研究情報

5

同じイネ品種に生じたいもち病菌の 遺伝的な違いをSSRマーカーで識別できる

いもち病菌は、イネ品種が持つ病害 抵抗性や農薬に対して速やかに病原性 や耐性を獲得することが知られていま

す。病原性の獲得はいもち病菌の病原性関連遺伝子の変異により起こりますが、実際の被害はこのような「変異型」の菌が水田のいもち病菌集団全体の中で一定以上の割合になったときに顕在化します。抵抗性や農薬の効果を長持ちさせるためには、どのような条件でより「変異型」の割合が増えやすくなるのかを調べ、それを回避する栽培管理法を明らかにする必要があります。

《SSRマーカーで似通ったいもち病菌を識別する》

水田でのいもち病菌集団の変化をとらえるためには、まずいもち病菌集団の違いを識別しなければなりません。近年は生物のDNA断片の塩基配列の違いで個体を識別する手法が発達し、いもち病菌においてもその一種であるSSRマーカー

水田作研究領域

善林 **基 基 XENBAYASHI**, Kaoru



が開発されています。SSRマーカーは、より近縁な個体同士でも塩基配列の長さが違うことが多いことが知られています。そこで私たちは、数か所のSSRマーカーの塩基配列長を調べ、その組み合わせで個々のいもち病菌をタイプ分けすれば、これまで区別することが難しかった、より似通ったいもち病菌集団を識別できるのではないかと考えました。

① 菌株ごとに12個のSSRマーカーのサイズを、シーケンサーを用いて決定する

	各SSRマーカーのサイズ(塩基数)											
菌株名	а	b	С	d	е	f	g	h	i	j	k	1
A001	212	216	243	254	219	260	262	273	229	177	210	229
A002	212	216	243	266	216	268	244	265	238	163	213	219
A003	212	216	241	266	213	268	250	265	235	163	207	158
A004	212	219	241	254	213	260	244	265	235	161	216	235
:												
									•			
	どのサイズも同じ 適度なサイズバリエーションがあるこの8マーカーを使用 なので使わない								サイズの種類が多 すぎるので使わない			
_											_	

② 8個のSSRマーカーサイズの組み合わせでハプロタイプを決定する

_	SSRマーカー								
菌株名	b	С	d	е	f	g	h	i	ハプロ タイプ
A001	216	243	254	219	260	262	273	229	hp1
A002	216	243	266	216	268	244	265	238	hp2
A003	216	241	266	213	268	250	265	235	hp3
A004	219	241	254	213	260	244	265	235	hp4
:									:

図/各菌株のSSRマーカーのサイズおよび使用マーカーの選定方法と菌株のハプロタイプ判別

表/圃場および発生時期別いもち病菌集団の遺伝的違いの検定結果

圃場		YA			TA		
	採集時期	葉いもち初期	葉いもち後期	穂いもち	葉いもち初期	葉いもち後期	穂いもち
YA	葉いもち初期	-					
	葉いもち後期	0.007	-				
	穂いもち	0.016	-0.004	-			
TA	葉いもち初期	0.110	0.140	0.162	-		
	葉いもち後期	0.208	0.252	0.298	0.042	=	
	穂いもち	0.126	0.155	0.183	-0.006	0.026	-

数値は比較2集団間の遺伝的距離(Fsr)。 赤字は2集団間が遺伝的に差がある(P<0.01)ことを示す。 青枠は同一圃場内、赤枠は異なる圃場間の集団の比較結果。

《同じ地域・同じ品種でもいもち病菌の集団 は違う》

同じJA由来の同じ品種の種籾を使い、互い に1km離れた2カ所の水田で栽培したイネに 発生したいもち病菌を、葉いもち発生初期か ら穂いもちにかけて240菌株採集し、12個の SSRマーカーの塩基配列長(サイズ)を調べ ました。次にすべての菌株で同じサイズしか 検出されなかったマーカーや、サイズの種類 が多すぎるマーカーを除いた、計8個のマー カーのサイズの組み合わせで各菌株のタイプ (ハプロタイプ) を類別しました(図)。この ハプロタイプデータを使い、遺伝的距離とい う指標を用いて、各集団が遺伝的に同じかど うかを解析しました。その結果、異なる水田 のいもち病菌集団は遺伝的に異なるが、同じ 水田内の葉いもちと穂いもちは遺伝的に同じ であると判定されました(表)。

《病害抵抗性のより持続的な利用のために》

今後は、SSRマーカーを用いて、種子伝染や隣接水田からの伝染が発病に及ぼす影響をより正確に評価したうえで、いもち病菌集団が新たな病原性を獲得する際に重要な要素を明らかにしたいと考えています。それが、抵抗性遺伝資源をより長持ちさせる利用方法を示すことにつながると期待しています。