

機関番号：17102

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20580007

研究課題名 (和文) ウンカ耐虫性遺伝子に関するイネの国際判別近似同質遺伝子系統の開発と利用

研究課題名 (英文) Development of differential near-isogenic lines of rice those carry genes for resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* [Stål]) and their global use for genetics and breeding

研究代表者

安井 秀 (YASUI HIDESHI)

九州大学・農学研究院・准教授

研究者番号：70220142

研究成果の概要 (和文)：

水稲品種台中 65 号を遺伝的背景とする *BPH25* と *BPH26* (*bph20(t)* と *Bph21(t)* より改名) に関する NIL 群を育成して公表した。さらに、これらのトビロウンカ抵抗性遺伝子 *BPH25* と *BPH26* に関する国際判別 NIL 群 (B6Fn 世代: T65 を遺伝的背景) を供試し、個体別抗生作用検定法により 2006 年採集アジア地域トビロウンカ個体群の上記抵抗性遺伝子に対する加害性を検証した。その結果、ミンダナオ島採集個体群を除いたすべてのアジア地域 BPH 個体群に対して *BPH25* は感受性であり、アジア地域 BPH 個体群の半数に対して *BPH26* も感受性であった。一方、*BPH25* と *BPH26* の集積系統 (PYL) は、ベトナム南部採集トビロウンカ個体群を除いた全アジア地域のトビロウンカ個体群に対して強度抵抗性であった。

研究成果の概要 (英文)：

The brown planthopper [BPH; *Nilaparvata lugens* (Stål.)] is one of the most destructive insect pests in Asian rice-growing areas. Near-isogenic lines (NILs) for two genes conferring resistance to BPH, *BPH25(t)* and *BPH26(t)* derived from a BPH-resistant *indica* rice cultivar, *Oryza sativa* ADR52, were developed. To characterize the virulence of the most recently migrated BPH strain in Asia, preliminary near-isogenic lines (pre-NILs) and a preliminary pyramided line (pre-PYL) carrying *BPH25* and *BPH26* were evaluated. Although both pre-NILs were susceptible to the virulent BPH strain, the pre-PYL exhibited a high level of resistance. The pyramiding of resistance genes is likely to be effective for increasing the durability of resistance against the new virulent BPH strain in Asia except Southern Vietnam.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：国際判別系統，耐虫性遺伝子，イネ，ウンカ，近似同質遺伝子系統(NIL)，遺伝子集積系統 (PYL)，耐ウンカ抵抗性遺伝子，ウンカ加害性

1. 研究開始当初の背景

作物が保有する耐虫性は、環境耐性や耐病性とならんで重要な育種目標である。トビイロウンカ (*Nilaparvata lugens* Stål) とセジロウンカ (*Sogatella furcifera* Horváth) は、アジア稲作地帯の重要害虫であり、熱帯、温帯地域を問わず、虫害の中で最も大きな収量低減要因である。そのため、以前より組織的な抵抗性品種の探索がなされ、抵抗性遺伝子の同定や利用が進んでいた。これらウンカ類に対するイネの抵抗性は一部のインド型品種や野生イネで報告があり、これまでに 19 のトビイロウンカ抵抗性遺伝子と、6 つのセジロウンカ抵抗性遺伝子が同定されている。

1970 年代以降に推進されたウンカ類に対する耐虫性育種では、表現型選抜による限界から単一の遺伝子を導入したケースがほとんどで、初期に同定されたトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *Bph1* や *bph2* を導入した育成系統は、これらの遺伝子を加害する新たなトビイロウンカ個体群 (バイオタイプ) の出現により育成後数年を経ずしてその抵抗性が崩壊した。この現象は、ウンカの周年発生地ではない中国や韓国、日本にも波及し、1980 年代に *Bph1*、1990 年代に *bph2* を導入した育成系統の抵抗性が相次いで消失したことは我が国のイネ耐虫性育種における最大の挫折であった。新たなバイオタイプの出現による品種崩壊を克服するためには、野生種を含む耐虫性系統に由来する新たな抵抗性遺伝子構成を持つ耐虫性品種の育成が不可欠である。それと同時に抵抗性品種の安定的利用のためには、新規抵抗性遺伝子もしくは複数の抵抗性遺伝子の組み合わせに対する東アジアウンカ地域個体群の加害性を定期的に把握できるシステムの構築が急務である。

