

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月19日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07264

研究課題名(和文) イネの開花期病害抵抗性の解明 - 柱頭表面における菌の増殖を阻止する

研究課題名(英文) Analysis for disease resistance of heading stage in rice, preventing the increase of bacteria on the surface of stigma.

研究代表者

溝淵 律子 (Mizobuchi, Ritsuko)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・次世代作物開発研究センター・ユニット長

研究者番号：40425591

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：イネにおける代表的な開花期病害の一つであるもみ枯細菌病菌に対する穂枯れ抵抗性遺伝子の単離を目指し、抵抗性品種Kと罹病性品種Hを用いて遺伝解析集団を作出し、候補領域内の組み換え固定系統対について切り穂検定を行い、候補領域を12.7kbまで絞り込み予測遺伝子を1個に絞ることに成功した。もみ枯細菌病は、日本および世界で発生の増大が懸念されている病害であるが今まで抵抗性遺伝子を単離して機能を明らかにした報告はない。従って、本研究成果は、学術的および育種的に重要な知見であり、今後は本研究で見出した予測遺伝子が真の原因遺伝子であるかどうかを明らかにしていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、イネにおける代表的な開花期病害の一つであるもみ枯細菌病菌に対する抵抗性遺伝子の単離を目指し、抵抗性品種Kと罹病性品種Hを用いて作出した遺伝解析集団の抵抗性評価を進めることにより、予測遺伝子を1個に絞ることに成功した。もみ枯細菌病は、日本および世界で発生の増大が懸念されている病害であるが今まで抵抗性遺伝子を単離して機能を明らかにした報告はない。従って、本研究成果は、学術的および育種的に重要な知見である。

研究成果の概要(英文)：The objective of this study is cloning the QTL for resistance to bacterial grain rot, caused by the bacterial pathogen *Burkholderia glumae*, which is a destructive disease in heading stage of rice. We analyzed the backcrossed inbred lines derived from a cross between K (resistant) and H (susceptible). After substitution mapping, the QTL was located in a 12.7-kb interval and only one gene was annotated in the region.

研究分野：植物育種学

キーワード：イネ 病害抵抗性 もみ枯細菌病

1. 研究開始当初の背景

微生物は、植物に病害を引き起こす「病原菌」と植物体の表面上に存在しているにも関わらず全く害を与えない「植物生息菌」に分類される。植物表生細菌の一つである「もみ枯細菌病菌」は特殊な感染機構を有している。すなわち、イネが田んぼに移植されてから出穂までは葉面上で無害の植物生息菌として存在するが、開花期には穎花(もみ)の内側の表面で増殖し、病原細菌として毒素を分泌することにより、籾の褐変や胚の生長抑制を引き起こし、籾(玄米)に多大な被害をもたらす。このことは、もみ枯細菌病菌は、通常の病原菌が植物組織内に侵入して組織内部の抵抗性反応に打ち勝って増殖するのは全く異なる発病メカニズムを持っていることを示唆する。従って、このような発病メカニズムを持っている病害に対しては、従来解析が進められている植物の抵抗性遺伝子等では作用しない可能性が考えられ、「**植物体の表面で菌の増殖を阻止する戦略**」が植物体にとっては必要である。研究代表者は、穎花を開花日ごとに分けて抵抗性を比較したところ、開花1日後以降に菌に感染させると抵抗性品種は抵抗性を示すことから(清淵ら(2012)日本植物病理学会大会)、イネ側の開花後の状態の変化が抵抗性に影響を与えていると推測される。さらに、研究代表者は新たな検定法を確立することにより、複数のもみ枯細菌病抵抗性遺伝子を見出すことに成功し(Mizobuchi et al. (2013) Rice, Mizobuchi et al. (2013) TAG)、現在解析を進めている。すでに、もみ枯細菌病抵抗性遺伝子 *RBG2* が第1染色体上に存在し、染色体上における抵抗性遺伝子の候補領域を約500kb以内まで絞りこみを進めている。そこで、本研究では、新規の機能を有する可能性があるイネにおけるもみ枯細菌病抵抗性遺伝子 *RBG2* の単離および機能解明を行い、植物の生存戦略を明らかにする。

