UKAI, Yasuo and Atsushi YAMASHITA: Induced Mutation for Resistance to Barley Yellow Mosaic Virus (English summary on p. 130)

オオムギにおける縞萎縮病抵抗性の突然変異

鵜飼 保雄・山下 淳

(農業技術研究所放射線育種場)

六条皮麦竹林茨城1号より放射線または化学物質処理で誘発された150の早熟性突然変異系統を縞萎縮病の汚染圃場で栽培した結果、高度の抵抗性を示す系統(コード番号 Ea 52)が見出された。原品種および他の全系統が縞萎縮病特有の病徴である矮化および葉の黄化を示したのに対し、Ea 52は正常な生育を示した。Ea 52と罹病性系統 Ea 17とのF₂雑種集団について病徴の有無および株重を調査した結果、Ea 52の病害抵抗性は劣性方向への単遺伝子性突然変異によることが判った。Ea 52の縞萎縮病抵抗性は早熟性と遺伝的に無関係であった。

葉のDip法による電顕観察から、原品種はオオムギ縞萎縮ウイルス(BYMV)のほかムギ類萎縮ウイルス(SBWMV)にも感染していたが、Ea 52の健全個体はBYMV, SBWMVのいずれにも犯されていないことが認められた。

緒 言

オオムギ縞萎縮ウイルス(Barley yellow mosaic virus, 以下BYMVと略す)は土壌伝染性であり(INOUE and SAITO 1975), 近年九州から東北地方まで広く各地に蔓延し、畑地および水田のオオムギ、とくに二条オオムギに対し著しい被害を及ぼしている。本病害には薬剤による有効な防除法が見出されておらず、抵抗性品種の育成が急がれている。本ウイルスについては抵抗性品種育成のために数多くの既存品種の抵抗性程度の調査とそれにもとづく抵抗性遺伝子源の探索が行なわれた(斎藤・岡本 1964, 高橋ら 1966, 1968)。その結果、高度抵抗性の六条皮麦の木石港3と六条裸麦の御堀裸3号がそれぞれ別個の抵抗性の主働遺伝子(Y_m, Y_{m2})をもつことが明らかにされている(高橋ら 1970)。

病害抵抗性遺伝子の給源として人為突然変異による誘発は有効な手段であり、FREISLEBEN and LEIN (1942)の報告以来、多くの作物で誘発の事例がある。しかし、そのほとんどは糸状菌および細菌性の病害に対するものであり、ウイルス病抵抗性突然変異の報告はきわめて少い。

著者らは、六条皮麦品種竹林茨城1号の早熟性突然変異体の中からBYMVに対し高度の抵抗性を示す突然変異体を見出した。ここにその経過、突然変異体の特性、および抵抗性の遺伝について報告する。

材料および方法

オオムギ(*Hordeum vulgare* L.)の秋播性六条皮麦品種竹林茨城1号から放射線または化学物質処理により誘発された総計150の早熟性突然変異系統を原品種とともに1978年秋に汚染圃場に播種した。系統あたり24個体を供し、畦間50 cm, 株間9 cmの1本植とした。翌年1月下旬に罹病度を調査したところ、Ea 52を除く全早熟性変異系統および原品種の全個体に葉のかすり状細斑モザイクや黄化が認められた。2月下旬にはこれらの個体は下位葉全体の黄化や草丈の著しい矮化を示し、被害の甚しい個体は枯死した。これらはオオムギ縞萎縮病の典型的病徴である。これに反

し Ea 52 では大多数の個体が外観上健全で冬期間に正常な生育を続けた。ただし、22 個中 2 個体のみは葉に淡黄緑色の条斑を示し、草丈が減少した。

Ea 52 は栄養生長期における 250 R の γ 線生体照射に由来し、 M_3 世代に早熟性突然変異体として個体選抜されたものである。原品種にくらべて出穂期は 6 日早く、その早熟性化は出穂限界日長の短縮と低温要求度のわずかな減少にもとづく。(鵜飼・山下 1979)。