研究代表者らは、ウンカ類に対する国際判別品種ならびに強度抵抗性品種が保有する抵抗性遺伝子群を明らかにする目的から、これら品種の QTL 解析を行い、多くの場合、複数の抵抗性遺伝子座の存在を明らかにした (Sonoda *et al.* 2003, Yasui 2005, 基盤研究 C 17580007)。この事実は、品種抵抗性の崩壊を考える場合に、QTL 解析で得られた抵抗性遺伝子座の位置情報が今後の耐虫性遺伝子に関する基礎研究や育種事業のスタートラインであることを意味する。従って、これらの抵抗性遺伝子座のマップ情報に基づいて育成される NIL 群が、今後のウンカ個体群の加害性評価の判別系統に利用されるべきであり、そのためには熱帯ならびに温帯のウンカ発生地域において利用可能な広域適応性を有する国際判別 NIL 群が必要であ

ると考えた。

既に日本型品種台中 65 号を遺伝的背景にする NIL 群については一部利用可能な段階にあるが、研究面のみならず育種事業への貢献を考えた場合、国際的な利用を視野に入れたインド型品種 (IR24) を遺伝的背景とする NIL 群の開発が急務である。これらの系統は、重要害虫であるウンカの周年発生地である熱帯アジア地域では育成品種として利用される可能性も高く、その利用に当たって抵抗性の崩壊を回避するためには、国際判別 NIL 群に対するウンカ加害性の基礎データ集積が不可欠である。これらの国際判別 NIL 群を開発することにより、ウンカ発生地である熱帯アジアならびにオセアニア全域におけるウンカ個体群の加害性をより詳細かつ正確に評価することが可能になる。

本研究課題では、日本のウンカの飛来源とされる北部ベトナムのウンカ個体群を手始めとして、ウンカが移動する中国や韓国を含む東アジア地域のウンカ個体群の国際判別 NIL 群に対する加害性評価に拡張することにより、ウンカ加害性モニタリングの国際ネットワークを確立することを目的とする。また、日本型品種台中 65 号を遺伝的背景にする NIL 群の育成により、抵抗性に関する吸汁抑制物質等の化合物の特定を可能とする。

2. 研究の目的

本課題では、まず、広域適応性を有する日印両品種を遺伝的背景に持ち、ウンカに対する抵抗性を示すインド型品種に由来する単一ならびに複数の抵抗性遺伝子を導入した NIL 群を育成する。これまでに実施した QTL 解析結果に基づいて、受容品種の戻し交雑と抵抗性遺伝子座近傍の DNA マーカー利用を組み合わせた効率的なマーカー選抜を実施する。実施に当たっては国際イネ研究所の世代促進圃場と交配システムを利用し、現在所有する B1F1 種子から短期間で B4F2 世代を育成して日印両品種の遺伝的背景を持つ国際判別 NIL 群を育成する。一方、既に完成の領域に近い戻し交雑第 6 世代にある NIL については、日本に飛来したトビイロウンカ個体群 (1966 年, 1989 年, 1999 年, 2005 年) や、日本に飛来するウンカの飛来源とされる北部ベトナム紅河デルタ地域のウンカ個体群の、個々のウンカ抵抗性遺伝子に対する加害性をモニタリング (実験室レベル検定と現地調査) する。最終的には、ウンカが長距離移動する東アジア地域から収集したウンカ地域個体群の加害性評価を実施して、個々のウンカ抵抗性遺伝子に対するウンカ

加害性評価の国際ネットワークを確立する。また、育成したNIL群を利用してウンカ類の吸汁抑制に関与する化合物の特定を目指す。

研究期間中の具体的な到達目標は、まず、(1) ウンカ類に対する抵抗性遺伝子に関する国際判別NIL群の開発であり、これらを利用して、(2) 東アジアウンカ地域個体群のウンカ抵抗性遺伝子に対する加害性の評価と、(3) ウンカ吸汁抑制化合物の特定を目指す。

