

エステラーゼアイソザイム(同位酵素)遺伝子型を標識とした オオムギ縞萎縮病抵抗性の選抜ならびに抵抗性遺伝子の集積

五月女敏範・早乙女和彦・河田尚之・福田暎・宮川三郎*

I 緒言

オオムギ縞萎縮病は、わが国のビール大麦の病害の中で最も重大な病害で、著しい減収や醸造用品質の低下を招く。この病害はオオムギの根に寄生する *Polymyxa graminis* によって媒介される土壤伝染性ウイルス病のオオムギ縞萎縮病ウイルス(Barley Yellow Mosaic Virus; BaYMV)により引き起こされる。最近では、わが国だけでなくヨーロッパや韓国の冬作オオムギに於いても同様に重要な病害となっている²⁾。本病に対する有効な防除方法はなく²⁷⁾、BaYMV抵抗性品種を作付する以外に確実な防除方法はない。本病に対する抵抗性遺伝資源の探索の結果、多数の抵抗性品種が見いだされており^{14, 35)}、抵抗性遺伝子は *Ym*³⁵⁾、*Ym2*³⁵⁾、*ym3*⁴⁰⁾、*ym4*³⁾ が報告されている。ビール大麦の育種では、木石港3由来の第3染色体長腕に座する抵抗性遺伝子 *Ym*²¹⁾ が利用され、ミサトゴールド¹⁶⁾、ミカモゴールド⁴¹⁾ などの抵抗性品種が育成され大きな成果をあげている。また、食料用二条大麦でもはがねむぎ由来の *ym3*¹¹⁾ をもつイシユクシラズが育成されている。

近年、オオムギ縞萎縮病ウイルスの系統分化が明らかになり^{1, 5, 8, 22, 28, 41)}、現在のところ大きく I、II、III 型の3つのグループに分類されている⁸⁾。わが国のBaYMV汚染圃場のほとんどは I 型であるが³⁹⁾、茨城県で発見された III 型系統に対しては *Ym* を持つ品種は発病し、著しく減収はしないものの発病株率は90%を超える場合もある⁵⁾。BaYMV III 型系統は、茨城県³⁸⁾ だけでなく栃木県南部のビール大麦産地でも拡大している。ビール大麦品種のなす二条は *Ym*、*Ym2*、*ym3* と異なる抵抗性遺伝子を持ち³⁷⁾、III 型に対して抵抗性であるが I 型には罹病性である⁶⁾。はがねむぎ由来の抵抗性遺伝子 *ym3* は、I、II、III 型のいずれの系統に対しても抵抗性である⁵⁾ が、現在までこの *ym3* を持った BaYMV 抵抗性ビール大麦品種は育成されていない。いずれの BaYMV 系統にも抵抗性を示すビール大麦品種は育成されておらず、その育成が強く望まれている。さらに、*Ym* を持った系統を冒さずに *ym3* を持ったオオムギ系統を冒す BaYMV が山口県で発見されており、*Ym* と *ym3* とを集積した

品種の育成が必要となっている。

BaYMV 抵抗性品種を育成する上で、BaYMV 系統毎の検定圃場が利用できれば、選抜効率は高まるが、その様な単系統のみによる汚染圃場の確保及び維持は困難である。また、抵抗性遺伝子に密接に連鎖する標識遺伝子がある場合には同様に選抜に利用できるが、エステラーゼアイソザイム遺伝子ブロック *Est1-Est2-Est4*^{4, 7)} と密接に連鎖している *Ym*^{24, 29)} を除いて、*Ym2*、*ym3* の標識遺伝子は発見されていない。*ym3* を確実に持つ品種の育成は BaYMV 罹病性品種と *ym3* を持つ系統との交配と抵抗性検定によって可能である。しかし、在来抵抗性品種と罹病性ビール大麦品種との交配による品種育成では *Ym* の場合、南系 B4641²⁹⁾ や Resist-*Ym* No. 1²⁴⁾ などの中間母本の育成までに5~8年を要し、普及品種ができるまでに約20年を要している。現在、関東二条29号³²⁾ など *ym3* を持つビール大麦系統が育成されているが、普及には至っておらず、実用的な *ym3* を持つ品種の育成にはまだ時間がかかると思われる。また、高品質ビール大麦品種の多くが *Ym* を持っており、抵抗性高品質ビール大麦の育種においては交配親として *Ym* を持った品種を使用せざるをえない。それらと *ym3* を持った系統との交雑により *ym3* を持った品種を育成する場合、BaYMV I 型圃場においては *Ym* 及び *ym3* の両方が抵抗性反応を示すため、*ym3* を持った系統を効率的に選抜することは難しく、また、*Ym* と *ym3* とを集積した品種を育成することも困難となっている。

ところで、アイソザイムはその多型により作物の起源地の推定²⁵⁾、遺伝的分化¹⁸⁾ や品種識別⁴⁴⁾ などに利用されてきた。育種的な利用としては、ニラのアポミクシス率の推定¹⁷⁾ やニラの雑種選抜¹⁵⁾、選抜標識としてトマト³³⁾ やインゲン⁴²⁾ など病害抵抗性遺伝子と緊密に連鎖しているアイソザイム遺伝子などの報告がある。オオムギの場合、アイソザイムは既に21種類の酵素に関する42遺伝子座が明らかにされ³⁰⁾、先述のエステラーゼを用いて *Ym* を選抜する方法^{19, 31)} が報告されている。しかし、九州農試で適用した例はあるが日常的に品種育種に利用している報告はない。また、DNA マーカーや種子貯蔵蛋白等の多型を標識とした遺伝子の集積の試みは、イネ⁴⁴⁾ をはじめと

* 現北陸農業試験場

してオオムギでもホルデンによるうどんこ病抵抗性遺伝子 *MI-k* と *MI-a*²³⁾ などが報告されているが、品種育成に日常的に用いた例はない。

本報告では、BaYMV抵抗性遺伝子 *Ym* とそれと密接に連鎖するエステラーゼアイソザイム遺伝子型を用いて抵抗性遺伝子型の推定やBaYMV I型圃場で低い危険率で確実に *ym3* を持った系統を選抜する方法(結果及び考察1)、さら

にBaYMV III型汚染圃場を検定に利用することにより *Ym* と *ym3* の両方を持つ遺伝子集積系統の育成を効率的に行う方法(同2)を提案し、実際のビール大麦品種の育種に導入したので、それらについて報告をする。

