

## 論文の要約

氏名：安 田 伸 子

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：イネのいもち病抵抗性遺伝子の解析と遺伝子間相互作用

いもち病はいもち病菌 *Magnaporthe oryzae* によって引き起こされるイネの重要病害である。いもち病の防除には、農薬とともに古くから抵抗性品種が利用されており、特に近年は環境への配慮や低コストの要望から品種抵抗性への期待が大きくなっている。しかし、新たな抵抗性遺伝子を持つ品種を導入すると、これを侵す新たな病原性を獲得したいもち病菌レースが出現し、抵抗性が崩壊する現象が繰り返されてきた。このような背景から、新たないもち病菌レースの出現や蔓延を抑えて、抵抗性遺伝子を持続的に利用するための技術の開発が求められ、そのためには、いもち病菌の病原性の遺伝様式やイネの抵抗性発現機構の解明が重要であると考えられている。

イネ品種のいもち病に対する抵抗性は、イネの抵抗性遺伝子といもち病菌の非病原性遺伝子の1対1の特異的対応関係が成立した場合に発現するという、遺伝子対遺伝子説に従うと考えられている。従って、品種の罹病化をもたらす病原性レースは、非病原性遺伝子の変異により出現すると考えられている。しかし、いもち病菌の非病原性遺伝子の解析例は少なく、特に日本で利用されている抵抗性遺伝子 (*Pish*, *Pik-s*, *Pik-h*, *Pia*, *Pii*, *Pik*, *Pik-m*, *Piz*, *Pita*, *Pita-2*, *Piz-t*, *Pik-p*, *Pib*, および *Pit*) に対する病原性の遺伝様式は、解析に必要な交配可能な菌株が少ないため、ほとんど不明である。

一方、イネのいもち病抵抗性の発現機構に関しては、その全体像は、未だに把握されていない。抵抗性反応の結果として現れる病斑は、無病徴、褐点、ハローを伴う大きな病斑などイネ品種により様々であり、多様な抵抗性反応の発現要因、とりわけ抵抗性遺伝子との関係や遺伝子間の相互作用については依然として整理できていない。

以上の背景のもと、本研究では、日本で利用されているイネのいもち病抵抗性遺伝子と、これに対応するいもち病菌の非病原性遺伝子を同定し、遺伝子対遺伝子説が成立することを証明した。また、いもち病菌の病原性変異機構解明のために、非病原性遺伝子と分子マーカーとの連鎖地図を作成した。次に、遺伝子対遺伝子の関係を証明した組み合わせを用いて、イネの抵抗性発現機構の解明を行った。具体的には、抵抗性反応と抵抗性遺伝子との関係ならびに複数の抵抗性遺伝子を共存させた場合の抵抗性反応を解析し、遺伝子相互の関係について検討した。

## 1 イネいもち病菌の非病原性遺伝子の同定と遺伝子対遺伝子説の証明

### (1) イネいもち病菌の非病原性遺伝子の同定

日本で利用されているイネの抵抗性遺伝子に対する、いもち病菌の非病原性遺伝子を同定するため、イネ品種「石狩白毛」、「愛知旭」、および「K59」に対して病原性の異なる菌株を交配した。後代菌株における非病原性菌株と病原性菌株の比はいずれも 1 : 1 に適合し、これら 3 品種に対するいもち病菌の非病原性遺伝子がそれぞれ同定された。また、イネ品種「八反 3 号」ほか 13 品種の全てに対して非病原性菌株と病原性菌株との交配後代の病原性の分離から、「八反 3 号」ほか 13 品種に対して共通に作用するいもち病菌の非病原性遺伝子を同定した。