3. 研究の方法

本申請課題は、以下の3課題から構成され、(1)の成果をベースに(2)と(3)を展開して、安定な耐虫性品種の遺伝的モデルの構築と耐虫性の化学的根拠の解明を目指す。

(1). ウンカ耐虫性遺伝子に関する国際判別NIL群の開発(安井)

(2). 国際判別NIL群を用いたウンカ地域個体群の加害性評価(安井・松村)

(3). 国際判別NIL群を用いた吸汁抑制成分の単離・同定(安井・山田)

本研究は、九州大学ならびに九州沖縄農業研究センターでそれぞれ実施したが、NIL群の開発については国際イネ研究所(フィリピン)、NIL群に対するウンカ個体群の加害性検定の一部はベトナム国立植物保護研究所との連携のもとで、研究代表者もしくは研究分担者(松村正哉)が出張して実施した。すなわち、研究代表者は、国際イネ研究所の協力のもとで抵抗性系統と感受性系統の雑種後代の戻し交雑と対象QTLのマーカー選抜を実施して、国際判別NIL群を開発した。松村は、国際判別NIL群を用いて、日本に飛来したウンカ個体群の加害性検定を実施するとともに、ベトナム国立植物保護研究所の協力のもと、NIL群に対するベトナム紅河地域ウンカ個体群の加害性を調査した。山田直隆(研究分担者)は、国際判別NIL群を利用してウンカ吸汁抑制化合物の特定を目指した。

(1). 国際判別NIL群の育成(安井): 海外共同研究者(P. Virk, D. Fujita, IRRI, フィリピン)

植物材料: $B_1F_1 \rightarrow B_2F_1 \rightarrow B_3F_1 \rightarrow B_4F_1 \rightarrow B_4F_2$

トビイロウンカ耐虫性を保有するインド型水稻品種5品種と野生イネ系統について、T65ならびにIR24を戻し交雑した後代を育成し、マーカー選抜によりイネのウンカ抵抗性に関するQTL領域を含むNIL候補個体を取得する。国際イネ研究所で世代促進することにより、 B_4F_2 種子の取得をめざした。

(2). ウンカ個体群の加害性評価(安井・松村): 海外共同研究者(Dinh Van Thanh,

NIPP, Vietnam)

植物材料: *BPH25*, *BPH26*に関する国際判別NIL群

昆虫個体群: 日本採集 BPH 個体群(採集年: 1966, 1989, 1999, 2005)

北部ベトナム BPH 個体群(ベトナム紅河デルタ-現地試験-)

強度抵抗性品種 ADR52 に由来する上記抵抗性遺伝子に関する NIL (B_6F_n 世代: T65 を遺伝的背景) を供試し、個別別抗生作用検定法(Tanaka and Matsumura 2000)を用いたウンカ加害性の評価を実施した。

(3). 吸汁抑制化合物の特定(安井・山田): 植物材料: *BPH25*, *BPH26*, *Grh2*, *Grh4*に関する国際判別NIL群

上記の抵抗性遺伝子に関するNIL群(B_6F_n 世代: T65 を遺伝的背景)とT65を供試し、茎葉部からのメタノール/水抽出物から得られる水溶性画分の生存抑制活性の調査を実施した。

4. 研究成果

(1) トビイロウンカ抵抗性のインド型品種 ADR52 と感受性の日本型品種台中 65 号(T65)の交雑 F_1 に T65 を連続戻し交雑し、マーカー選抜により、トビイロウンカ抵抗性遺伝子を保有する近似同質遺伝子系統群 *BPH25*-NIL, *BPH26*-NIL を育成した。

また、トビイロウンカ耐虫性を保有するインド型水稻品種5品種と野生イネ系統について、T65ならびにIR24を戻し交雑した後代を育成し、マーカー選抜によりイネのウンカ抵抗性に関するQTL領域を含むNIL候補個体を取得した。

(2) T65 を遺伝的背景とするトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *BPH25* と *BPH26* の NIL ならびに PYL を用いて、日本に飛来したトビイロウンカ個体群(1966年, 1989年, 1999年, 2005年)の、個々のウンカ抵抗性遺伝子に対する加害性をモニタリングした。また、日本に飛来するウンカの飛来源とされる北部ベトナム紅河デルタ地域のウンカ個体群、さらにベトナム中部ならびに南部地域の個体群、フィリピンのウンカ個体群を収集し、個々のウンカ抵抗性遺伝子に対するウンカ加害性評価の国際ネットワーク構築の基盤を整備した。