更に、BaYMV抵抗性遺伝子 *Ym* と *ym3* との交雑後代においてその遺伝子出現頻度が有意に歪むという興味ある結果(同3)も得たので併せて報告する。

第1表 供試材料一覧

世代	組合せ 番号	組 合 せ		系統数	抵抗性遺伝子給源	
		(<i>Ym</i>)	/ (<i>ym3</i>)		<i>Ym</i>	<i>ym3</i>
F ₅	1	ヤチホゴールド	/ 栃系220 (♂)	38	木石港3	はがねむぎ
	2	〃	/ 栃系221 (♂)	23	〃	〃
	3	〃	/ 栃系222 (♂)	26	〃	〃
	4	〃	/ 栃系223 (♂)	30	〃	〃
	5	〃	/ 栃系226 (♂)	52	〃	〃
	6	タカホゴールド	/ 関東二条29号 (♀)	25	〃	〃
	7	〃	/ 栃系220 (♂)	55	〃	〃
	8	〃	/ 栃系221 (♂)	45	〃	〃
	9	〃	/ 栃系222 (♂)	22	〃	〃
	10	〃	/ 栃系223 (♂)	33	〃	〃
	11	〃	/ 栃系226 (♂)	55	〃	〃
	12	〃	/ 〃 (♀)	27	〃	〃
	13	九州二条11号	/ 関東二条29号 (♂)	39	〃	〃
	14	〃	/ 栃系220 (♂)	63	〃	〃
	15	〃	/ 栃系221 (♂)	38	〃	〃
	16	〃	/ 栃系223 (♂)	10	〃	〃
	17	〃	/ 栃系226 (♂)	26	〃	〃
	18	大系R3426	/ 関東二条29号 (♀)	23	〃	〃
	19	〃	/ 栃系226 (♀)	15	〃	〃
計	19	4	6	654		
F ₆	20	アサカゴールド	/ 関東二条29号 (♀)	13	木石港3	はがねむぎ
	21	ヤチホゴールド	/ 新田二条14号 (♂)	4	〃	〃
	22	〃	/ 〃 (♀)	15	〃	〃
	23	〃	/ 栃系216 (♀)	3	〃	Ea52
	24	〃	/ 栃系217 (♀)	5	〃	はがねむぎ
	25	タカホゴールド	/ 関東二条29号 (♀)	12	〃	〃
	26	〃	/ 栃系216 (♀)	7	〃	Ea52
	27	〃	/ 栃系217 (♀)	9	〃	はがねむぎ
	28	関東二条25号	/ 関東二条29号 (♀)	8	〃	〃
	29	〃	/ 栃系216 (♀)	13	〃	Ea52
	30	〃	/ 栃系217 (♀)	15	〃	はがねむぎ
	31	〃	/ 大系R3156 (♀)	12	〃	〃
	32	関東二条26号	/ 関東二条29号 (♀)	5	〃	〃
	33	〃	/ 栃系216 (♀)	2	〃	Ea52
	34	〃	/ 栃系217 (♀)	2	〃	はがねむぎ
	35	〃	/ 大系R3156 (♀)	4	〃	〃
計	16	5	4	129		

II 材料及び方法

供試材料として、木石港3 由来のBaYMV I型抵抗性遺伝子 *Ym* と同 I 型及びIII型抵抗性遺伝子 *ym3* を単独で持つビール大麦品種、系統間の組合せの F_5 及び F_6 系統を用いた(第1表)。交配は1990年~1992年春に行い、 F_2 ~ F_3 は無選抜で集団養成し、 F_4 穂別系統で栃木分場内BaYMV I型汚染圃場においてBaYMV抵抗性の選抜及び草型、穂数、穂型、出穂期、倒伏程度などの農業形質で選抜を行った F_5 派生系統19組合せ645系統と、さらに F_5 で農業形質で選抜した F_6 派生系統16組合せ129系統を用いた。

Ym に密接に連鎖し選抜標識となるエステラーゼアイソザイム遺伝子 *Est1-Est2-Est4* の遺伝子型は、HAVID and NIELSEN (1977) の方法に準じテンブengel電気泳動法により決定した。泳動用の材料は11月上旬に圃場に播種し自然条件で養成したもので、翌年の2~3月に最上位の新葉(第7~9葉)の葉身を1系統あたり5個体を供試した。BaYMV抵抗性遺伝子型は、1993年及び

1994年に栃木分場内I型汚染圃場と栃木県壬生町のIII型汚染圃場に材料を播種し、オオムギ縞萎縮病のモザイク病斑の有無により抵抗性を検定し推定した。

また、BaYMV抵抗性ビール大麦品種育成のための母材として *Ym2*、*ym3* 及び *Ym* と非対立遺伝子と考えられる抵抗性遺伝子を持つオオムギ品種・系統のエステラーゼアイソザイム遺伝子型を電気泳動法により調査した。

III 結果及び考察

1. BaYMV 抵抗性遺伝子型の推定

BaYMV抵抗性遺伝子 *Ym* と *ym3* との交雑後代系統における遺伝子型推定法を検討した。

結果は、本実験に供試した材料の親品種・系統のBaYMV系統に対する反応とエステラーゼアイソザイム *Est1-Est2-Est4* の遺伝子型を第2表に示した。*Ym* を持つ交配親のエステラーゼアイソザイム遺伝子型はすべて *Ca-null-Nz* (木石港3型)、*ym3* を持った交配親の遺伝子型は全て *Pr-Fr-Su* (Prior型)であった。

