



# Identification of a resistance gene against the wheat blast fungus in common wheat and cloning of its corresponding avirulence gene

Vu Lan Anh

---

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2016-03-07

(Date of Publication)

2018-03-07

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙第3305号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2003305>

※ 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。



## 論文内容の要旨

氏名 Vu Lan Anh

論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記すること。)

Identification of a resistance gene against the wheat blast fungus in common wheat and cloning of its corresponding avirulence gene

いもち病抵抗性遺伝子の普通系コムギにおける同定とそれに対応する非病原力遺伝子のクローニング

いもち病菌 *Pyricularia oryzae* は、イネを宿主とするイネ菌、アワを宿主とするアワ菌、エンバクを宿主とするエンバク菌等、いくつかの菌群に分けられる。1980年代半ば、ブラジルでコムギを特異的に侵すコムギ菌群が出現し、大きな被害を引き起こした。コムギ菌はその後南米の周辺国に広がり、コムギ生産上の大きな問題となっている。本研究は、いもち病菌との相互作用の歴史を高々30年しか持たないコムギが、さまざまないもち病抵抗性遺伝子を保有していることを明らかにしたものである。

まず、コムギとエンバクいもち病菌の相互作用の解析を試みた。エンバクいもち病菌のコムギに対する非病原性には、*PWT3*、*PWT4*という二つの非病原力遺伝子が関与していることが明らかとなっている。*PWT3*の作用を精密に評価できる系を構築するため、エンバクいもち病菌 Br58 をコムギいもち病菌 Br48 で連続戻し交雑した。その途中、BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>世代で、白色の菌叢を持つ突然変異株を見出した。この変異株をさらに Br48 で戻し交雑して、BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>世代を作出したところ、白色菌系と通常の黒色菌系が1:1に分離した。このことから、この菌叢色は、1遺伝子に支配されていることが明らかとなった。このBC<sub>4</sub>F<sub>1</sub>菌系を普通系コムギ品種農林4号(N4)、二粒系コムギ系統 KU109 (Tat4) に接種したところ、白色菌系はすべて非病原性、黒色菌系はすべて病原性となった。すなわち、菌叢色と病原性は密接に相関していることが明らかとなった。メラニン合成欠損変異株が病原性を失うことは古くから知られている。これは、角皮侵入に必須である付着器のメラニン化が阻害されるためである。ところが、本実験で得られた白色菌系は、正常の着色付着器を形成した。さらに、それらは、二粒系コムギ系統 KU156 (Tat14) に完全な病原性を示すことが明らかとなった。このことから、それら白色菌系の N4, Tat4 に対する非病原性は、基本的病原性の欠損によるものではないことが明らかとなった。白色菌系に対して Tat4 が抵抗性である一方、Tat14 が感受性を示したので、Tat14 を感受性品種として Tat4 の抵抗性遺伝子が同定できるのではないかと考えた。そこで、Tat4 x Tat14 の F<sub>2</sub> に白色菌系を接種したところ、抵抗性個体と感受性個体が3:1に分離した。この抵抗性遺伝子を *RmgTd(t)* (仮称) と命名した。マッピングの結果、本遺伝子は7B染色体に座乗していることが判明した。この遺伝子は、コムギ菌 Br48、エンバク菌 Br58 いずれにも作用せず、両菌の交雑の過程で偶然出現した突然変異株に効果を示す、「隠れていた」抵抗性遺伝子である。菌側の1遺伝子に対応することを考えると、現象的には gene-for-gene theory に従う抵抗性遺伝子と同様の挙動を示す。本遺伝子が、本来どのような意義を持っているのか不明であるが、

