農林6号」)から育成されており, そのため多型検出頻度が低いものと考えられた.

WL158R / 「コシヒカリ」の F<sub>3</sub> 集団において QTL 解析を行った結果, 第11染色体長腕に作用力の大きい1つの QTL が検出された. LOD 値のピークは SSR マーカー RM209 近傍に検出され, このマーカー RM209 の遺伝子型により F<sub>3</sub> 系統群を WL158R 型, ヘテロ型, 「コシヒカリ」型に分類し, それぞれの感染株率の分布を調べた結果, 第1図Aのような分布を示した. RM209 の領域にはこれまでにインド型品種由来の縞葉枯病抵抗性遺伝子

*Stvb-i* が座乗していることが報告されており<sup>1)</sup>, 検出された QTL はこの遺伝子と対立の関係にあると考えられた. WL162 / 「コシヒカリ」 F<sub>3</sub> 集団における QTL 解析の結果, この解析集団でも同様に第11染色体 RM209 近傍に QTL が検出された. そのため, Cゲノム野生種の *O. officinalis* は第11染色体長腕に縞葉枯病抵抗性遺伝子を持ち, WL158R ならびに WL162 にはその抵抗性が導入されたものと考えられた. しかし, 第11染色体の QTL が検出された領域には *O. officinalis* の染色体断片が確認されておらず, 染色体のどの位置に抵抗性が座乗しているのかについては明らかではない. SSR マーカー RM209 と RM229 の間にはマーカー数が非常に少ない領域が約10cM 程度あり, この領域に *O. officinalis* の染色体断片が存在すると推定された. そのため, 今後はこの領域についてマーカーを増やし, さらに解析を進める必要がある.

WL162 / 「コシヒカリ」 F<sub>3</sub> 集団の感染株率の分布は WL158R / 「コシヒカリ」の F<sub>3</sub> 集団よりも抵抗性側に分布が偏っていたため, WL158R と WL162 は異なる縞葉枯病抵抗性遺伝子を持つ, あるいは WL162 は複数の抵抗性に関与する領域を持つものと考えられた (第1図A B). しかし, WL162 / 「コシヒカリ」解析集団においても第11染色体長腕の RM209 近傍に作用力の強い QTL が1つ検出されたのみであった. WL162 / 「コシヒカリ」の解析集団においては第4, 第5, 第10染色体に多型を示すマーカーが少なく, 連鎖地図が構築されていないため, QTL 解析ができなかった領域も多い. しかし, 528種類の SSR マーカーを用いたスクリーニングにおいて多型が検出できなかったことから, これらの領域には *O. officinalis* の染色体断片は挿入されていない可能性が高い. RM209 の遺伝子型によって WL162 / 「コシヒカリ」 F<sub>3</sub> 系統群を WL162 型, ヘテロ型, 「コシヒカリ」型に分類した結果, 第1図Bのような分布を示した. RM209 が「コシヒカリ」型となった系統は1個体が抵抗性側に位置していたが, 全体の分布は WL158R / 「コシヒカリ」の F<sub>3</sub> 集団における「コシヒカリ」型の分布と大差はなく, 第11染色体以外の領域に QTL が座乗している確証は得られなかった. これらの結果から, *O. officinalis* に由来する WL158R ならびに WL162 の

縞葉枯病抵抗性は第11染色体の抵抗性によるものと推察された。

WL162 / 「コシヒカリ」解析集団において RM209 が WL162 型となった系統の分布は WL162 の分布とほぼ一致しており、平均感染株率は18.0%であった。これは WL158R / 「コシヒカリ」解析集団の WL158R 型の平均感染株率 (30.5%) よりも抵抗性側に偏った分布となっており、検出された QTL は両集団において作用力が異なっている可能性が示唆された (第1図 A B)。しかし、本研究で縞葉枯病検定に用いた網室検定法は集団で接種を行うために、各系統に着生するヒメトビウンカによって感染株率は大きく影響される。実際に、感受性比較品種「コシヒカリ」の感染株率は58.3%から90.9%と大きく変動しており、各遺伝子型の系統の分布から QTL の作用力を解析することはできない。そのため、WL158R ならびに WL162 が持つ縞葉枯病抵抗性に関しては、より詳細な抵抗性検定法である幼苗検定法を用いてさらなる調査を行う必要がある。