Ym とエステラーゼアイソザイム遺伝子が約1~6%

第2表 供試材料の親品種及び主要なBaYMV抵抗性品種の抵抗性遺伝子とエステラーゼアイソザイム *Est1-Est2-Est4* の遺伝子型

品種名 及び 系統名	BaYMV 抵抗性 遺伝子	エステラーゼアイ ソザイム遺伝子型 <i>Est1-Est2-Est4</i>	BaYMV 系統 に対する反応**	
			I 型	III 型
タカホゴールド [*] 、ヤチホゴールド [*] 、 アサカゴールド [*] 、関東二条25号 [*] 、 関東二条26号 [*] 、九州二条11号 [*] 、大系R3426 [*]	<i>Ym</i>	<i>Ca-null-Nz</i>	RR	S
関東二条29号 [*] 、新田二条14号 [*] 、栃系216 [*] 、 栃系217 [*] 、栃系220 [*] 、栃系221 [*] 、栃系222 [*] 、 栃系223 [*] 、栃系226 [*] 、大系R3156 [*] 、 (イシユクシラズ ^a) (Ea52 ^b)、(倍取 ^a) (はがねむぎ ^a)	<i>ym3</i>	<i>Pr-Fr-Su</i> <i>Ca-Un-Su</i> <i>Ca-null-Nz</i>	RR	RR
(御堀裸3号 ^c)	<i>Ym2</i>	<i>Af-null-Su</i>	RR	RR
(Sonate ^d) (Diana ^d)	<i>ym4</i>	<i>Pr-Fr-Su</i> <i>Ca-Fr-Su</i>	RR	R
なす二条	<i>unkown</i>	<i>Ca-Un-Su</i>	S	RR

注1) *は本実験に供試した材料の親系統

2) 品種及び系統の()はビール大麦以外、その他はビール大麦

3) ** RR: 完全抵抗性, R: 僅かに発病, S: 罹病性

4) ^a KAWADA(1991), ^b UKAI(1984), ^c 高橋(1970), ^d Friedt(1990)による

の組換え価で連鎖してことが知られており^{12, 20)}, 理論的には高い確率でこれらの交雑後代で木石港型の系統は *Ym* を持つと推定された。また, *Ym* は不完全優性, *ym3* は劣性遺伝子で, 両ヘテロ遺伝子型 (*Ym/+*, *ym3/+*) も罹病性であるが, 本材料の様にBaYMV I型圃場で完全な抵抗性を示したF₁穂別系統は *Ym* または *ym3* のどちらかはホモ化しており, かつⅢ型圃場で抵抗性の系統は *ym3* をホモで持っていると考えられた。なお, Ⅲ型圃場ではモザイク病斑の発現が不十分で, *ym3*ヘテロの系統と *ym3* を持たない罹病性ホモの系統の区別は困難であった。

以上のことより, エステラーゼアイソザイム遺伝子型, BaYMV I型及びⅢ型圃場における反応を調査すれば, 系統の持つBaYMV抵抗性遺伝子型が推定できると考えられた。すなわち, I型に抵抗性を示しエステラーゼアイソザイム遺伝子が木石港3型の系統の中で, Ⅲ型に抵抗性の系統の抵抗性遺伝子型は *Ym/Ym*, *ym3/ym3*, Ⅲ型罹病性系統は *Ym/Ym*, *+/+* または *Ym/Ym*, *ym3/+*, エステラーゼアイソザイム遺伝子がヘテロ型でⅢ型抵抗性系統は *Ym/+*, *ym3/ym3*, エステラーゼアイソザイム遺伝子がPrior型でⅢ型抵抗性系統は *+/+*, *ym3/ym3* と推定され, それ以外のパターンは *Ym* とエステラーゼアイソザイム遺伝子 *Est1-Est2-Est4* との組換え体で *Ym* をホモに持つと考えられた (第3表)。

2. I型汚染圃場での *ym3* の選抜方法及び

Ym と *ym3* の集積方法

Ym を持つ品種と *ym3* を持つ品種の交雑後代系統において, エステラーゼアイソザイム遺伝子型を利用してBaYMV I型圃場で *ym3* を選抜する方法と *Ym* と *ym3* とを集積する方法を検討した。

前述したBaYMV抵抗性遺伝子型推定法に従って, *Ym* を

持つ品種と *ym3* を持つ系統との交雑後代F₅系統19組合せ, 645系統, F₆系統16組合せ, 127系統の遺伝子型を推定した。F₅及びF₆系統のエステラーゼアイソザイム遺伝子型とⅢ型圃場における結果を第4, 5表, これより推定した遺伝子型を第6表に示した。

本報に示したBaYMV抵抗性遺伝子型推定法で, I型圃場で抵抗性でかつエステラーゼアイソザイム遺伝子がPrior型の系統は *Ym* とエステラーゼアイソザイム遺伝子とが組換えを起こさない限り抵抗性遺伝子は *+/+*, *ym3/ym3* となる。このことから, I型圃場でエステラーゼアイソザイム遺伝子がPrior型の抵抗性系統を選抜すれば, *ym3* をホモに持った系統が選抜できると考えられた。この場合, *Ym* と木石港3型のエステラーゼアイソザイム遺伝子が密接に連鎖していることから, 誤って組換え体を選抜する確率は低いと推察される。第7表に示したように, 供試材料におけるこの組換え体の出現率は, 0.78~1.02%, 誤って組換え体すなわち *Ym/Ym*, *+/+*, *Ym/Ym*, *ym3/+* の遺伝子型の系統を選抜する誤選抜率は 4.76~4.92% となり品種育種上は問題ないと考えられた。

また, BaYMV I型及びⅢ型検定圃場で抵抗性を示し, エステラーゼアイソザイム遺伝子が木石港3型の系統を選抜すれば, 抵抗性遺伝子型は *Ym/Ym*, *ym3/ym3* となる。この場合も組換え体を選抜する危険性は低いと考えられ, エステラーゼアイソザイム遺伝子型, I型及びⅢ型圃場での抵抗性検定により, *Ym* と *ym3* とを両方持つ集積系統を選抜できると考えられた。

このBaYMV抵抗性遺伝子推定法を栃木分場で行っているビール大麦育種に適用し, 抵抗性遺伝子の推定及び遺伝子集積を効率的に行う手順を第1図に示した。

第3表 BaYMV I型抵抗性系統のエステラーゼアイソザイム遺伝子 *Est1-Est2-Est4* の遺伝子型とBaYMVⅢ型圃場での反応による BaYMV 抵抗性遺伝子型の推定