次に、2006年にアジア地域で採集したトビイロウンカ(BPH)個体群をもちいて、インド型品種 ADR52 に由来するイネのトビイロウンカ抵抗性遺伝子に関する近似同質遺伝子系統(NIL)ならびに遺伝子集積系統(PYL)のトビイロウンカ耐虫性を検証した。供試虫には、2006年にアジア10地域において採集し、感受性品種上で累代飼育した BPH 個体群を用いた。羽化後24時間以内の5頭の雌成虫を播種後30日の成苗に放

飼し、5日後の生存率ならびに蔵卵雌率を算出することにより、NILならびにPYLの耐虫性評価をおこなった。各系統上の生存率ならびに蔵卵雌率が30%以下の場合を抵抗性、30-70%を中度抵抗性、70%以上を感受性と判定し、この順に供試昆虫の加害性が強いと推定した。

感受性品種台中65号上では、全てのBPH個体群の蔵卵雌率が80%以上であった。BPH25-NIL上では、アジア10地域のBPH個体群のうち半数の5個体群の生存率が70%以上であり、蔵卵雌率も概ね60%以上であった。BPH26-NIL上では、ミンダナオ島採集個体群(Philippines-AN)を除く全てのBPH個体群の生存率が80%以上であり、蔵卵雌率も概ね70%以上であった。一方、BPH25、BPH26-PYL上では、ベトナム南部採集BPH個体群(Vietnam-TGL, -TGH)を除いて、生存率ならびに蔵卵雌率とも著しく低かった。以上の結果から、ミンダナオ島採集個体群を除いたすべてのアジア地域BPH個体群に対してBPH25-NILは感受性であり、アジア地域BPH個体群の半数に対してBPH26-NILも感受性であった。一方、BPH25とBPH26のPYLは、ベトナム南部採集BPH個体群(Vietnam-TGL, -TGH)を除いたアジア地域のBPH個体群に対して強度抵抗性であった。しかしながら、ベトナム南部採集BPH個体群(Vietnam-TGL, -TGH)には、PYLに対して加害性を示すBPH個体が約半数存在した。得られた知見は、イネのトビイロウンカ抵抗性育種上極めて重要である。

(3) NILとPYLを用いたウンカ吸汁抑制化合物の探索を行ったが、トビイロウンカ吸汁抑制化合物の特定には至らなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- 1) Myint, K. K. M., H. Yasui, M. Takagi and M. Matsumura (2009) Virulence of long-term laboratory populations of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), and whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera* (Horváth) (Homoptera: Delphacidae), on rice differential varieties. Applied Entomology and Zoology 44(1): 149-153. DOI: 10.1303/aez.2009.149 査読有
- 2) Myint, K. K. M., M. Matsumura, M. Takagi and H. Yasui (2009) Demographic parameters of long-term laboratory strains of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal, (Homoptera: Delphacidae) on resistance genes, *bph20* (t) and *Bph21* (t) in Rice. J. Fac. Agri. Kyushu Univ. 54(1) 159-164. 査読無し
- 3) Yara, A., P.C. Nguyen, M. Matsumura, A. Yoshimura and H. Yasui (2010) Development

of near-isogenic lines for *BPH25*(t) and *BPH26*(t), conferring resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål.) in the Indica rice variety ADR52. Breed. Sci. 60, 639-647. 査読有

- 4) Myint K.K.M., D. Fujita, M. Matsumura, T. Sonoda, A. Yoshimura, H. Yasui (2012) Mapping and pyramiding of two major genes for resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* [Sta^oI]) in the rice cultivar ADR52. Theor. Appl. Genet. (In Press) DOI 10.1007/s00122-11-1723-4, 査読有

[学会発表] (計11件)