2. 研究の目的

本研究では、植物表生細菌である「もみ枯細菌病菌」の抵抗性遺伝子の機能解析を行う。もみ枯細菌病菌は、葉面上では無害の表生細菌として存在するが、開花後に穎花(もみ)の内部に侵入すると増殖し、病原細菌へと相転換をする特殊な感染機構を有しているが、どのように病原性を獲得しているのかは不明である。本研究では、新規の機能を有する可能性があるイネにおけるもみ枯細菌病抵抗性遺伝子 *RBG2* の単離および機能解明を行い、植物の生存戦略を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) もみ枯細菌病抵抗性遺伝子の候補遺伝子の絞り込み

研究開始時点で、もみ枯細菌病抵抗性遺伝子 *RBG2* が第1染色体上に存在し、染色体上における抵抗性遺伝子の候補領域を約500kb以内まで絞りこみを進めている。そこで、抵抗性検定を行った集団の後代(約3000個体)から候補領域内で組換えの起きた個体を選抜し、圃場または温室で栽培して切り穂検定を行うとともに、各個体の抵抗性遺伝子近傍のDNAマーカーの遺伝子型を調査してさらに抵抗性遺伝子の候補領域(QTL領域)を20kb以内まで絞りこむ。

(2) 突然変異体の選抜と抵抗性評価

Tilling法を用いて、抵抗性遺伝子の候補遺伝子についての変異体をコシヒカリに変異原処理を行った変異体集団から選抜する。また各々の突然変異体は変異原処理によって予測遺伝子以外の遺伝子の変異も多数発生していることから、各々の系統について予測遺伝子の変異ホモ型とコシヒカリ型を対にして検定を行う。

(3) 作出した準同質遺伝子系統の評価

RBG2-NIL(QTL領域(約30kb)を罹病性品種に導入した系統)について、日本の主な栽培品種43品種と抵抗性比較を行った。抵抗性程度について評価済の世界コアコレクションから12品種もあわせて検定した。出穂期が近い品種をグループ分けし、各々の検定には罹病性品種と抵抗性品種を移植を複数回繰り返し出穂期を広げることにより比較として入れた。比較品種の発病度の各々の平均値を用いて、供試品種の実測値から補正值を求め各々の品種の発病度とした。検定方法は論文(Mizobuchi et al. Rice, 2013, 6:13)に記述したやり方に従った。

4. 研究成果

(1) 候補領域内の組み換え固定系統対について切り穂検定を行ったところ、候補領域は12.7kbまで絞り込むことができた。予測遺伝子を1個に絞ることに成功した。予測遺伝子はRiceXProデータベース情報からは、柱頭上での発現がある遺伝子であることがわかった。

(2) TILLING法を用いて得られた合計10系統のうち、8系統は変異体ホモ個体を選抜することができた。変異体ホモ個体が得られた系統について、切り穂検定を行ったところ、2系統が原品種のコシヒカリと発病程度が同じで、2系統がより抵抗性を示し、4系統が逆により罹病性を示した。複数年による検定結果から、予測遺伝子がもみ枯細菌病抵抗性へ関与する可能性が高いことが示唆された。

(3) 遺伝子型調査を詳細に行うことにより、抵抗性遺伝子領域を狭小化(約30kb)して罹病性品種に導入した系統を選抜することができた(*RBG2*-NIL)。NILについて切り穂検定を行ったところ発病度は「3.2」であり、抵抗性遺伝子の由来品種には及ばないものの、明確な抵抗性程度を示すことがわかった(Fig.1)。このことは解析対象とする抵抗性遺伝子が応用研究(品種育成)にも役立つ遺伝子であることを示唆している。