エステラーゼ アイソザイム	<i>Ca-null-Nz/Ca-null-Nz</i>		<i>Ca-null-Nz/Pr-Fr-Su</i>		<i>Pr-Fr-Su/Pr-Fr-Su</i>	
	RR	S	RR	S	RR	S
BaYMV Ⅲ型 に対する反応						
抵抗性遺 伝子型	<i>Ym/Ym,ym3/ym3</i>		<i>Ym/Ym,ym3/+</i>		<i>Ym/+ ,ym3/ym3</i>	
			<i>Ym/Ym, +/+</i>			
組換え型*	<i>Ym/+ ,ym3/ym3</i>		<i>Ym/Ym,ym3/ym3</i>		<i>Ym/Ym,ym3/+</i>	
	<i>+/+ ,ym3/ym3</i>		<i>+/+ ,ym3/ym3</i>		<i>Ym/+ ,ym3/ym3</i>	
			<i>Ym/Ym, +/+</i>		<i>Ym/Ym, +/+</i>	

注1) 供試材料は全て BaYMV I型に抵抗性。

2) * エステラーゼアイソザイム遺伝子 *Est1-Est2-Est4* と *Ym* との間で組換え。

第4表 F₅供試系統のエステラーゼアイソザイム *Est1-Est2-Est4* の遺伝子型及び BaYMV III型圃場における抵抗性反応

		BaYMV III型に対する反応				総計	エステラーゼ アイソザイム の分離理論値
		RR	S	計	不明		
エステラーゼ	<i>Ca-null-Nz/Ca-null-Nz</i>	166	259	425	40	465	425.7
アイソザイム	<i>Ca-null-Nz/Pr-Fr-Su</i>	27	12	39	1	40	25.8
	<i>Pr-Fr-Su/Pr-Fr-Su</i>	116	6	122	18	140	193.5
計		309	277	586	59	645	
BaYMV 抵抗性反応の理論値		386.8	199.2				

注1) 供試材料は19組合せ, 645系統

2) χ^2 (BaYMV)=45.98 (P<0.005) (不明は除く), χ^2 (エステラーゼ)=26.24 (P<0.005)

第5表 F₆供試系統のエステラーゼアイソザイム *Est1-Est2-Est4* の遺伝子型及び BaYMV III型圃場における抵抗性反応

		BaYMV III型に対する反応				総計	エステラーゼ アイソザイム の分離理論値
		RR	S	計	不明		
エステラーゼ	<i>Ca-null-Nz/Ca-null-Nz</i>	26	68	94	2	96	85.6
アイソザイム	<i>Ca-null-Nz/Pr-Fr-Su</i>	10	2	12	0	12	2.6
	<i>Pr-Fr-Su/Pr-Fr-Su</i>	20	1	21	0	21	40.8
計		56	71	127	59	129	
BaYMV 抵抗性反応の理論値		85.1	41.9				

注1) 供試材料は16組合せ, 127系統

2) χ^2 (BaYMV)=30.14 (P<0.005) (不明は除く), χ^2 (エステラーゼ)=44.22 (P<0.005)

第6表 F₅及びF₆系統における BaYMV 抵抗性遺伝子の出現頻度

世代	組合せ数	<i>Ym/Ym,ym3/ym3</i>	<i>Ym/Ym,+/+</i> <i>Ym/Ym,ym3/+</i>	<i>Ym/+,ym3/ym3</i>	<i>+/+,ym3/ym3</i>	計	χ^2	P
F5	19	166 (187.5)	277 (199.2)	27 (23.4)	116 (175.8)	586	53.70	<0.005
F6	16	26 (43.2)	71 (41.6)	10 (2.5)	20 (39.4)	127	58.47	<0.005

注) ()は各遺伝子型における出現頻度の理論値

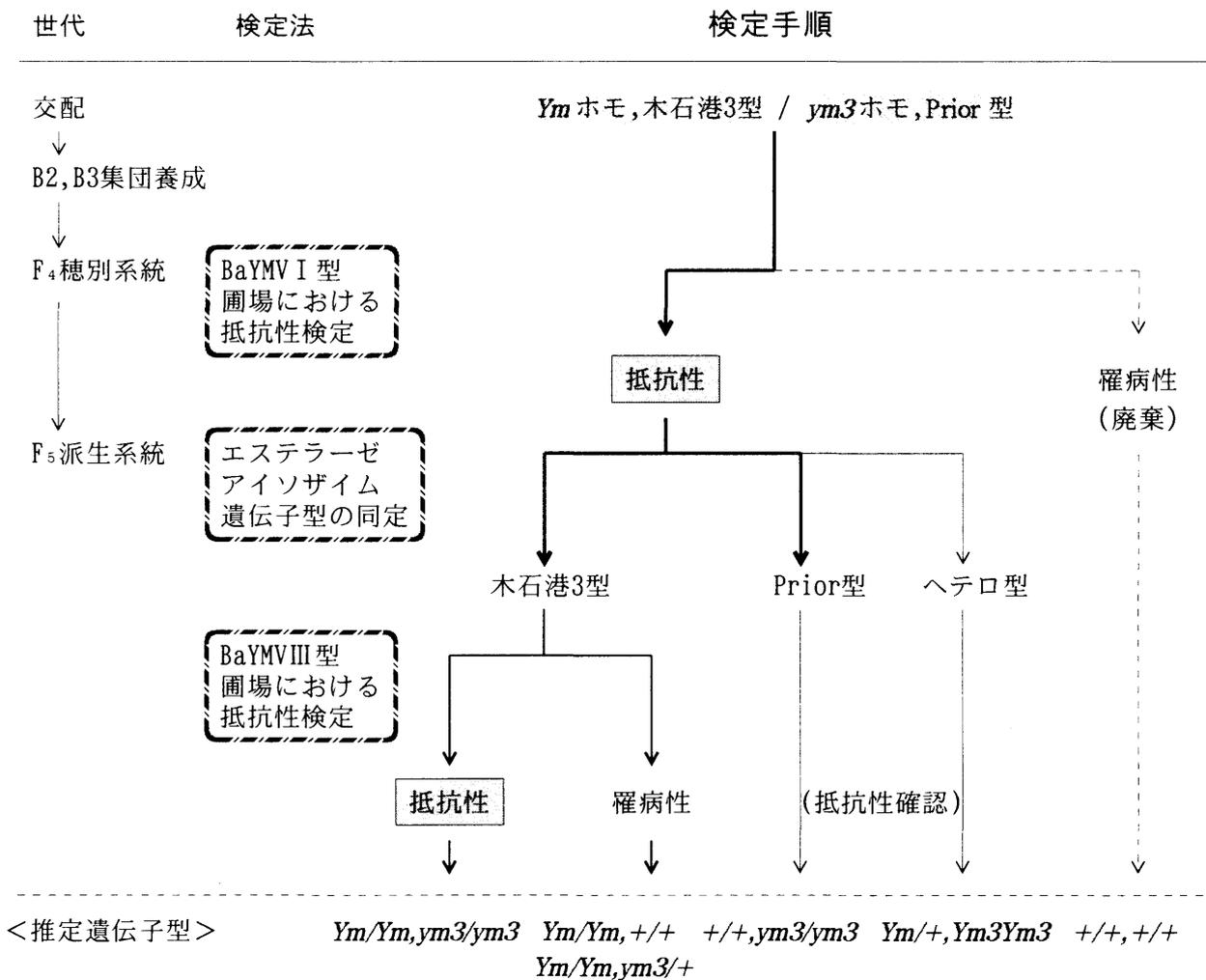
第7表 F₅及びF₆系統におけるエステラーゼアイソザイム遺伝子とBaYMV抵抗性遺伝子 Ymとの組換型のうち Prior型 Ym/Ym, +/+, Ym/Ym, ym3/+ の出現率