第11染色体長腕については白葉枯病やいもち病抵抗性などの病害抵抗性遺伝子が数多く座乗していることが知られている。縞葉枯病抵抗性についてもインド型品種由来の抵抗性遺伝子である *Stvb-i* とこの遺伝子と複対立の関係にある日本陸稲由来の抵抗性遺伝子 *Stvb* がこの領域に座乗しており、病害抵抗性遺伝子の成り立ちを考える上で非常に重要な領域となっている。筆者らは日本陸稲である「陸稲関東72号」の縞葉枯病抵抗性に関する QTL 解析を行い、第2と第11染色体に QTL を検出した<sup>5)</sup>。これら2つの QTL は作用力に違いがあることが示唆されており、第2染色体の QTL は感染後の病徴を抑制し、第11染色体 *Stvb* と思われる QTL は感染株率を低下させる作用を持つと考えられた。本研究において WL158R ならびに WL162 に検出された QTL も既存の抵抗性遺伝子が座乗する第11染色体長腕領域に検出されたが、この QTL と *Stvb-i*、*Stvb* との関係ならびに作用力の差異は不明である。今後は対立性検定等を行って既存の遺伝子との関係を明らかにし、縞葉枯病抵抗性の育種に利用可能な遺伝子であるかを調査する必要がある。いずれにせよ、栽培種から遠縁のCゲノム野生種においても同

じ領域に抵抗性に関与する遺伝子が見つかったことは興味深い。

Nemoto *et al.* (1994) は IR50 のヒメトビウンカ抵抗性を調査し、IR50 はウンカに対する抵抗性を持つことを明らかにした<sup>4)</sup>。IR50 の苗を用いて試験管内でウンカを飼育した場合の5日後の生存率は約60%となり、比較品種として用いた「日本晴」の生存率 (96%) から有意に低下することを示した。また、このヒメトビウンカ抵抗性は複数の遺伝子が関与していることが示唆された。本研究における *O. officinalis* の5日後のヒメトビウンカ生存率は16.7%であり、IR50 よりも強い抵抗性を持つと推察される結果となった。しかし、この *O. officinalis* に関しては通常の交配ができないため、抵抗性の遺伝様式ならびに関与する遺伝子数は推定できてはいない。異種ゲノム野生種由来の染色体断片導入系統は染色体に取り込まれる断片の大きさが数 cM 程度と短いため、作用の強い遺伝子以外の選抜は非常に難しい。そのため、*O. officinalis* が持つヒメトビウンカ抵抗性が IR50 の抵抗性と同様に作用力の小さい複数の抵抗性遺伝子によって成り立っているとすれば、ヒメトビウンカ抵抗性を導入した系統の選抜は不可能であると思われる。本試験においても *O. officinalis* の染色体断片導入系統139系統からヒメトビウンカに抵抗性を示す系統の選抜を試みたが、最終的に抵抗性を示す系統は得られなかった。これは選抜に用いた系統数が少なかったためとも考えられるが、ヒメトビウンカ抵抗性は野生種からの抵抗性の導入が難しい形質であると考えられた。しかし、これまでに報告されている縞葉枯病抵抗性は、インド型品種由来<sup>14)</sup> と日本陸稲由来<sup>13)</sup> のウイルス抵抗性の2種類だけであり、縞葉枯病抵抗性の遺伝資源の拡大のためにはヒメトビウンカ抵抗性についても野生種の利用に取り組む意義は大きいと思われる。

WL158R ならびに WL162 における5日後のヒメトビウンカ生存率は両系統とも約90%前後であり、ウンカに対する抵抗性は有していないと考えられるため、この2系統が持つ縞葉枯病抵抗性はウイルスに対する抵抗性であることが明らかとなった。これらの抵抗性系統が持つ縞葉枯病抵抗性に関しては現在利用されている栽培種の抵抗性との相違が明らかでなく、抵抗性育種に利用できるかは不明である。

しかしながら、栽培種から遠く離れた野生種の抵抗性が導入された系統を選抜できたことは大きな意義があり、今後の縞葉枯病抵抗性遺伝子資源の拡大に大きく寄与することができると思われる。今後はさらに別の野生種についても解析を進め、新規の抵抗性遺伝子の探索を継続する。また、野生稲が持つヒメトビウカ抵抗性についても研究を進める必要がある。

## V 謝 辞

本研究の実施にあたり、縞葉枯病抵抗性の検定ならびに SSR マーカー解析を支援していただいた稲育種研究室の小林統子さん、また、解析集団の育成に協力を賜った近畿中国四国農業研究センター業務第1科の皆さんに心よりお礼申し上げる。本研究は農林水産省のグリーンテクノ計画ゲノム育種プロジェクト (GB-1004-8) の課題の一部として遂行した。

## VI 摘 要

新規の縞葉枯病抵抗性を探索するため、*Oryza officinalis* の抵抗性に関する解析を試みた。戻し交雑と胚培養を繰り返して *O. officinalis* の染色体断片を導入した139系統について縞葉枯病抵抗性検定を行った結果、抵抗性を示す2系統 (WL158R, WL162) が選抜された。抵抗性遺伝子の座乗領域を明らかにするため、これらの抵抗性系統と感受性系統である「コシヒカリ」を交雑して F<sub>3</sub> 集団各96系統を作出し、QTL 解析を試みた。SSR マーカーを用いて構築した連鎖地図を基に QTL 解析を行った結果、両集団において第11染色体長腕の同じ領域に QTL が検出された。この領域は既存の抵抗性遺伝子が座乗している領域であるため、対立性検定を行って既知の抵抗性遺伝子との関係を明らかにする必要があると考えられた。

