

学位論文題名

GENETICAL STUDIES ON BLAST RESISTANCE
IN TROPICAL RICE CULTIVARS

熱帯イネ品種におけるいもち病抵抗性に関する遺伝学的研究

学位論文内容の要旨

Pyricularia grisea によって引き起こされるイネいもち病は、世界のほとんどの稲作地帯で発生し、特に熱帯地域においてその被害は著しい。いもち病防除の最も効果的な方法の一つに抵抗性品種の育成がある。この方法は農家のコスト負担が少なく、比較的簡単に農家に普及できるため、発展途上国の多い熱帯地域においては非常に有効である。しかし、抵抗性品種を育成するうえで必要な抵抗性遺伝子の同定、あるいはいもち病菌の病原性レースの同定などについては、日本では体系的な研究が多いのに対し、熱帯地域においては未だ十分とは言えない。この理由として、熱帯地域においてはいもち病菌とその宿主であるイネの遺伝変異が大きいこと、抵抗性の1品種中に含まれる抵抗性遺伝子の数が多いため個々の遺伝子に対する分析がほとんどなされていないことなどがあげられる。このため、病原性レースを同定するために必要な判別品種も十分でない。

本研究は、国際稲研究所で育成されたいもち病抵抗性に関する22種類の準同質遺伝子系統（NILs）を用いて、熱帯地域の抵抗性品種のもつ抵抗性遺伝子の同定と、熱帯地域に適した判別品種の確立を目的とした。また、準同質遺伝子系統の効率的な育成法について考察するとともに、分子マーカーによる遺伝子のマッピングも行った。

まず、これらNILs間の関係を整理するとともにNILs中の抵抗性遺伝子と既知の遺伝子との異同を明らかにするため、既知の遺伝子を1つずつもつ清沢の判別品種12品種とNILs22系統との交配を行い、これら雑種のF₂およびF₃世

代を用いて抵抗性遺伝子間の対立性を検証した。この結果、NILsの多くは同一遺伝子を有することが明らかとなり、NILs中に同定された遺伝子は $Pi-1(t)$ 、 $Pi-2(t)$ 、 $Pi-3(t)$ および $Pi-4^a(t)$ の4種の遺伝子のみであった。既知の遺伝子との対応は次の通りである。

$Pi-1(t)$ は染色体11上の $Pi-k$ と6.1%の組換え価で連鎖し、既知のいずれの遺伝子とも異なっていた。

$Pi-2(t)$ は染色体6上の $Pi-z$ と対立関係にあった。

$Pi-3(t)$ は $Pi-i$ と7.0%の組換え価で連鎖し、既知のいずれの遺伝子とも異なった。

$Pi-4^a(t)$ は染色体12上の $Pi-ta$ と同一の遺伝子であった。

またNILsの1つであるC105TTP-4L23は $Pi-ta$ とさらに既知のいずれとも異なる1遺伝子を有することが明らかになった。

以上の結果をもとに、22種のNILsから第一次判別品種として抵抗性遺伝子型が互いに異なる5系統を選んだ。判別品種の遺伝子構成は以下の通りである。

C101LAC ($Pi-1(t)$)

C101A51 ($Pi-2(t)$)

C104PKT ($Pi-3(t)$)

C101PKT ($Pi-ta$)

C105TTP-4L23 ($Pi-ta$, $Pi-?$)

次に、上述の第一次判別品種の病原性レース判別能力を評価するため、NILs、清沢の判別品種および国際判別品種を用いてフィリピン菌系46菌系の病原性レースの判別を行い、それらの能力を比較した。NILsを用いると46菌系は7種の病原性レースに判別された。国際判別品種を用いると、NILsで判別された7レースはさらに10レースへ細分できた。一方、清沢の判別品種ではフィリピン菌系に対して中間的な反応を示す系統があったため、レースの判別は困難であっ

た。3種の判別品種の比較では、国際判別品種の判別能力が一番高く、NILsを判別品種として用いるにはさらに種類を増す必要があると考えられた。清沢の判別品種や国際判別品種は今後のNILs育成のためのDonorとして有効と考えられる。

育成された22種のNILs中の遺伝子はその多くが重複していた一方で、Donor中のいくつかの遺伝子は戻し交雑の過程で欠落していることが判った。このことは、Donorが複数の遺伝子をもつ場合、従来の戻し交雑法のみによるNILsの育成が必ずしも十分ではないことを示していた。より効率的にNILsを育成するには、戻し交雑を始める前にDonorの抵抗性に関しての遺伝子分析が必要となる。分離集団をそのまま固定させる組換え近交系や倍化半数体などは遺伝子分析に複数の菌系の接種が必要ないもち病抵抗性の研究において有用な材料である。同一分離集団に複数の菌系を接種することで、その品種に含まれるすべての遺伝子を検出することが理論的には可能であり、それぞれの遺伝子を1つずつもつ系統を選抜、Donorとして使うことで遺伝子の重複、欠落なしにNILsを育成することが可能となる。また、RFLP分析を併用すれば遺伝的背景に関する選抜も可能であり、2乃至3回の戻し交雑を繰り返したのと同程度のNILsを得ることができる。筆者は以上の方法により、新たに同定された*Pi-5(t)*、*Pi-7(t)*、*Pi-8(t)*に関するNILsを作成した。また、従来ポリジーンに関するNILsの育成は難しいとされていたが、本実験で実際にポリジーン支配のいもち病圃場抵抗性に関するNILsを得ることができた。