コムギはさまざまな隠れた抵抗性遺伝子を保有していることが示唆された。

次に、コムギのコムギいもち病菌に対する抵抗性遺伝子の同定を試みた。そのような遺伝子としては、すでに普通系コムギ品種 Thatcher に *Rmg2* と *Rmg3* が、また、二粒系コムギ系統に *Rmg7* が見いだされている。しかし、Thatcher の 2 遺伝子は、穂では作用を示さないもので、実用的ではない。そこで、他の普通系コムギ品種をスクリーニングしたところ、品種 S-615 が第一葉ならびに穂でコムギいもち病菌に対し強度の抵抗性を示すことを見出した。そこで、S-615 (強度抵抗性) × N4 (感受性) の F<sub>2</sub> に Br48 を接種したところ、抵抗性個体と感受性個体が 3:1 に分離した。この強力な抵抗性遺伝子を、*Rmg8* と命名した。さらに、*Rmg8* に対応する非病原力遺伝子を同定し、これを *AVR-Rmg8* と命名した。興味深いことに、*AVR-Rmg8* は、*Rmg7* に対応する非病原力遺伝子 *AVR-Rmg7* とほぼ同じ分離を示した。そこで、同一非病原力遺伝子が *Rmg7* と *Rmg8* という異なる抵抗性遺伝子に認識されているという可能性を考えた。これは、gene-for-gene theory の例外となるが、これら 2 つの遺伝子が共通祖先に由来する homeologous な遺伝子であれば、そのような現象は起こり得ると考えられる。そこで、*Rmg7*, *Rmg8* をマッピングしたところ、それぞれ 2B, 2A 染色体、すなわち同祖染色体の末端領域に座乗していることが判明した。以上のことを総合し、これら 2 遺伝子は、A, B ゲノム分化以前の共通祖先の段階から存在する遺伝子である可能性があると考えた。

さらに、*AVR-Rmg8* のクローニングを試みた。精密マッピングで絞り込んだ 5 つの断片を S-615 に病原性を示す菌系に導入し、その形質転換体を S-615 ならびに N4 に接種した。その結果、5 つのうちの 1 つ、2.3kb 断片を導入した形質転換体が、N4 に対する病原性を保持したまま S-615 に対して非病原性になることが判明した。すなわち、*AVR-Rmg8* のクローニングにほぼ成功した。興味深いことに、本断片を持つ形質転換体は、*Rmg7* 保有品種に対しても非病原性を示した。このことから、*AVR-Rmg7* と *AVR-Rmg8* は同じ遺伝子であることが示唆された。

以上のように、本研究において、コムギがさまざまないもち病抵抗性遺伝子を持つことが明らかとなった。特に、*Rmg8* を持つ S-615 は、幼苗のみならず穂でもコムギいもち病菌に対して強度の抵抗性を示すことから、今後のコムギの抵抗性育種素材として極めて有用であると考えられる。

氏名	Vu Lan Anh		
論文 題目	Identification of a resistance gene against the wheat blast fungus in common wheat and cloning of its corresponding avirulence gene いもち病抵抗性遺伝子の普通系コムギにおける同定とそれに対応する非病原力遺伝子のクローニング		
審査委員	区 分	職 名	氏 名
	主 査	教授	土 佐 幸 雄
	副 査	教授	森 直 樹
	副 査	准教授	池 田 健 一
	副 査		
	副 査		
要 旨			
<p>いもち病菌 <i>Pycularia oryzae</i> は、イネを宿主とするイネ菌、アワを宿主とするアワ菌、エンバクを宿主とするエンバク菌等、いくつかの菌群に分けられる。1980年代半ば、ブラジルでコムギを特異的に侵すコムギ菌群が出現し、大きな被害を引き起こした。コムギ菌はその後南米の周辺国に広がり、コムギ生産上の大きな問題となっている。本研究は、いもち病菌との相互作用の歴史を高々30年しか持たないコムギが、さまざまないもち病抵抗性遺伝子を保有していることを明らかにしたものである。</p> <p>まず、第一章で、いもち病菌の寄生性分化の状況ならびにいもち病菌とコムギの相互作用に関するこれまでの報告・知見を概観した後、第二章では、コムギとエンバクいもち病菌の相互作用の解析を試みた。エンバクいもち病菌のコムギに対する非病原性には、<i>PWT3</i>、<i>PWT4</i> という二つの非病原力遺伝子が関与していることが明らかとなっている。<i>PWT3</i> の作用を精密に評価できる系を構築するため、エンバクいもち病菌 Br58 をコムギいもち病菌 Br48 で連続戻し交雑した。その途中、BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> 世代で、白色の菌叢を持つ突然変異株を見出した。この変異株をさらに Br48 で戻し交雑して、BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> 世代を作出したところ、白色菌系と通常の黒色菌系が 1:1 に分離した。このことから、この菌叢色は、1 遺伝子に支配されていることが明らかとなった。この BC<sub>4</sub>F<sub>1</sub> 菌系を普通系コムギ品種農林 4 号 (N4)、二粒系コムギ系統 KU109 (Tat4) に接種したところ、白色菌系はすべて非病原性、黒色菌系はすべて病原性となった。すなわち、菌叢色と病原性は密接に相関していることが明らかとなった。メラニン合成欠損変異株が病原性を失うことは古くから知られている。これは、角皮侵入に必須である付着器のメラニン化が阻害されるためである。ところが、本実験で得られた白色菌系は、正常の着色付着器を形成した。さらに、それらは、二粒系コムギ系統 KU156 (Tat14) に完全な病原性を示すことが明らかとなった。このことから、それら白色菌系の N4, Tat4 に対する非病原性は、基本的病原性の欠損によるものではないことが明らかとなった。白色菌系に対して Tat4 が抵抗性である一方、Tat14 が感受性を示したので、Tat14 を感受性品種として Tat4 の抵抗性遺伝子が同定できるのではないかと考えた。そこで、Tat4 x Tat14 の F<sub>2</sub> に白色菌系を接種したところ、抵抗性個体と感受性個体が 3:1 に分離した。この抵抗性遺伝子を <i>RmgTd(t)</i> (仮称) と命名した。マッピングの</p>			