## 引用文献

- 1) Hayano-Saito, Y., K. Saito, M. Iwasaki and A. Saito (1998) Localization of the rice stripe disease resistance gene, *Stv-b<sup>i</sup>*, by graphical genotyping and linkage analyses with molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* 96: 1044–1049.
- 2) Ishii, T., D. S. Brar, D. S. Multani and G. S. Khush (1994) Molecular tagging of genes for brown planthopper resistance and earliness introgressed from *Oryza australiensis* into cultivated rice *O. sativa*. *Genome* 37: 217–221.
- 3) Khush, G. S., E. Bacalangco and T. Ogawa (1991) A new gene for resistance to bacterial blight from *O. longistaminata*. *Rice Genetic Newsletter* 7: 121–122.
- 4) Nemoto, H., K. Ishikawa and E. Shimura (1994) The resistance to rice stripe virus and small brown planthopper in rice variety, IR50. *Breed. Sci.* 44: 13–18.
- 5) Maeda, H., T. Sugisawa, H. Nemoto and Y. Sunohara (2004) QTL Analysis for Rice Stripe Resistance in the Japanese Upland Rice Kanto72. *Breed. Sci.* 54: 19–26.
- 6) McCouch, S.R., L. Teytelman, Y. Xu, K.B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein (2002) Development and Mapping of 2240 New SSR Markers for Rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res* 9: 199–207.
- 7) Multani, D. S., K. K. Jena, D. S. Brar, B. G. de los Reyes, E. R. Angeles and G. S. Khush (1994) Development of monosomic alien addition lines and introgression of genes from *Oryza australiensis* Domin. to cultivated rice *O. sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 88: 102–109.
- 8) Murray, M.G., and W.F. Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res* 8: 4321–4325.
- 9) Panaud, O., X. Chen and S.R. McCouch (1996) Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza Sativa* L.). *Mol Gen Genet* 252: 597–607.

- 10) Temnykh, S., W.D. Park, N. Ayres, S. Cartin-hour, N. Hauck, L. Lipovich, Y.G. Cho, T. Ishii and S.R. McCouch (2000) Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza Sativa* L.). *Theor Appl Genet* 100: 697–712.
- 11) Ukai, Y., R. Ohsawa, A. Saito and T. Hayashi (1995) A package of computer programs for construction of DNA polymorphism linkage maps and analysis of QTL. *Breed. Sci.* 45: 139–142.
- 12) Washio, O., A. Ezuka, Y. Sakurai and K. Toriyama (1967) Studies on the breeding of rice varieties resistant to stripe disease. I. Varietal difference in resistance to stripe disease. *Jpn. J. Breed.* 17: 91–98.
- 13) Washio, O., A. Ezuka, Y. Sakurai and K. Toriyama (1968a) Studies on the breeding of rice varieties resistant to stripe disease. II. Genetic study on resistance to stripe disease in Japanese upland rice. *Jpn. J. Breed.* 18: 96–101.
- 14) Washio, O., A. Ezuka, Y. Sakurai and K. Toriyama (1968b) Studies on the breeding of rice varieties resistant to stripe disease. III. Genetic studies on resistance to stripe in foreign varieties. *Jpn. J. Breed.* 18: 167–172.
- 15) Xiao, J., S. Grandillo, S. N. Ahn, S. R. McCouch and S. D. Tanksley (1996) Genes from wild rice improve yield. *Nature* 384: 223–224.

## QTL analysis for rice stripe disease resistance introduced from *Oryza officinalis* into cultivated rice *O. sativa* L.

Hideo MAEDA\*, Kei MATSUSHITA, Shuichi IIDA, Yoshihiro SUNOHARA, Ryota KAJI\*\*,  
Hideyuki HIRABAYASHI\*\*\* and Tsugufumi OGAWA\*\*\*\*

### Summary

In order to identify novel rice stripe virus (RSV) resistant genes, resistance of wild species *Oryza officinalis* was studied. Two resistant lines, WL158R and WL162, were selected from 139 BC<sub>1</sub>F<sub>3</sub> lines introgressed chromosomal segment from *O. officinalis* into cultivated rice. Using 96 F<sub>2</sub> plants/F<sub>3</sub> lines derived from the crossing between Koshihikari (susceptible) and the two resistant lines, quantitative trait locus (QTL) analyses were performed using SSR markers. As results, one major QTL was detected on the long arm of the chromosome 11 in both populations of WL158R and WL162. The detected QTL region of the chromosome 11 was known to be located on the resistant genes *Stvb-i* and *Stvb*. The relationships between QTL on the chromosome 11 and the two resistant genes were still unknown. Therefore, the relationships should clear through the allelism tests.

---

Department of crop breeding

\*National Institute of Crop Science

\*\*National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region

\*\*\*National Institute of Crop Science

\*\*\*\*Miyazaki University