



Molecular Linkage Analysis of Brown Planthopper Resistance Genes in Rice

村田, 和優

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

1998-03-31

(Date of Publication)

2009-05-19

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1782

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.11501/3141125>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001782>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	むら た かず まさ 村 田 和 優	(奈良県)
博士の専攻分野の名称	博士(農学)	
学位記番号	博い第32号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成10年3月31日	
学位論文題目	Molecular Linkage Analysis of Brown Planthopper Resistance Genes In Rice (分子マーカーによるイネトビロウンカ抵抗性遺伝子の連鎖分析)	
審査委員	主査 教授 中村 千春 教授 上島 脩志 教授 真山 滋志 教授 竹田 真木生	

論文内容の要旨

第1章ではイネのトビロウンカ抵抗性研究の歴史について述べた。トビロウンカがアジアの稲作地域において重要害虫となりえた背景、トビロウンカ抵抗性品種の検索、抵抗性遺伝子の同定、抵抗性品種の育成、抵抗生物質の検察等の研究について紹介した。

第2章では第1節の緒言でこの研究の基本的な植物材料であるトビロウンカ抵抗性中間母本系統の育成手順及び特長について述べ、第2節以降はそれら母本系統のうち、スリランカ在来品種Babaweeのもつ**bph4**の日本稲への導入を目的として育成された中間母本農7号を用いた解析結果について述べた。しかし中間母本農7号の遺伝解析の結果、この系統のトビロウンカ抵抗性が単一の優性遺伝子に支配されており、その遺伝子は**Bph1**であることが示唆された(第2節)。続いて行われたRFLP解析は、この抵抗性遺伝子が第12染色体上の既知の**Bph1**の遺伝子座の近くに座上することを示し、さらにこの遺伝子がBabawee由来の**bph4**ではなくMudgo由来の**Bph1**であることを示した(第3節)。この**Bph1**はRFLPマーカーG148と1.7cMで連鎖しており、G148は現在までに報告された中では最も接近したマーカーであった。さらにRAPD解析を行い(第4節)、オペロン社の540のプライマーが用いられた。その結果、感受性と連鎖したマーカーOPB15₅₅₀が検出されたが、抵抗性と連鎖したマーカーは検出されなかった。第5節では中間母本農7号で起こったmis-introgressionの発生過程とその後の問題点、また遺伝子マッピングの結果明らかになった遺伝距離の短縮化について主に考察した。

第3章では中間母本農4号がもつ**bph2**の解析結果について述べた。中間母本農4号にはフィリピンのIRRIで育成されたIR1154-243が備える**bph2**が導入されている(第1節)。この系統を用いた遺伝解析において、**bph2**は単一の優性遺伝子として抵抗性を発現した(第2節)。この結果を受けて中間母本農4号のグラフィカルジェノタイプが確認されたが、中間母本農4号はIR1154-243由来の染色体断片以外は導入されていないことがわかった(第3節)。この遺伝子をマッピングした結果、第12染色体上のRFLPマーカーG2140から3.5cMの位置に座上することがわかった(第3節)。**Bph1**と**bph2**は共に複対立か密接連鎖の関係にあることが以前に報告されているので期待通り第12染色体上にマップされたが、その座位は先にマップした**Bph1**とは30cM以上離れており、少なくとも複対立で

はないことが明らかにされた。しかしその連鎖距離にもかかわらず、Bph1保有系統と中間母本農4号の交配後代を用いた遺伝分析では組換えで生じると予想される感受性個体が出現しなかった(第4節)。第5節ではbph2が中間母本農4号において優性発現する理由について主に考察した。抵抗性検定に用いられるトビロウカバイオタイプの差異、検定が行われる環境、bph2が発現する遺伝的背景の異同について述べた。

第4章ではスリランカ在来品種PlokkaliがもつBph9の解析結果について述べた。Bph9はその座上染色体さえ決定されていなかったが、この研究で行われたRFLP解析により(第2節)、この遺伝子はBph1やbph2と同じく第12染色体上にマップされた。その座位は2つのRFLPマーカーS2545とG2140の間にあり、それぞれ11.6、13.0cMの距離で連鎖していた。またBph9と連鎖したRAPDマーカーが検出され(第3節)、抵抗性と連鎖したマーカーを10、感受性と連鎖したマーカーを12同定した。これらのうち13は日本晴/Kasalath間でも多型であり、よりBph9に接近したマーカーとしてRFLP genome mapに位置付けることが可能であるかと思われる。またマッピングの結果より、Bph10(t)を含め計4つのトビロウカ抵抗性遺伝子が第12染色体上に存在することが明らかになり、これら遺伝子の関係について考察した(第4節)。