世代	供試系統数	Prior型* 系統数	Prior型 BaYMV III型 罹病性系統数	組換型** 出現率(%)	誤選抜率***(%)
F ₅	586	122	6	1.02	4.92
F ₆	127	21	1	0.78	4.76

注1) * Pr-Fr-Su/Pr-Fr-Su

2) ** BaYMV III型罹病性系統数 / 供試系統数 × 100

3) *** Prior型 BaYMV III型罹病性系統数 / Prior型系統数 × 100



第1図 BaYMV抵抗性育種における遺伝子推定手順

Ymを持ちエステラーゼアイソザイム遺伝子が木石港3型品種と ym3を持った Prior型系統の交雑後代で適用。(Ymとエステラーゼの組換体は省略)。

3. *Ym*と*ym3*の出現頻度の歪み

F_5 及び F_6 系統におけるエステラーゼアイソザイム遺伝子型及び抵抗性遺伝子の出現度数と頻度を第8表及び第9表に示した。エステラーゼアイソザイム、抵抗性遺伝子の出現頻度が明らかに理論値に適合しない組合せがあった。 F_5 系統では19組合せ中エステラーゼアイソザイム遺伝子で5組合せ、抵抗遺伝子で9組合せ、 F_6 系統では16組合せ中同じく7、5組合せあった。本材料では、1組合せ当たりの系統数が少なく期待度数が小さかったため全ての組合せを込みになると、エステラーゼアイソザイム、抵抗性遺伝子とも出現頻度が有意に歪み、Prior型と*ym3*の頻度が低くなった。また、分割表検定結果から、交配組合せによる差はなかった。エステラーゼアイソザイム遺伝子で木石港3型：ヘテロ型：Prior型の出現頻度は、 F_5 系統では理論値の0.66:0.04:0.30に対して0.73:0.05:0.22、 F_6 系統では0.66:0.02:0.32に対して0.74:0.09:0.16とPrior型の出現頻度が理論値に比べて有意に低く、木石港3型の頻度が有意に高かった。同様に、抵抗性遺伝子型で*Ym/Ym*, *ym3/ym3*: *Ym/Ym*, *+/+*又は*Ym/Ym*, *ym3/+*: *Ym/+*, *ym3/ym3*: *+/+*, *ym3/ym3*の出現頻度は、 F_5 系統では0.32:0.34:0.04:0.30に対して0.28:0.48:0.03:0.20、 F_6 系統では0.34:0.33:0.02:0.31に対して0.20:0.56:0.08:0.16と理論値に適合せず*Ym*の出現頻度が有意に高く、*ym3*の頻度が有意に低く歪んだ。また、 F_5 と F_6 系統を比較した場合、農業形質選抜を繰り返すほど歪みが大きくなった。

供試した組合せの親品種・系統で、系譜上の品種における*Ym*及び*ym3*遺伝子の分離比の歪みが報告されていない¹³⁾ことから、この歪みは分離比の歪みによるものではなく、これらの遺伝子と連鎖した雑種集団養成過程における集団構成の上で生じる歪み(例えば、穂数や1穂粒数の多少など)によるものか、草型、穂数、穂型、出穂期、倒伏程度などの農業形質の選抜によるものと推察された。小西ら(1987)は、エステラーゼアイソザイム遺伝子ブロックの周辺に育種上極めて重要な遺伝子があり、農業形質の選抜に伴ってエステラーゼアイソザイム遺伝子頻度が歪むことを示唆しているが、今後これらの歪みの原因を明らかにすることが育種上重要と思われる。

以上のことから、*Ym*を持つ品種と*ym3*を持つ品種の交雑後代において、*ym3*の出現頻度が減少するため*ym3*を持った系統や*ym3*と*Ym*との集積系統の育成には、農業選抜を行う以前の世代に*ym3*を対象とした選抜を加える必要があると考えられた。

4. BaYMV III型抵抗性ビール大麦品種育成母材への適用

主要なBaYMV抵抗性品種の抵抗性遺伝子とエステラーゼアイソザイム遺伝子型の調査結果を第2表に示した。本報告に記した選抜法や集積法は、オオムギの抵抗性育種において、BaYMV抵抗性遺伝子*Ym*を持つ品種とエステラーゼアイソザイム遺伝子型の異なる同III型抵抗性遺伝子*ym3*を持つ品種との交雑後代で適用できる。しかし、*ym3*を持つ品種のエステラーゼアイソザイム遺伝子型が*Ym*を持つ品種と同じ場合は適用することができず、はがねむぎはエステラーゼアイソザイム遺伝子型が木石港3型でありこれらの方法は適用できない。

また、*ym3*以外の抵抗性遺伝子を持つ品種でも*Ym*を持つ品種とエステラーゼアイソザイム遺伝子型が異なっていれば、同様に適用できると考えられ、*Ym2*を持った御掘裸3号³⁵⁾、*ym4*を持つSonate, Diana³⁾等においても、*Ym*との交雑後代系統での遺伝子の推定及び集積に利用できると考えられた。