### (2) イネいもち病菌における遺伝子対遺伝子説の証明

同定されたいもち病菌の非病原性遺伝子に対応するイネの抵抗性遺伝子を明らかにするため、「石狩白毛」、「愛知旭」、および「K59」と罹病性のイネ品種「農林 3 号」とをそれぞれ交配した F<sub>3</sub> 系統に、抵抗性遺伝子 *Pii*、*Pia*、および *Pit* の同定に用いられたテスター菌株と、本研究で同定された非病原性遺伝子を有する菌株の両方を接種した結果、両菌株に対する各系統の反応が完全に一致し、本研究で同定された非病原性遺伝子は、それぞれ *Pii*、*Pia*、および *Pit* に対応していることが示された。同様に、F<sub>3</sub> 系統の育成と接種を行い、「八反 3 号」ほか 13 品種に対する非病原性遺伝子は、*Pik* 座にある抵抗性遺伝子に対応していること示された。

以上より、本研究で検討したイネ品種といもち病菌の間に、遺伝子対遺伝子説の成立が示された。同定されたいもち病菌の非病原性遺伝子を、それぞれ *AvrPii*、*AvrPia*、*AvrPit*、および *AvrHattan3* と命名した。

### (3) イネいもち病菌の非病原性遺伝子のマッピング

同定した 3 個の非病原性遺伝子、*AvrPii*、*AvrPia*、および *AvrHattan3* について、分子マーカーとの連鎖地図を作成した。*AvrPii* は、Nitta らの染色体地図の第 7 染色体テロメア近傍のマーカー *G131R* と密接に連鎖していることから、テロメア近くに位置していると推察された。

## 2 イネのいもち病抵抗性遺伝子の抵抗性反応と抵抗性遺伝子間の相互作用

イネのいもち病抵抗性遺伝子は、作用力の違いにより、質的抵抗性遺伝子と量的抵抗性遺伝子に分類される。質的抵抗性遺伝子は、イネの過敏感細胞死を伴うなど、罹病性の病斑がほとんど形成されない高度な抵抗性を発揮する。一方、量的抵抗性遺伝子は、罹病性の病斑は形成するが、圃場での病気の蔓延速度を抑制し、比較的作用が小さい。

本研究では、イネの抵抗性発現機構を解明する目的で、質的抵抗性遺伝子と量的抵抗性遺伝子

のそれぞれについて、遺伝子と抵抗性反応との関係および遺伝子間相互作用について検討した。

#### (1) 質的抵抗性遺伝子

イネ品種は複数の質的抵抗性遺伝子を保有することがあり、接種するいもち病菌株によって異なる抵抗性遺伝子が働く場合がある。そこで、本研究で同定した4個の非病原性遺伝子 (*AvrPia*、*AvrPii*、*AvrHattan3*、および *AvrPit*) を1個ずつ有する菌株と、これに対応する質的抵抗性遺伝子 (*Pia*、*Pii*、*PiHattan3*、および *Pit*) を持つイネ品種の組み合わせにおいて形成される抵抗性病斑型を比較した。その結果、*Pia*、*Pii*、*PiHattan3* および *Pit* を保有する品種は、それぞれ小褐点、大褐点、無病徴、およびハロー病斑を形成し、抵抗性反応 (病斑型) と抵抗性遺伝子との間に密接な関係のあることが明らかになった。一方、2個の遺伝子が同時に関与する場合には、それぞれ *Pia* と *Pii* では *Pia* 型の小褐点病斑に、*PiHattan3* と *Pit* では、*PiHattan3* の無病徴病斑となり、病斑型のより小さい方の抵抗性遺伝子の反応が優先した。

非病原性いもち病菌株を接種したイネでは抵抗性が誘導され、病原性菌株による発病が抑制される。この時の発病抑制効果は、*AvrPia* による小褐点より *AvrPii* による大褐点の方が大きく、また *AvrHattan3* の無病徴より *AvrPit* によるハロー病斑の方が大きかった。このように、より大きな抵抗性病斑を形成する非病原性遺伝子の方がより強い発病抑制効果を示すことが明らかとなった。2個の遺伝子が関与した時の発病抑制効果は、*AvrPii* と *AvrPia* では、*AvrPia* 単独と同程度となり、*AvrPit* と *AvrHattan3* では、*AvrHattan3* 単独と同程度となったことから、病斑型のより小さい方の抵抗性遺伝子の反応、つまり発病抑制効果の小さい方の反応が優先することが示された。