同じ汚染圃場に罹病性系統 Ea 17 に Ea 52 を花粉親として交配した F_2 集団が両親とともに栽植されていたので、2 月下旬における葉の黄化と生育不良の程度を判定基準として罹病度調査を行い、病害抵抗性の遺伝を調べた。Ea 17 は Ea 52 と同程度の出穂期を示し出穂生理特性も Ea 52 と同一の早熟性突然変異体である。病害抵抗性と早熟性との関係を見るため 4 月中旬より各個体の出穂日を記録した。また、出穂期における稈長および穂数、収穫後の株重を調査し罹病性および抵抗性個体についてこれら形質の差異を検討した。

Ea 52 および原品種の個体の葉中におけるウイルス粒子の有無を Direct-negative 法により植物ウイルス研究所にて電顕観察した。

結 果

罹病性の Ea 17 と抵抗性の Ea 52 との F_2 および両親と原品種の個体について 2 月下旬に罹病度調査を行なった結果を Table 1 に示した。

病徴による抵抗性対罹病性の区別は明瞭で判定困難な中間型の存在は認められなかった。抵抗性対罹病性個体の比は F_2 全体で 44:126 となり、単遺伝子分離の場合の期待比 1:3 によく適合し、抵抗性は罹病性に対し完全劣性であった。3 個体の F_1 に由来する F_2 集団間で分離頻度の差はなかった。Ea 17 と原品種は全個体が罹病性であった。Ea 52 は 22 個体中 20 個体が抵抗性で外観正常であったが、2 個体は葉に淡黄緑条斑をもち生育抑制を示した。

交配親に用いた Ea 17 は 2 月下旬の病徴の観察から、原品種と同程度の罹病性であると判定された。Table 2 に、Ea 52, Ea 17 および原品種についての登熟期の稈長と穂数の平均値を示した。無汚染圃場での栽培では両形質とも 3 系統間で大差ないにもかかわらず、ウイルス汚染圃場では著

しい差を生じ、Ea 17 と原品種は Ea 52 にくらべて稈長は 1/2、穂数は 1/3 前後に減少した。Ea 17 と原品種の間では両形質について平均値に有意差がなかった。Fig. 1 に 3 系統間の個体別の病害による被害程度の比較のために稈長と穂数の積の分布を示した。これより、Ea 17 と原品種は平均値だけでなく分布

Table 1. Segregation of resistant and susceptible plants in F_2 from a cross between a susceptible early mutant Ea 52. Susceptibility was determined by the symptoms of BYMV, leaf yellowing and stunting

		Resistant	Susceptible	Total
F_2^*	1	16	43	59
	2	13	41	54
	3	15	42	57
	Total	44	126	170
Mutant Ea 52		20	2	22
Mutant Ea 17		0	22	22
Original variety, Chikurin Ibaraki 1		0	22	22

* Three F_2 s each derived from one F_1 plant were tested.

Heterogeneity d.f.=2, $\chi^2=0.14$, $p>0.90$

Segregation(1:3) d.f.=1, $\chi^2=0.16$, $p>0.60$

Table 2. Average culm length at heading time and number of spikes of Ea 52, Ea 17 and the original variety when grown in a field severely infested by BYMV

	Culm Length (cm)	No. spikes per plant
Mutant Ea 52	65.47 $\pm$ 3.38	12.82 $\pm$ 1.71
Mutant Ea 17	31.47 $\pm$ 2.31	4.95 $\pm$ 0.82
Original variety, Chikurin Ibaraki 1	30.95 $\pm$ 2.12	3.50 $\pm$ 0.58

Fig. 1. Comparison of the disease damage expressed by culm length and number of spikes between Ea 52 (resistant), Ea 17 (susceptible), and the original variety Chikurin Ibaraki 1.

からみても同程度の被害を受けたことが認められる。

F₂ およびその両親につき収穫後の株重の分布を Fig. 2 に示した。図中の黒および白のヒストグラムはそれぞれ2月下旬に葉の黄化と生育抑制程度から判定した抵抗性および罹病性個体を表わす。なお、Ea 52 の個体中にみられた2個体の罹病性個体および F₂ 個体中の病害により枯死した9個体は除いてある。F₂ の株重は明らかに2頂分布となり株重によっても抵抗性と罹病性の判別が可能であった。両者の相対比は 46 : 115 (±枯死個体9) で、数個体の例外はあるが全体として病徴による抵抗性対罹病性の判定と株重による判定とはよく一致していた。

つぎに Ea 52 の早熟性と病害抵抗性の遺伝的関係を調べるため、Ea 52 および F₂ 集団の病徴からみた抵抗性個体の出穂期の分布を求めた結果を Fig. 3 に示した。

Fig. 2. Distribution of plant weight for F₂ from a cross Ea 17 (Susceptible) × Ea 52 (Resistant). Open and solid columns show the plants with and without external symptoms, i. e. leaf yellowing and stunting, respectively.