氏名	Vu Lan Anh
<p>結果、本遺伝子は 7B 染色体に座乗していることが判明した。この遺伝子は、コムギ菌 Br48、エンバク菌 Br58 いずれにも作用せず、両菌の交雑の過程で偶然出現した突然変異株に効果を示す、「隠れていた」抵抗性遺伝子である。菌側の 1 遺伝子に対応することを考えると、現象的には gene-for-gene theory に従う抵抗性遺伝子と同様の挙動を示す。本遺伝子が、本来どのような意義を持っているのか不明であるが、コムギはさまざまな隠れた抵抗性遺伝子を保有していることが示唆された。</p> <p>第 3 章では、コムギのコムギいもち病菌に対する抵抗性遺伝子の同定を試みた。そのような遺伝子としては、すでに普通系コムギ品種 Thatcher に <i>Rmg2</i> と <i>Rmg3</i> が、また、二粒系コムギ系統に <i>Rmg7</i> が見いだされている。しかし、Thatcher の 2 遺伝子は、穂では作用を示さないで、実用的ではない。そこで、他の普通系コムギ品種をスクリーニングしたところ、品種 S-615 が第一葉ならびに穂でコムギいもち病菌に対し強度の抵抗性を示すことを見出した。そこで、S-615 (強度抵抗性) x N4 (感受性) の F<sub>2</sub> に Br48 を接種したところ、抵抗性個体と感受性個体が 3:1 に分離した。この強力な抵抗性遺伝子を、<i>Rmg8</i> と命名した。さらに、<i>Rmg8</i> に対応する非病原力遺伝子を同定し、これを <i>AVR-Rmg8</i> と命名した。興味深いことに、<i>AVR-Rmg8</i> は、<i>Rmg7</i> に対応する非病原力遺伝子 <i>AVR-Rmg7</i> とほぼ同じ分離を示した。そこで、同一非病原力遺伝子が <i>Rmg7</i> と <i>Rmg8</i> という異なる抵抗性遺伝子に認識されているという可能性を考えた。これは、gene-for-gene theory の例外となるが、これら 2 つの遺伝子が共通祖先に由来する homeologous な遺伝子であれば、そのような現象は起こり得ると考えられる。そこで、<i>Rmg7</i>、<i>Rmg8</i> をマッピングしたところ、それぞれ 2B、2A 染色体、すなわち同祖染色体の末端領域に座乗していることが判明した。以上のことを総合し、これら 2 遺伝子は、A、B ゲノム分化以前の共通祖先の段階から存在する遺伝子である可能性があると考えた。</p> <p>第 4 章では、<i>AVR-Rmg8</i> のクローニングを試みた。精密マッピングで絞り込んだ 5 つの断片を S-615 に病原性を示す菌系に導入し、その形質転換体を S-615 ならびに N4 に接種した。その結果、5 つのうち 1 つ、2.3kb 断片を導入した形質転換体が、N4 に対する病原性を保持したまま S-615 に対して非病原性になることが判明した。すなわち、<i>AVR-Rmg8</i> のクローニングにほぼ成功した。興味深いことに、本断片を持つ形質転換体は、<i>Rmg7</i> 保有品種に対しても非病原性を示した。このことから、<i>AVR-Rmg7</i> と <i>AVR-Rmg8</i> は同じ遺伝子であることが示唆された。</p> <p>以上のように、本研究は、コムギがさまざまないもち病抵抗性遺伝子を持つことを明らかにした。特に、<i>Rmg8</i> を持つ S-615 は、幼苗のみならず穂でもコムギいもち病菌に対して強度の抵抗性を示すことから、今後のコムギの抵抗性育種素材として極めて有用であると考えられる。よって、よって、学位申請者 Vu Lan Anh は、博士(農学)の学位を得る資格があるものと認める。</p>	