また、本方法を用いる場合には交配に用いた抵抗性親品種のエステラーゼアイソザイム遺伝子型を事前に調査する必要がある。

最後に、本報告での方法がビール大麦をはじめとするオオムギ品種育成の上で貢献し、優れたBaYMV抵抗性品種が育成されることを期待してやまない。

IV 摘要

オオムギ縞萎縮病ウイルス(BaYMV) III型抵抗性品種の育成を行うに当たって、同I及びIII型抵抗性遺伝子*ym3*の選抜方法ならびに同I型抵抗性遺伝子*Ym*と*ym3*の伝子集積方法を確立する目的で行った。研究結果を要約すると以下の通りである。

1. *Ym*と密接に連鎖しているエステラーゼアイソザイム遺伝子*Est1-Est2-Est4*の遺伝子型が木石港3型で*Ym*を持つ品種とPrior型で*ym3*を持つ系統との交雑後代系統において、BaYMV I型に抵抗性を示し、エステラーゼアイソザイム遺伝子が木石港3型の系統の中でIII型に抵抗性系統の抵抗性遺伝子型は*Ym/Ym*, *ym3/ym3*、III型罹病性系統は*Ym/Ym*, *+/+*または*Ym/Ym*, *ym3/+*、エステラーゼアイソザイム遺伝子がヘテロ型でIII型抵抗性系統は*Ym/+*, *ym3/ym3*、エステラーゼアイソザイム遺伝子がPrior型でIII型抵抗性系統は*+/+*, *ym3/ym3*と推定された。

2. エステラーゼアイソザイム遺伝子がPrior型のI型抵抗性系統を選抜すれば、*ym3*をホモに持った系統が選抜できると考えられ、BaYMV I型圃場での抵抗性検定とエステラーゼアイソザイム遺伝子型を用いて*ym3*を持つ系統の選抜が可能であった。

第8表 F₅及びF₆供試系統のエステラーゼアイソザイム *Est1-Est2-Est4*の遺伝子型の出現頻度と適合性検定結果

世代	組合せ 番号	エステラーゼアイソザイム*				χ^2	P
		AA	AB	BB	計		
F ₅	1	19	6	13	38	14.90	P<0.005
	2	18	0	5	23	1.97	0.5>P>0.25
	3	19	4	3	26	11.57	P<0.005
	4	20	1	9	30	0.04	0.99>P>0.975
	5	32	1	19	52	1.46	0.5>P>0.25
	6	15	4	6	25	9.44	0.01>P>0.005
	7	39	2	14	55	0.60	0.75>P>0.5
	8	32	1	12	45	0.70	0.75>P>0.5
	9	19	1	2	22	4.60	0.25>P>0.1
	10	25	2	6	33	2.36	0.5>P>0.25
	11	42	3	10	55	3.75	0.25>P>0.1
	12	15	5	7	27	14.82	P<0.005
	13	34	1	4	39	7.92	0.025>P>0.01
	14	47	4	12	63	4.09	0.25>P>0.1
	15	30	1	7	38	2.84	0.25>P>0.1
	16	7	1	2	10	1.26	0.75>P>0.5
	17	21	1	4	26	2.71	0.5>P>0.25
	18	20	0	3	23	4.65	0.1>P>0.05
	19	11	2	2	15	4.78	0.1>P>0.05
計 (理論値)		465 425.7	40 25.8	140 193.5	645	26.24	P<0.005
出現頻度 (理論値)		0.73 0.66	0.05 0.04	0.22 0.30			
F ₆	20	8	2	3	13	11.68	P<0.005
	21	2	0	3	5	1.90	0.5>P>0.25
	22	1	0	3	4	3.49	0.25>P>0.1
	23	13	2	0	15	15.05	P<0.005
	24	2	1	0	3	15.34	P<0.005
	25	4	3	2	9	44.08	P<0.005
	26	7	1	4	12	2.45	0.5>P>0.25
	27	4	1	2	7	5.25	0.1>P>0.05
	28	6	0	2	8	0.37	0.9>P>0.75
	29	13	0	0	13	6.60	0.05>P>0.025
	30	15	0	0	15	7.62	0.025>P>0.01
	31	9	1	2	12	3.31	0.25>P>0.1
	32	5	0	0	5	2.54	0.5>P>0.25
	33	2	0	0	2	1.02	0.75>P>0.5
	34	2	0	0	2	1.02	0.75>P>0.5
	35	3	1	0	4	11.64	P<0.005
計 (理論値)		96 (85.6)	12 (2.6)	21 (40.8)	129	44.21	P<0.005
出現頻度 (理論値)		0.74 0.66	0.09 0.02	0.16 0.32			

注) * AA : *Ca-null-Nz/Ca-null-Nz*, AB : *Ca-null-Nz/Pr-Fr-Su*
 BB : *Pr-Fr-Su/Pr-Fr-Su*

第9表 F₅及びF₆供試系統のBaYMV抵抗性遺伝子の出現頻度と適合性検定結果

世代	組合せ 番号	BaYMV 抵抗性遺伝子型*				計	χ^2	P
		CC,dd	CC,-- CC,d-	C-,dd	--,dd			
F ₅	1	9	11	4	11	35	5.35	0.25>P>0.1
	2	9	9	0	5	23	1.99	0.75>P>0.5
	3	3	18	2	3	26	16.73	P<0.005
	4	4	16	1	7	28	7.40	0.1>P>0.05
	5	13	9	1	16	39	3.17	0.5>P>0.25
	6	11	6	4	4	25	12.49	0.01>P>0.005
	7	19	20	1	14	54	1.24	0.75>P>0.5
	8	11	19	1	5	36	7.01	0.1>P>0.05
	9	2	17	1	2	22	18.94	P<0.005
	10	8	17	2	6	33	5.48	0.25>P>0.1
	11	14	25	2	6	47	9.82	0.025>P>0.01
	12	8	8	4	7	27	8.24	0.05>P>0.025
	13	15	19	0	5	39	8.39	0.05>P>0.025
	14	13	28	0	8	49	13.19	P<0.005
	15	11	20	0	7	38	7.21	0.1>P>0.05
	16	1	6	1	2	10	4.73	0.25>P>0.1
	17	7	6	1	3	17	1.47	0.75>P>0.5
	18	6	14	0	3	23	8.26	0.05>P>0.025
	19	2	9	2	2	15	9.27	0.05>P>0.025
計		166	277	27	116	586	53.70	P<0.005
(理論値)		187.5	199.2	23.4	175.8			
出現頻度		0.28	0.48	0.03	0.20			
(理論値)		0.32	0.34	0.04	0.30			
F ₆	20	3	5	2	3	13	12.48	0.01>P>0.005
	21	0	3	0	2	5	3.04	0.5>P>0.25
	22	1	0	0	3	4	3.99	0.5>P>0.25
	23	1	13	1	0	15	22.67	P<0.005
	24	0	3	0	0	3	6.09	0.25>P>0.1
	25	2	2	3	2	9	45.08	P<0.005
	26	3	4	1	4	12	2.71	0.5>P>0.25
	27	1	2	1	2	6	6.99	0.1>P>0.05
	28	2	4	0	2	8	1.14	0.9>P>0.75
	29	6	7	0	0	13	6.57	0.1>P>0.05
	30	1	14	0	0	15	24.79	P<0.005
	31	2	7	1	2	12	6.60	0.1>P>0.05
	32	1	3	0	0	4	3.55	0.5>P>0.25
	33	1	1	0	0	2	0.99	0.9>P>0.75
	34	1	1	0	0	2	0.99	0.9>P>0.75
	35	1	2	1	0	4	12.26	0.01>P>0.005
計		26	71	10	20	127	58.46	P<0.005
(理論値)		43.2	41.9	2.5	39.4			
出現頻度		0.20	0.56	0.08	0.16			
(理論値)		0.34	0.33	0.02	0.31			