Fig. 3. Distribution of heading time on plant basis of Ea 52 and the resistant plants of the F₂ from a cross Ea 17 × Ea 52. Data of the susceptible parent Ea 17 and the susceptible F₂ plants were omitted since the plants showed more or less delay in heading due to the disease damage. The bars show the range of heading time for the original variety.

Table 3. Relation between external symptoms as expressed by leaf yellowing and stunting and the presence or absence of BYMV and SBWMV in the resistant mutant Ea52 and the original variety

	Ea 52		Original variety
	Apparently healthy	Stunted	Chikurin Ibaraki 1
Barley yellow mosaic virus	—	—	+++
Soil-borne wheat mosaic virus	—	+++	+++

— and +++ stands for the absence and presence of virus particles, respectively. Only 2 out of 22 plants of Ea52 exhibited stunting and slight leaf yellowing, the residual plants being normal in growth. All of the plants of the original variety were diseased.

Ea 17 および F_2 の罹病性個体は程度の差はあるがいずれも病害による生育不良のため著しく出穂が遅延し、そのうちの一部は出穂しないまま枯死したので図から除いた。なお、無汚染圃場における原品種の個体の出穂期は4月20日～26日の幅を示し、平均4月23日であった。もし、Ea 52 と Ea 17 が同一の早熟性遺伝子をもっているならば、当然 F_2 では出穂期の分離は生じない。また、同一遺伝子でない場合でも、Ea 52 の病害抵抗性が Ea 52 のもつ早熟性遺伝子の多面発現であるならば F_2 の抵抗性個体はすべて早熟性になるはずである。しかし、 F_2 の抵抗性群の出穂期の分布をみると、Ea 52 の最も早い個体よりさらに出穂の早い個体が分離しているいっぽう、原品種の出穂期である4月21日をピークとする晩生個体も多数分離した。したがって、病害抵抗性は早熟性遺伝子の多面発現ではなく、早熟性突然変異とは別個の突然変異によると結論される。また、Ea 52 と Ea 17 とは異なる早熟性遺伝子をもつと考えられる。

病徴と植物体ウイルス感染との関係を調べるため、原品種および Ea 52 の葉を Dip 法により電顕観察した (Table 3)。その結果、原品種では BYMV およびムギ類萎縮病ウイルス (soil-borne wheat mosaic virus 以下 SBWMV と略す) の両者が検出されたのに対し、Ea 52 の抵抗性個体には BYMV も SBWMV も認められなかった。さらに、Ea 52 個体中低頻度ながら出現した罹病個体には SBWMV のみで BYMV は観察されなかった。

考 察

以上のとおり、早熟性突然変異体 Ea 52 はオオムギ萎縮病に対して高度の抵抗性を示すこと、および、その抵抗性は主働遺伝子に支配され罹病性に対し完全劣性であることが判明した。

オオムギ萎縮病抵抗性に関与する主働遺伝子にはこれまで Y_m および Y_{m2} の2遺伝子が知られている (高橋ら 1970)。これらはともに罹病性に対して不完全優先であるのに対し、Ea 52 の抵抗性遺伝子は完全劣性であるので Y_m あるいは Y_{m2} とは異なる新しい遺伝子である可能性が高い。高橋ら (1970) によれば、 Y_m は第4染色体、 Y_{m2} は第1染色体上に座位することが知られているので、今後本遺伝子の染色体上の位置が求められれば、 Y_m および Y_{m2} との異同がさらに明らかになるであろう。ここでは仮に本遺伝子を y_{m3} と名づける。