- 1) Fujita, D., K. K. M. Myint, M. Matsumura, and H. Yasui, The genetics of host plant resistance to rice planthopper and leafhopper. International conference on brown planthopper, 2008-6-24, IRRI, Philippines.
- 2) 安井 秀, 東アジアにおける最近のウンカ被害の発生とイネの害虫抵抗性の遺伝解析. 日本育種学会第114回講演会講演要旨集 育種学研究 10(別2): 6, 2008-10-11, 滋賀県立大学.
- 3) 屋良 朝紀, K. K. M. Myint, Phi Cong Ngyuen, 吉村 淳, 安井 秀, インド型品種ADR52に由来するトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *bph20*(t) と *Bph21*(t) に関する近似同質遺伝子系統の育成と耐虫性評価, 日本育種学会第116回講演会講演要旨集 育種学研究 11(2): 46, 2009-9-26, 北海道大学
- 4) Matsumura, M. Recent status of insecticide resistance and virulence to resistant varieties in the Asian rice planthoppers. Proc. of the APEC workshop on the epidemics of migratory insect pests and associated virus diseases in rice and their impact on food security in APEC member economics : 201-214, 2009-10-7, Seoul, Korea,
- 5) Yasui, H., D. Fujita, A. Yara, A. Yoshimura and M. Matsumura, Genetic analysis of host plant resistance to leafhoppers and plant hoppers in rice, The 6th Intl. Rice Genetics Symp.: C3-2, 2009-11-17, Manila, Phillipines
- 6) Yasui, H., D. Fujita and A. Yoshimura, Marker-assisted development of near-isogenic lines and pyramided lines carrying resistance genes to green rice leafhopper (*Nephotettix cincticeps* [Uhler]) with Taichung65 genetic background in rice (*Oryza sativa* [L.]) The 6th Intl. Rice Genetics Symp.: P3-18, 2009-11-18, Manila, Phillipines
- 7) Phi Cong Nguyen, A. Yara, M. Matsumura, A. Yoshimura and H. Yasui, Development of Nearly Isogenic Lines for *bph25*(t) and *Bph26*(t), Conferring Resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal.) in the Indica r

ice cultivar ADR52The 6th Intl. Rice Genetic
s Symp.: P3-43, 2009-11-17, Manila, Phillipi
nes

(2009年5月～2011年3月)

- 8) 安井 秀, K. K. M. Myint, 吉村 淳, 松村正哉, イネのトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *bph20* (t) と *Bph21*(t) に関する近似同質遺伝子系統の東アジア採集トビイロウンカ個体群に対する耐虫性, 2010-3-27, 日本育種学会第117回講演会講演要旨集 育種学研究 12(別1): 170, 2010. 3. 27. 京都大学.
- 9) Yasui, H., Near-isogenic lines (NILs) and pyramided lines (PYLs) in rice and their application for monitoring virulence of insects and breeding, Workshop on new paradigms in ricehopper resistance, 2010-10-20, IRRI, Philippines.
- 10) Matsumura, M., Creating a virulence testing network on rice hoppers, Workshop on new paradigms in ricehopper resistance, 2010-10-22, IRRI, Philippines
- 11) Yasui, H., D. Fujita and M. Matsumura, Determining virulence patterns among Asian hopper populations using rice near-isogenic lines (NILs) and pyramided lines (PYLs), 28th Intl. Rice Research Conference, 2010-11-9, Hanoi, Vietnam

[図書] (計1件)

- 1) Fujita D., K. K. M. Myint, M. Matsumura, and H. Yasui (2010) The genetics of host-plant resistance to rice planthopper and leafhopper. Planthoppers: new threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia, pp389-400, Manila, Philippines.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安井 秀 (YASUI HIDESHI)
九州大学・大学院農学研究院・准教授
研究者番号: 70220142

(2) 研究分担者

松村 正哉 (NATSUMURA MASAYA)
(独)農研機構・九州沖縄農業研究センター・難防除害虫研究チーム・チーム長
研究者番号: 00370619

山田 直隆 (YAMADA NAOTAKA)
九州大学・大学院農学研究院・助教
研究者番号: 20304769

(3) 研究協力者

藤田 大輔 (FUJITA DAISUKE)
国際イネ研究所・植物育種遺伝生物技術部門・ポストドクトラルフェロー