第5章ではスリランカ在来品種Rathu Heenatiから導入された中間母本農10号におけるBph3の解析結果を述べた。中間母本農10号について遺伝解析を行ったところ(第2節)、ツクシバレとの交配F₂集団では明確な抵抗性/感受性の分離が見られず中間母本農10号自身のトビロウカ抵抗性も甚だ弱いものであった。次に中間母本農10号の抵抗性程度を他の抵抗性育成系統や遺伝子源品種と比較するための抗寄生検定を行った(第2節)。この結果、Bph3の遺伝子源であるRathu Heenatiでは寄生率は非常に低いものであったが、中間母本農10号への寄生率は他の抵抗性系統、品種に比べかなり高い水準であった。従って中間母本農10号はトビロウカによる吸汁加害を受けやすいことがわかった。第3節ではトビロウカ抵抗性系統の育種過程において、戻し交配と選抜の繰り返しにより、抵抗性を補足、支持するような微動遺伝子の存在について考察した。

第6章第1節ではBph3、bph4について解析集団の新たな確立の必要性を述べ、第2節では数種のBph3、bph4保有indica品種の分離集団での遺伝分析の結果を述べた。これらのF₂集団での分離は単一優性遺伝子による3:1、あるいは単一劣性遺伝子による1:3の分離比から大きく歪んでいた。またbph4をもつBabaweeの2つのF₃系統における抵抗性個体頻度が連続的に分布し、期待される25%でのピークは得られなかった。第3節では前記のBabaweeについての2つの分離集団を用いたRFLP解析の結果を述べた。この結果よりbph4は第4染色体上にマップされたが、RFLPマーカーとの連鎖距離はかなり遠いものであった。また2集団間で連鎖距離が矛盾した。この理由も含めて、第4節で稔性の分離や染色体伝達率の不均一による影響がトビロウカ抵抗性の分離にも影響していると考えた。

第7章では以上行われたトビロウカ抵抗性遺伝子のマッピングに関するそれぞれの考察点をまとめて論じ、また虫害抵抗性研究のあり方、及び今後の展開について論じた。

論文審査の結果の要旨

トビロウカ(BPH)は東南アジア、ミクロネシア、インド、スリランカ、オーストラリアなど温帯、亜熱帯、熱帯稲作地域におけるイネの重要害虫の一つである。特に「緑の革命」による多収品種の導入に伴う農業技術体系の転換後、これらの地域で深刻な被害をもたらしている。そこで、

BPH被害の低減に向けた有効な手法の一つとしてインディカイネ品種が保有するBPH抵抗性遺伝子の利用がIMP（病虫害総合防除）の重要課題として注目を集めてきた。BPH抵抗性遺伝子を育種的に利用するにはBPH抵抗性遺伝子を単離し、その構造と機能を明らかにする必要がある。本論文では、この目的実現に向けて、インディカイネ在来品種の保有する複数のBPH抵抗性遺伝子についてその遺伝的性質を明らかにし、それらをイネ連鎖地図上へマッピングした。

第1章では、BPHが近年アジアの稲作地帯で重要害虫となった背景、BPH抵抗性在来品種の検索、抵抗性遺伝子の同定、抵抗性導入品種の育成、抵抗性物質の検索等に関する過去の研究について概説し、本研究の意義を述べた。

第2章では、スリランカ在来品種Babaweeの持つ劣性抵抗性遺伝子**bph4**の日本稲への導入を目的として育成されたBPH抵抗性中間母本農7号(PL7)を用いた解析結果を述べ、PL7におけるBPH抵抗性遺伝子の誤導入を明らかにした。すなわち、1) 集団幼苗検定によるPL7 X ツクシレバ由来のF₂, F₃ 集団を解析し、PL7に導入されたBPH抵抗性が単一の優性遺伝子に支配されることを明らかにした。続いて2) 抵抗性ホモ系統、感受性ホモ系統を用いたBulked Segregant 分析およびF₂, F₃ 集団を用いたRFLP分析を行い、導入抵抗性遺伝子が既報の第10染色体ではなく第12染色体上の既知の**Bph1**遺伝子座近傍に位置することを示し、さらに、3) **Bph1**および**bph2**を対象にした対立性検定と**Bph1**保有品種とのRFLPパターンの比較から、この抵抗性遺伝子がBabawee由来の**bph4**ではなくMudgo由来の**Bph1**であることを示した。遺伝子の誤導入は遺伝・育種の過程で起こりうる最も深刻な誤ちであり、これを修正するには多大の労力と時間を要する。本論文は、遺伝子の誤導入を避ける有効な手だてが分子マーカーであることを明瞭に示している。さらに、本論文で得た連鎖マーカーG148は既報のマーカーに比べて**Bph1**により近接(1.7cM)しており、組換え体の選抜が実現したことと併せて、今後の詳細なマッピングに道を開くと期待される。