電顕観察により Ea 52 は BYMV だけでなく SBWMV に対しても抵抗性であることが認められた。ムギ類萎縮病はウイルスの形状が異なることと、葉にねじれやひだを生じる点でオオムギ萎縮病と区別される。しかし、両病害の一般的的病徴は比較的似ており、とくに両病害を併発する圃場では病徴による区別は容易でない。本実験においては、原品種および Ea 17 の個体は葉の著しい黄色えそ斑と矮化を示したのに対し、Ea 52 の抵抗性個体はこれらの病徴をまったく示さなかった。また、Ea 52 の罹病個体は矮化のみで葉の黄色斑は僅かであった。このようにそれぞれの病徴は電顕観察による結果と一致していた。

Ea 52 のもつ両抵抗性はそれぞれ別個の突然変異によるのであろうか、それとも、同一突然変異の多面発現であろうか。これを決めるには F_2 において両病害のどちらか片方にのみ罹病性の個体の有無を調べればよい。しかし、病徴によって F_2 各個体の両病害の有無を判定することは困難であったので、抵抗性対罹病性に大別して考察する。両抵抗性が連鎖関係のない2個の突然変異遺伝子によるとした場合、両方が優性、両方が劣性、どちらか片方が優性の3通りに対して F_2 での抵抗性個体と罹病性個体の期待比はそれぞれ 15:1, 1:15, 3:13 となる。しかし観察比 44:126 は前2者にはもちろん、3:13 の比にも適合しなかった ($\chi^2=5.68$, $p<0.05$)。このように、考えられる分離比中劣性単遺伝子分離の期待比 1:3 以外には適合しなかったこと、病害抵抗性のように誘発頻度の低い突然変異が2種同一個体に併発することはきわめて稀であること、および優性方向への突然変異の例は数少ないことから、Ea 52 の両抵抗性は同一遺伝子の多面発現によると推測される。なお、Ea 52 個体中にムギ類萎縮病にのみ罹病性の個体がみられたのは本病害抵抗性に関して遺伝子の浸透度が不完全なためではないかと考えられる。

病害抵抗性の突然変異として報告された中には原品種の他品種との自然交雑による例がしばしばある。しかし、著者らの圃場にはオオムギ縞萎縮病抵抗性の遺伝子源になるような品種はもちろん、他の六条品種もいっさい併存しなかったこと、Ea 52 は原品種とくらべて早熟性および病害抵抗性以外には可視的形質に関する限り差異を示さなかったこと、Ea 52 の病害抵抗性は人為突然変異で最もふつうにみられる劣性の主働遺伝子による遺伝を示すことなどから、ここに報告した病害抵抗性は他品種との自然交雑によるものではなく、真に突然変異に由来することが明らかである。なお、早熟性突然変異は圃場変異としては比較的高頻度で誘発されるが、それでもなお早熟性と病害抵抗性という2特性を併有した突然変異体が選抜されたことは興味深い。

病害抵抗性の突然変異は FREISLEBEN and LEIN (1942) によるオオムギのうどんこ病抵抗性突然変異を最初として現在までに多数の作物で各種の病害について報告されている。著者らの一人もオオムギで誘発されたうどんこ病抵抗性突然変異について報告した (山口・山下 1979)。しかし、これまでの病害抵抗性突然変異はほとんどが糸状菌および細菌による病害に限られ、ウイルス病についてはその重要性にもかかわらずきわめて少ない。確かな例としては KOELLE (1961) によるタバコの Y-ウイルス抵抗性と、TULMANN NETO ら (1977) によるインゲンの bean golden mosaic virus 抵抗性が知られているのみである。本報告はとくに土壤伝染性ウイルス病の抵抗性突然変異として最初の事例である。

縞萎縮病の被害は二条大麦にとくに大きいので、六条大麦に見出された抵抗性遺伝子の二条大麦への導入が試みられ、最近すぐれた系統が育成されつつある。しかし、二条品種と六条品種間の交配は遺伝背景が著しく異なるため、その育成には中間母本の積み重ねによる長期間の努力が必要である。この報告の抵抗性突然変異は早熟性突然変異体の遺伝解析中偶然発見されたものであるが、誘発の可能性が確かめられた現在、今後はどのような誘発方法によれば効率よくウイルス抵抗性突然変異が誘発できるかが重要な課題で、二条大麦を用いた誘発方法の比較が望まれる。

謝 辞

電子顕微鏡によるウイルス粒子の検定は、植物ウイルス研究所の斎藤康夫部長ならびに宇杉富雄技官の御好意によるもので、ここに深く感謝の意を表する。

引用文献

- FREISLEBEN, R. and A. LEIN 1942. Über die Auffindung einer mehlttauresisten Mutante nach Röntgenbestrahlung einer anfälligen reinen Linie von Sommergerste. *Naturwissenschaften* 30: 608.