注) * CC : Ym/Ym, C- : Ym/+, dd : ym3/ym3, d- : ym3/+, -- : +/-

3. BaYMV I型及びIII型検定圃場で抵抗性を示し、エステルゼアインザイム遺伝子型が木石港3型の系統を選抜すれば、抵抗性遺伝子型は $Ym/Ym, ym3/ym3$ となり、エステルゼアインザイム遺伝子型、I型及びIII型圃場における抵抗性検定によって Ym と $ym3$ とを集積した系統の選抜方法を確立した。

4. これらの方法は、 $ym3$ だけではなくその他のBaYMV抵抗性遺伝子の $Ym2$ や $ym4$ などにも適用できる。

5. Ym を持つ品種と $ym3$ を持つ系統との交雑後代において、その抵抗性遺伝子型ならびにエステルゼアインザイム遺伝子型の出現頻度が歪み、 $ym3$ の頻度が有意に低くなることが明らかになった。従って、 $ym3$ を持つ系統や Ym と $ym3$ との遺伝子集積系統を育成する場合には、 $ym3$ の選抜を育成初期世代に行う必要があると考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、試験圃場の管理ならびに調査等の補助を頂いた栃木県農業試験場栃木分場ビール麦育種部石川武主任技術員に心から感謝の意を表します。

引用文献

1. 安正純・吉野正義 (1964) オオムギ縞萎縮病に関する生態的研究. 埼玉県農試研報 24:1-115
2. FRIEDT, W. and B. FOROUGHI-WEHR (1987) Genetics of resistance to Barley Yellow Mosaic Virus. Barley Genetics V : 659-664
3. Friedt, W., Ordon, F., Gotz, R. and Kaiser, R. (1990) Bodenbuetige Krankheiten, eine fortdauernde Herausforderung fur die Pflanzenzuchtung - beleuchtet am Beispiel der Gelbmosaikvirose der Gerste. Ber Arbeitstag Saatzucht I Gumpenstein 40 : 23-38
4. HVID, S. and G. NIELSEN (1977) Esterase isoenzyme variants in barley. I. Hereditas. Crop Sci. 87 : 155-162
5. 飯田幸彦・渡辺健・戸嶋郁子・小川奎 (1992) 大麦縞萎縮病ウイルス系統に対する大麦品種の抵抗性反応. 育雑 42 : 863-877
6. 飯田幸彦・渡辺健・戸嶋郁子・小川奎 (1993) 大麦縞萎縮病ウイルス系統に対する二条大麦大麦品種の抵抗性反応とエステルゼ同位酵素の遺伝型との関係. 育雑 43 : 113-122
7. Kahler, A.L. and Allard, R.W. (1970) Genetics of isozyme variants in barley. I. Esterase. Crop Sci. 10 : 444-448
8. KASHIWAZAKI, S., K. OGAWA, T. USUGI, T. OMURA and T. TSUCHIZAKI (1989) Characterization of several strains of Barley Yellow Mosaic Virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 55 : 15-25
9. 柏崎哲 (1990) 大麦死縞萎縮病における病原ウイルス系統と大麦縞萎縮病抵抗性をめぐる諸問題 - 病原ウイルス系統の研究の現状と今後の課題 - . 農業技術 45 (3) : 111-115
10. KAWADA, N. and M. TSURU (1987) GENETICS AND BREEDING OF RESISTANCE TO BARLEY YELLOW MOSAIC VIRUS. Barley Genetics V : 651-657
11. 河田尚之 (1988) オオムギ縞萎縮病抵抗性の遺伝様式 III. 劣性抵抗性遺伝子. 育雑 38 (別2) : 418-419
12. 河田尚之 (1989) オオムギ縞萎縮病抵抗性の遺伝様式 IV. 不完全優性遺伝子の遺伝分析. 育雑 39 (別2) : 286-289
13. 河田尚之・鶴政夫 (1990) 育種年限短縮のための遺伝形質の早期固定化技術の利用(育種研究報告昭和59年度 ~ 昭和63年度) 63-73
14. KAWADA, N. (1991) Resistant Cultivars and Genetic Ancestry of the Resistance Genes to Barley Yellow Mosaic Virus in Barley. Bull. Kyushu Nati. Agric. Exp. Stn. Vol. 27 No. 1
15. 木村栄 (1994) ニラの新品種育成 1) 交雑育種及び交雑系統の品種選定. 平成5年度野菜試験研究成績概要集 - 関東・東海 (I) - : 96-97
16. KOBAYASHI, S., H. YOSHIDA and K. SOUTOME (1987) Breeding for resistance to yellow mosaic disease in malting barley. Barley Genetics V : 667-672
17. KOJIMA, A., Y. NAGATO, and K. HINATA (1991) Degree of Apomixis in Chinese Chive (*Allium tuberosum*) Estimated by Esterase Isozyme Analysis. 育雑 41 : 73-83
18. 小西猛朗 (1989) 同位酵素からみた大麦の遺伝的分化に関する研究. 昭和63年度科学研究費補助金 研究成果報告書
19. 小西猛朗 (1989) 育種学最近の進歩 29 : 79-82
20. KONISHI, T. and S. MATSUURA (1989) Linkage Relationship between Two Loci for the Barley Yellow Mosaic Resistance of Mokusekko 3 and Esterase Isozymes. 育雑 39 : 423-430
21. KONISHI, T. and R. KAISER (1991) Genetic