第3章では、IRRI（国際稲研究所）で育成されたIR1154-243が備える劣性抵抗性遺伝子**bph2**を導入した中間母本農4号(PL4)の解析結果について述べた。まず、PL4 X ツクレバシ由来のF₂および多数のF₃系統を用いた遺伝解析によりPL4の導入抵抗性遺伝子が単一の劣性遺伝子ではなく優性遺伝子として発現することを見出した。そこで、PL4のグラフィカルジェノタイプ(図遺伝子型)を解析し、PL4にはIR1154-243由来の染色体断片以外のインディカイネ断片が調査した限りでは導入されていないこと、従って導入遺伝子が**bph2**である可能性が極めて高いことを確認した上で、これをイネ第12染色体上のRFLPマーカーG2140から3.5cMの位置にマップした。この座位は先にマップした**Bph1**と30cM以上離れており、**bph2**が**Bph1**と複対立か密接連鎖の関係にあるとする過去の報告とは異なった結果を得た。しかしながら、**Bph1**保有2系統とPL4の交配後代を用いた遺伝分析では、組換えで生じるはずの感受性個体が過去の報告と同様に出現せず、両遺伝子間に組換え阻害要因の存在する可能性を示唆した。なお、BPH抵抗性遺伝子の優劣性については、宿主であるイネ品種の遺伝的背景(インディカ、ジャマイカ)による違い、環境要因、特に温度の影響、BPHバイオタイプによる差異など多くの要因が関与する可能性について考察した。

第4章ではスリランカ在来品種Pokkaliが持つ**Bph9**の解析結果について述べた。日印交雑親和性を保有する中間母本農12号(PL12)とPokkaliとの交雑後代由来のBulk DNAを用いた解析により、まず抵抗性と連鎖するRFLPマーカーを検索し、続いて連鎖分析により**Bph9**が第12染色体上の2つのマーカーS2545とG2140の間であって、それぞれ11.6cMと13.0cMの距離で連鎖することを明らかにした。さらに、**Bph9**と連鎖したRAPDマーカーを10個、感受性と連鎖したRAPDマーカー12個を同定した。これらのマーカーのうち13個は、日本晴/Kasalath間でも多型的であり、**Bph9**の微細マッ

ピングに有効なマーカーとなる可能性がある。

第5章では、スリランカ在来品種Rathu Heenatiから導入された中間母本農10号(PL10)におけるBph3の解析結果を述べた。PL10とツクシバレとの交配F₂集団では明確な抵抗性／感受性の分離が見られず、PL10のBPH抵抗性が甚だ弱いことが分かった。そこで、PL10の抵抗性程度を他の抵抗性育成系統や遺伝資源品種と比較するために、BPHに対する抗寄生検定を行い、PL10はBPHによる吸汁加害を受けやすいことを確かめた。インディカイネ在来品種のBPH抵抗性には主働遺伝子に加えて抵抗性を補足あるいは支持するような微働遺伝子が関与する可能性が指摘されているが、この結果は、PL10の育種過程でRathu Heenatiの保有する微働遺伝子が失われた可能性を示唆する。

第6章では、Bph3あるいはbph4を保有する複数のindica品種を用いた分離集団の遺伝解析結果を述べた。これらF₂集団におけるBPH抵抗性の分離は、単一優性遺伝子による3R : 1Sの分離比から大きく歪んだ。またbph4を持つBabaweeから得た2つのF₃集団では各系統における抵抗性個体の頻度が連続的に分布し、期待される25%でのピークが得られなかった。さらに、IR24xツクシバレ由来の分子集団から得たbulk DNAを用いた解析により、bph4が第4染色体上にある可能性を示したが、2つの分離集団を用いたRFLP解析の結果では、連鎖マーカーとの距離がそれぞれ36.2cMおよび40.4cMとかなり大きく離れており、近接マーカーの同定には至らなかった。以上の結果に基づき、稔性の低下、配偶子の受精競争、致死性遺伝子の存在など日印交雑における特定染色体あるいは染色体部分の分離の歪みを引き起こす要因について論議した。

第7章では、以上の結果に基づき、BPH抵抗性遺伝子のマッピングに関する問題点及びmap-based cloningに向けた今後の研究展開について総括論議を行った。

本論文は複数のBPH抵抗性遺伝子についてその遺伝的性質を明らかにし、イネ染色体地図上の座位を確定したものであり、BPH抵抗性遺伝子のmap-based cloningに道を開く重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。

よって学位申請者は、博士（農学）の学位を得る資格があると認める。