- INOUE, T. and Y. SAITO 1975. Barley yellow mosaic virus. Description of plant viruses No. 143 Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.
- KOELLE, G. 1961. Genetische Analyse einer Y-Virus-(Rippenbräune) resistenten Mutante der Tabaksorte Virgin A. Züchter 31: 71~72.
- 斎藤康夫・岡本 弘 1964. 土壌伝染性ムギウイルス病に関する研究 V. 品種抵抗性の研究 農技研報 C 17: 75~102.
- 高橋隆平・林 二郎・山本秀夫・守屋 勇・平尾忠三 1966. 大麦の縞萎縮病抵抗性に関する研究 第1報 二条および六条大麦品種の抵抗性検定試験 農学研究 51: 135~143.
- 高橋隆平・井上忠男・林 二郎・守屋 勇・平尾忠三・光畑興二 1968. 大麦の縞萎縮病抵抗性に関する研究 第2報 品種の抵抗性程度と被害との関係ならびに異なる常発地の病原ウイルスに対する品種反応比較 農学研究 52: 65~78.
- 高橋隆平・林 二郎・守屋 勇・平尾忠三 1970. 大麦の縞萎縮病抵抗性に関する研究 第3報 抵抗性の遺伝と連鎖 農学研究 53: 153~165.
- TULMANN NETO, A., A. ANDO and A. S. COSTA 1977. Attempts to induce mutants resistant or tolerant to golden mosaic virus in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). "Induced Mutations against Plant Diseases" 281~290. IAEA Vienna
- 鵜飼保雄・山下 淳 1979. 放射線および化学物質により誘発されたオオムギ早熟性突然変異 I. 誘発頻度と突然変異体の特性の要約 育種 29: 255~267.
- 山口勲夫・山下 淳 1979. 二条オオムギにおけるウドンコ病抵抗性突然変異の誘発利用に関する研究 I. 抵抗性突然変異誘発における γ 線とエチレンイミンの比較 育種 29: 237~248.

Summary

A barley mutant resistant to barley yellow mosaic virus (BYMV) was selected from a total of 150 early mutants induced from a variety Chikurin Ibaraki 1 with physical and chemical mutagens. The original variety is a six-rowed covered form with winter habit. The mutant, coded as Ea 52, was originally screened as an early mutant from M_3 after acute irradiation of growing plants at vegetative stage with 250R of gamma-rays. When grown in a field severely infested with BYMV, all early mutants except Ea 52 showed more or less leaf yellowing characteristic to BYMV disease and proved to be highly susceptible, while Ea 52 exhibited no such external symptoms.

The mutant Ea 52 was crossed as male parent to a susceptible mutant Ea 17 that has a similar degree of earliness. Segregation of resistance and susceptibility to disease in F_2 was clear-cut from the absence or presence of leaf yellowing and stunting. The number of resistant and susceptible plants was 44 and 126 respectively, giving a good fit to the Mendelian ratio of 1:3 that is expected from a single gene inheritance. The resistant character was completely recessive to the susceptible. No sign of association of the disease resistance with heading time was observed. Although diseased plants more or less recovered their growth as temperature rose in April, almost all of them produced lower number of tillers, smaller plant weight and lower culm length at maturity.

Leaves of plants of Ea 52 and the original variety were examined by direct-negative method under electron microscope. It was found that the original variety included particles of both BYMV and soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV), while apparently healthy plants of Ea 52 contained neither virus. Diseased plants which were detected among the plants of Ea 52 with a low frequency were found to be infected by SBWMV but not by BYMV.

UKAI, Y. and A. YAMASHITA

Institute of Radiation Breeding, NIAS MAFF, Ohmiya-machi, Naka, Ibaraki 319-22