#### (2) 量的抵抗性遺伝子

量的抵抗性遺伝子は、一般に一つのイネ品種の中に多数存在するため、目的とする量的抵抗性遺伝子の効果は、それ以外の遺伝子の効果により攪乱される危険性がある。そこで、目的とする遺伝子以外の遺伝的背景を揃えるため、3個の量的抵抗性遺伝子 *pi21*、*Pi34*、*Pi35* をそれぞれ1個ずつ、あるいは2個ずつ導入した「コシヒカリ」の戻し交雑系統を作成した。これらの系統にいもち病菌を接種し、感染過程ごとに①侵入率、②感染初期の菌糸伸展程度、③病斑数、④病斑の伸長程度、⑤病斑面積率の5項目を比較し、各遺伝子の抵抗性反応と遺伝子間相互作用、ならびに集積効果を検討した。

その結果、*Pi34* は感染初期の菌糸伸展を強く抑制し、また病斑数と病斑面積をわずかに抑制したのに対し、*pi21* は病斑数と横方向への病斑拡大を強く抑制し、病斑面積を抑制した。*Pi35* は侵入率以外の全過程を強く抑制した。このように、抵抗性遺伝子の種類により抑制する感染過程

と抑制程度に違いが見られた。なお、いずれの抵抗性遺伝子も、いもち病菌の侵入率には影響しなかった。

2個の抵抗性遺伝子を集積した場合の抑制効果は、例えば、*pi21*を*Pi34*または*Pi35*と集積した時の感染初期の菌糸伸展抑制は、それぞれ*Pi34*または*Pi35*単独と同じであった。また、*Pi34*と*Pi35*を集積した時の病斑数および病斑面積抑制は、いずれも*Pi35*単独と同等で、抑制効果のより強い方の遺伝子の反応が優先する結果となった。

これに対して、*Pi34*と*Pi35*を集積した時の感染初期の菌糸伸展抑制は、*Pi34*または*Pi35*単独の場合よりも大きくなった。また、*pi21*を*Pi34*または*Pi35*と集積した時の病斑数や病斑面積抑制も、それぞれの遺伝子単独の場合よりも大きくなった。このように集積した遺伝子間に相乗効果が現れるのは、組み合わせた2個の遺伝子の抑制する感染過程やイネ組織が互いに異なることに起因しており、感染過程やイネ組織ごとに優先する抵抗性遺伝子が入れ替わる結果であると考えられる。

以上の結果から、量的抵抗性遺伝子を集積においては、抑制する感染過程が異なるものを組み合わせることにより、より大きな抑制効果を発揮すると考えられた。

## 総括

植物の病原体に対する抵抗性反応は、病原体の持つ非病原性遺伝子と植物の抵抗性遺伝子の1対1の特異的対応関係によって決定される（遺伝子対遺伝子説）と考えられている。本研究は、イネの3つの抵抗性遺伝子*Pii*、*Pia*、*Pit*の全てにおいて、このような対応関係を示し、いもち病菌における遺伝子対遺伝子説の成立を証明した。

抵抗性遺伝子の種類と抵抗性反応の関係では、無病徴、小褐点、大褐点等の抵抗性反応（病斑型）の違いが抵抗性遺伝子と対応する非病原性遺伝子の組み合わせにより決定することを示した。このような抵抗性遺伝子と病斑型の密接な関係は、質的抵抗性遺伝子と量的抵抗性遺伝子の両方で認められる共通したものである。2組の遺伝子が同時に関与する場合には、片方の遺伝子単独の効果のみが現れる時と、両方の遺伝子の相乗効果が表れる時の両方が見られた。このため、1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組み合わせを用いることが重要であると考えられる。