- Difference in Barley Mosaic Virus Resistance between Mokusekko 3 and Misato Golden. 育雑 41 : 499-505
22. 草葉敏彦・遠山明・湯本武義・建部美次 (1971) 大麦縞萎縮病に対する二条大麦品種の抵抗性検定. 鳥取農試特別研報 第2集
23. Jensen, J., J.H. Jorgensen, H.P. Jensen, H. Giese and H. Doll (1980) Linkage of the hordein loci *Hor1* and *Hor2* with powdery mildew resistance loci *M1-k* and *M1-a* on chromosome 5. *Theor. Appl. Genet.* 85 : 27-31
24. Muramatsu, M. (1983) Breeding of Malting Barley Variety which is resistant to Barley Yellow Mosaic. *Barley Genetics III* : 476-485
25. Nakagahara, M. (1978) *Trop. Agr. Res.* Ser. 11 : 77-82
26. NIELSEN, G. and H. A. JOHANSEN. (1986) Proposal for the identification of barley varieties based on the genotypes for 2 hordein and 39 isoenzyme loci of 47 reference varieties. *Euphytica* 35 : 717-728
24. 大兼善三郎ら (1988) 二条大麦のオオムギ縞萎縮病防除. 栃木農試研報 35 : 77-86
28. 斉藤康夫・岡本弘 (1964) 土壌伝染性ムギウイルス病に関する研究 V. 品種抵抗性の検定. 農技研報 C17 : 75-102
29. SEKO, H. (1987) Development of a two-rowed malting barley cultivar resistant to Barley Mosaic. *TARC.* 21 (3) : 162-165
30. SHEPHERD, K. W. and A. K. M. R. ISLAM (1987) CYTOGENETIC MANIPULATION OF BARLEY CHROMOSOMES IN A WHEAT BACKGROUND. *Barley Genetics V* : 375-387
31. 早乙女和彦ら (1990) エステラーゼ同位酵素遺伝子型によるオオムギ縞萎縮病抵抗性系統の選抜. 栃木農試研報 37 : 1-9
32. 五月女敏範・早乙女和彦・福田暎・石川直幸・河田尚之 (1995) オオムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子 *ym3* を持つ高品質, 多収ビール大麦系統「関東二条 29 号」の育成. 育雑 45 (別 1) : 220
33. Stevens, M. A. and RICK, C. M. (1986) A Scientific Basis for Improvement. *Genetics and Breeding. In The Tomato Crop.* : 35-109
34. 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 二条大麦及び六条大麦品種の抵抗性検定試験. 農学研究 51 : 135-152
35. 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 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 53 : 153-165
36. Tanksley, S. D. and T. J. Orton (1983) *Isozymes in Plant Genetics and Breeding*
37. 寺村好司・小山内英一・伏田均・河西隆喜 (1990) ビール大麦新品種「なす二条」の育成とその縞萎縮病抵抗性について. 育雑 40 (別 2) : 174-175
38. 戸嶋郁子・渡辺健・飯田幸彦 (1991) 茨城県における大麦縞萎縮病 III 型系統発生実態調査 - 下館市小川地区における「ミサトゴールド」の発病状況. 関東東山病害虫研報 38 : 35-36
39. 鶴飼保雄・山下淳 (1980) オオムギにおける縞萎縮病抵抗性の突然変異. 育雑 30 : 125-130
40. Ukai, Y. (1984) Genetic analysis of a mutant resistant to Barley Yellow Mosaic Virus. *Barley. Genet. Newsl.* 14 : 31-33
41. 宇杉富雄・柏崎哲・土崎常男 (1985) オオムギ縞萎縮病ウイルス系統について. 関東東山病害虫研究会年報 32 : 53-55
42. Weeden, N. F., Provvidenti, R. and Marx, G. A. (1984) An isozyme marker for resistance to bean yellow mosaic virus in *Pisum sativum*. *The Journal of Heredity* 75 : 411-412
43. 吉田久ら (1988) 二条大麦新品種「ミカモゴールド」の育成 (二条大麦農林 13 号). 栃木農試研報 35 : 31-50
44. 吉村智美・吉村淳・R. J. NELSON・S. R. MCCOUCH・T. W. MEW・岩田伸夫 (1993) 分子マーカーを利用したイネ白葉枯病抵抗性遺伝子のマッピングと集積の試み. 育雑 43 (別 1) : 161

The methods of selection and accumulation for BaYMV resistance genes,
using the esterase isozyme genotype.

Toshinori SOTOME, Kazuhiko SOHTOME, Naoyuki KAWADA, Ei FUKUDA, Saburo MIYAGAWA

Summary

Barley Yellow Mosaic Virus, BaYMV, is one of the most serious diseases for malting barley. In recent years, it was proved that BaYMV strains was differentiated of pathogenicity to barley, and damage by BaYMV strain III to barley cultivares that have most popular resistance gene *Ym* in Japan is spreading.

We suggest the method of inference to BaYMV resistance genes using the genotype of esterase isozyme complex loci (*Est1-Est2-Est4*) that is tightly linked with *Ym*, BaYMV strains I and III contaminate fields in the cross varieties having *Ym* with esterase isozyme pattern *Ca-null-Nz*; Mokusekko 3 type and lines having *ym3* with *Pr-Fr-Su*; Prior type. For example, resistant lines for BaYMV I and III strains which have esterase isozyme genotype of Mokusekko 3 is the resistance gene type as that of *Ym/Ym,ym3/ym3*, in them similarly having Prior type is *+/+,ym3/ym3*. And this method shows that it is possible to select lines having *ym3* (homozygous genotype) in BaYMV I strain contaminated field by select of Prior type. Further, we establish the accumulative method to *Ym* and *ym3*. That is select esterase isozyme pattern of Mokusekko 3 type among lines of resistant for BaYMV strains I and III. And we find out the significant distortion of *ym3* appearance frequency in that crosses.

Bull. Tochigi Agr. Exp.

Stn. No.43 : 95~106 (1995)