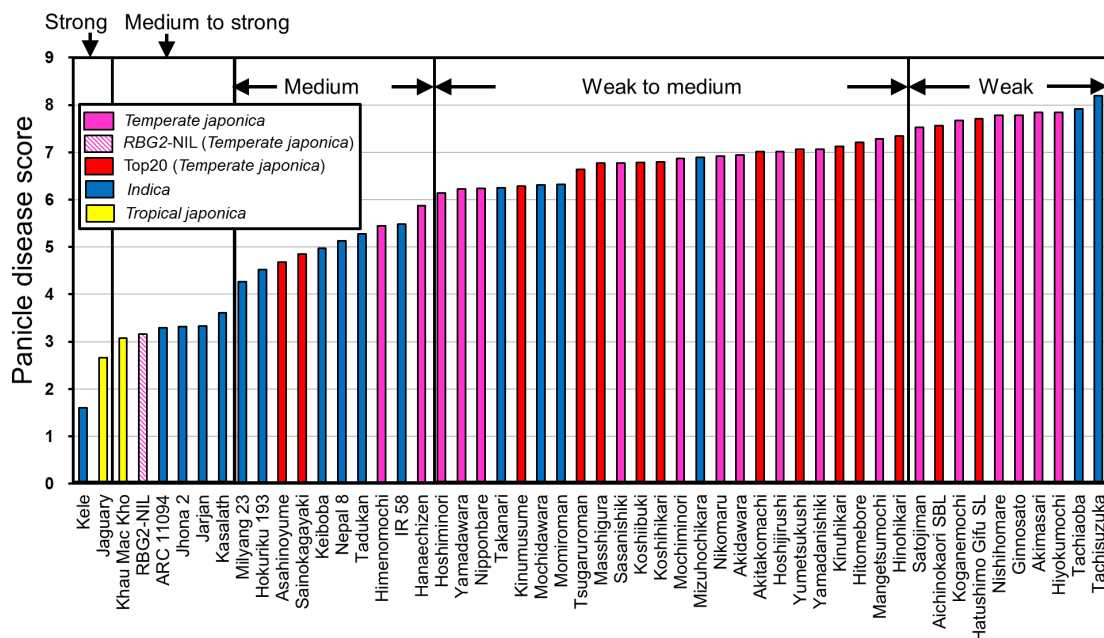


Fig. 1. Panicle disease scores of cultivars analyzed. Pink bars, temperate japonica; a pink diagonal hatching bar, RBG2-NIL; red bars, “top 20” cultivars (temperate japonica); blue bars, indica; yellow bars, tropical japonica. “Top 20” cultivars are Japanese non-glutinous cultivars (excluding Hokkaido) together representing about 80% of the cultivated rice area in Japan in 2016. 論文 (1) より転載

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

(1) Evaluation of major Japanese rice cultivars for resistance to bacterial grain rot caused by *Burkholderia glumae* and identification of standard cultivars for resistance.

Mizobuchi R, Fukuoka S, Tsuiki C, Tsushima S, Sato H.
Breeding Science 68(4) 413-419 2018年、査読有り
Doi:10.1270/jsbbs.18018

(2) QTLs for resistance to major rice diseases exacerbated by global warming: brown spot, bacterial seedling rot, and bacterial grain rot.

Mizobuchi R, Fukuoka S, Tsushima S, Yano M, Sato H
Rice (New York, N.Y.) 9(1) 23 2016年、査読有り
Doi:10.1186/s12284-016-0095-4

[学会発表](計 2 件)

(1) **溝淵律子**, 福岡修一, 對木千加子, 對馬誠也, 佐藤宏之

日本の主要水稲品種のもみ枯細菌病菌によるもみ枯抵抗性の評価および基準品種の選定
日本育種学会、2018年

(2) **溝淵律子**, 福岡修一, 對木千加子, 對馬誠也, 佐藤宏之

イネにおけるもみ枯細菌病抵抗性遺伝子 *RBG3* の詳細マッピングおよび抵抗性遺伝子 *RBG2* との集積効果、日本育種学会、2017年

[その他](計 2 件)

(1) **溝淵律子**, セミナー「病害抵抗性育種の最前線～もみ枯細菌病とごま葉枯病を中心として～」富山県農林水産総合技術センター、2018年11月8日 招待講演

(2) **溝淵律子**「温暖化に負けない新品種を目指して～もみ枯細菌病抵抗性遺伝子の探索と利用～」シンポジウム[競争力の高い水稲品種開発に向けたDNAマーカー技術の活用と連携]、東京大学弥生講堂、2017年6月27日 招待講演

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：吉田 重信

ローマ字氏名：Yoshida Shigenobu

所属研究機関名：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
部局名：中央農業研究センター
職名：グループ長
研究者番号（8桁）：90354125

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。