NILsのもつ抵抗性遺伝子のうち*Pi-3(t)*は座乗染色体が決定されていなかったが、DNA多型検出法の1つであるRAPD法により*Pi-3(t)*と連鎖する標識マーカ－を作出し、このマーカ－をRAPDハイブリダイゼーション法により既存のRFLPマップに乗せることができる。*Pi-3(t)*は作出されたRAPDマーカ－OPS-08800とOPU-09400にそれぞれ12.4%と0%の組換え価で連鎖し、OPS-08800は染色体3のRFLPマーカ－RG179とRG910の間にあると推定された。これらの結果から、*Pi-3(t)*は染色体3の

RFLPマーカーRG179あるいはRG910の近傍に位置することが推定された。

熱帯地域におけるいもち病抵抗性の体系的研究は現在始まったばかりといえる。栽培品種中の抵抗性遺伝子を同定するとともに、いもち病菌の病原性レースの分布を知ることは抵抗性育種をすすめる上できわめて重要であり、熱帯地域においてこれらの研究をさらに押し進めるべきである。本研究では熱帯地域に適した判別品種を確立すべくNILsの遺伝子分析を進め、新たな抵抗性遺伝子を同定するとともに、第一次判別品種を確立した。また、NILsの効率的な育成方法を考案することで第一次判別品種拡充のための方向を示した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 木 下 俊 郎
副 査 教 授 富 田 房 男
副 査 教 授 三 上 哲 夫

学 位 論 文 題 名

GENETICAL STUDIES ON BLAST RESISTANCE IN TROPICAL RICE CULTIVARS

熱帯イネ品種におけるいもち病抵抗性に関する遺伝学的研究

イネいもち病は、世界のほとんどの稲作地帯、特に熱帯地域においてその被害が著しい。本研究ではいもち病抵抗性品種育成の基礎として重要な抵抗性遺伝子やいもち病菌の病原性レースの同定に関して、熱帯地域におけるイネ品種といもち病菌を用いて解析し、さらに病原性レースを同定するために必要な判別品種を作成した。

本論文は英文で6章より成り、79頁で表21と図8を含む。

まず、国際稲研究所で育成されたいもち病抵抗性に関する22種類の準同質遺伝子系統(NILs)を用いて、抵抗性遺伝子の同定と、熱帯地域に適した判別品種の確立を試みた。また、分子マーカーによる遺伝子のマッピングを行った。

供試したNILs中の抵抗性遺伝子と既知の遺伝子との関係を調べるため、清沢の判別品種12品種とNILs間で交配を行い、F₂集団とF₃系統を用いて遺伝子分析を行った。その結果、NILs中にはPi-1(t)、Pi-2(t)、Pi-3(t)およびPi-4^a(t)の4遺伝子が含まれており、Pi-1(t)は染色体11上のPi-kと6.1%の組換え価で連鎖し、他の抵抗性遺伝子とは異なっていた。また、Pi-2(t)は染色体6上のPi-zと対立関係にあった。Pi-3(t)はPi-iと7.0%の組換え価で連鎖し、他の抵抗性遺伝子とは異なっていた。Pi-4^a(t)は染色体12上のPi-taと同一の遺伝子であった。またNILsの1つのC105TTP-4L23はPi-4^a(t)とともに新しい抵抗性遺伝子を有していた。

N I L s を判別品種として用いる場合には5系統、すなわち、C 1 0 1 L A C (*Pi-1(t)*)、C 1 0 1 A 5 1 (*Pi-2(t)*)、C 1 0 4 P K T (*Pi-3(t)*)、C 1 0 1 P K T (*Pi-ta*)、C 1 0 5 T T P - 4 L 2 3 (*Pi-ta*, *Pi-?*)を用いるのが適当であった。これらの第一次判別品種の病原性レースの判別能力を評価した結果、46菌系は7種の病原性レースに判別された。もし国際判別品種を用いると、N I L s で判別される7レースは10レースにまで細分できた。一方、清沢の判別品種ではフィリピン菌系に対して中間的な反応を示す系統があったため、レースの判別には適さなかった。

22種のN I L s 中の遺伝子は上述の如くその多くが重複している反面、抵抗性遺伝子を戻し交雑の過程で欠落した場合もあった。したがって、より効率的にN I L s を育成するためには、分離集団をそのまま固定させた組換え近交系を使い、複合型いもち病抵抗性系統を育成するとよいことが判った。また、R F L P分析を併用するならば遺伝的背景を斉一化したN I L s を容易に得ることができた。以上の方法により、新たに*Pi-5(t)*、*Pi-7(t)*、*Pi-8(t)*に関するN I L s を得た。また、実際にポリゾン支配のいもち病圃場抵抗性に関するN I L s も作ることができた。

N I L s のもつ抵抗性遺伝子のうち*Pi-3(t)*と連鎖するR A P Dマーカーを作出し、R F L P地図へ乗せることができた。すなわち、*Pi-3(t)*はO P S - 0 8₈₀₀ やO P U - 0 9₄₀₀ にそれぞれ12.4%と0%の組換え価で連鎖し、染色体3のR F L PマーカーであるR G 1 7 9もしくはR G 9 1 0の近傍に位置することが判った。

熱帯地域におけるいもち病抵抗性の体系的研究は現在始まったばかりであり、栽培品種中の抵抗性遺伝子を同定することや、いもち病菌の病原性レースの分布を知ることができた事は抵抗性育種を進める上できわめて重要であった。また、熱帯地域に適した判別品種の確立や、新たな抵抗性遺伝子を見出したことで、イネいもち病抵抗性育種に大きな貢献をした。

よって審査員一同は別に行った学力確認試験の結果と合わせて、本論文の提出者犬飼剛は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格があるものと認定した。