

抵抗性遺伝子 *rym1* から *rym15* を有するオオムギの BaYMV 系統に対する評価とその利用

新井友輔・山口昌宏・大山亮・大関美香¹⁾・関和孝博・五月女敏範²⁾・加藤常夫

摘要: オオムギ縞萎縮病は大麦の生産において重大な病害であり、減収や品質低下等の大きな被害を引き起こす。本病害の原因であるオオムギ縞萎縮ウイルス(BaYMV)は日本国内で系統分化が進んでおり、I型からV型が確認されている。これまでに抵抗性遺伝子(*rym*)とBaYMV系統の相互関係が報告されてきたが、複数のウイルス系統が混在する圃場での検定であるため、その判定には不確定な部分が多く残されていた。本研究ではウエスタンブロットイング(WB)法とRT-PCR法を利用することにより、*rym1* から *rym15* を有する大麦品種(*rym10*, *Rym14* を除く)のI⁺, II, III, V型に対する反応を特異的に判定した。本研究は *rym7* から *rym15* の国内BaYMVの複数系統に対する反応を評価した最初のレポートである。我々の結果は、*rym8*, *rym12*, *rym13* のいずれかを有する品種はII, III型に罹病性だがI⁺, V型に抵抗性、*rym7*を有する品種はI⁺型に罹病性だがII, III, V型に抵抗性であることを示した。これらの品種は *rym3* や *rym5* と組み合わせることで抵抗性育種の素材として有用であると考えられた。既報と同様に、*rym1* と *rym5* を有する‘木石港3’および *rym3* と *rym5* を有する‘スカイゴールデン’はI⁺, II, III, V型全てに抵抗性を示した。今回、*rym2* を有する‘御堀裸3号’と未知の抵抗性遺伝子を有する‘大系M27’もI⁺, II, III, V型全てに抵抗性と判定された。

キーワード: オオムギ, BaYMV, 抵抗性遺伝子(*rym*), WB, RT-PCR

Evaluation of barley cultivars carrying *rym1* to *rym15* genes against Japanese BaYMV strains, and its utilization for resistant breeding

Yusuke ARAI, Masahiro YAMAGUCHI, Makoto OYAMA, Mika OOZEKI, Takahiro SEKIWA,
Toshinori SOTOME and Tsuneo KATO

Summary: Soil-borne barley yellow mosaic disease caused by *Barley yellow mosaic virus* (BaYMV) is a serious disease in the production of barley, giving rise serious damage such as yield decline and quality deterioration. BaYMV strains are differentiated in Japan, and types I to V have been confirmed. Although mutual relations between resistance genes (*rym*) and BaYMV strains have been reported, many undefined parts were left because they were investigated in fields where multiple strains are mixed. In this study, by using Western blotting (WB) method and RT-PCR method, the responses of barley cultivars carrying different resistance genes of *rym1* ~ *15* (except *rym10* and *Rym14*) to BaYMV type I⁺, II, III and V were specifically determined. This study is the first report evaluating the reactions of *rym7* ~ *15* against multiple Japanese BaYMV strains. Our results indicated that cultivars carrying either *rym8*, *rym12* or *rym13* were susceptible to type II and III, but resistant to type I⁺ and V, and cultivar carrying *rym7* was susceptible to type I⁺, but resistant to type II, III and V. We considered that these cultivars are useful as resistant breeding materials by combining with *rym3* and/or *rym5*. As in the previous report, ‘Mokusekko 3’ carrying both *rym1* and *rym5*, and ‘Sukai Golden’ carrying both *rym3* and *rym5* were resistant to type I⁺, II, III and V. In addition, ‘Mihori Hadaka 3’ carrying *rym2* and ‘Daikei M27’ with unknown gene were also determined to be resistant to type I⁺, II, III and V.

Key words: Barley, BaYMV, Resistance gene (*rym*), WB, RT-PCR

I 緒言

オオムギ縞萎縮病は大麦の生産において、特に重大な病害である。第1図に示すとおり、本病に罹病すると矮化や葉の黄化等の生育不良による減収や品質の低下を引き起こす(藤井ら, 1984; 氏原ら, 1984; 山口ら, 2002)。本病はネコブカビ類の *Polymyxa graminis* が媒介するオオムギ縞萎縮ウイルス *Barley yellow mosaic virus* (BaYMV) に起因する土壌伝染性のウイルス病である(玉田・近藤, 2014)。栽培技術による防除法は確立されておらず、抵抗性品種を作付けする以外に確実な防除手段はない(大兼ら, 1988)。国内の BaYMV は系統分化しており、大麦品種の感受性の相互関係により現在 I~V 型に分類されている(Kashiwazaki et al., 1989; 五月女ら, 2010)。最も広く分布している BaYMV 系統は I 型であり、III 型は北関東や九州北部に分布している(戸嶋ら, 1991; 五月女ら, 1997)。II, IV, V 型は特定の地域に限り確認される程度であるが、今後全国に拡散することも懸念される。本病に対する抵抗性遺伝資源の探索の結果、複数の抵抗性遺伝子が見出されている。抵抗性遺伝子は *rym* で表され、現在では *rym1* から *rym18* まで報告されている(Konishi et al., 2002; Ordon et al., 2005; Kai et al., 2012)。*rym1* から *rym6* の国内 BaYMV 系統に対する反応は数多く報告されているが(飯田ら, 1997; 河田・五月女, 1998; Konishi et al., 2002; Okada et al., 2003; 五月女ら, 2010)、*rym7* 以降については I 型の例のみであり(Konishi et al., 2002)、II~V 型に対する反応は不明であった。これまでの国内における抵抗性実用品種の育成は、*rym3* と *rym5* の利用にとどまっている(瀬古ら, 1986; Konishi et al., 1997; 谷口ら, 2001; 加藤ら, 2006)。*rym3* と *rym5* を併せ持つと I~V 型全てに抵抗性を示すが(五月女ら, 2010; 飯田ら, 2013)、今後 BaYMV のさらなる分化や海外からの流入も懸念されるため、抵抗性遺伝子の有用性評価に基づいた未利用遺伝子の導入や複数遺伝子の集積を図った素材開発が重要となる。

本研究は飯田ら(2013)の前報に二三の追加実験を加えた。つまり前報は複数の BaYMV 系統や病徴が類似するムギ類萎縮ウイルス(以下 JSBWMV)が混発する圃場での検定であ



第1図 オオムギ縞萎縮病の被害状況

るため、*rym* を有する大麦品種の評価に不確定な部分が残されていた。そこで本研究は、ウエスタンブロットィング法(以下 WB)と Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction(以下 RT-PCR)法を用いて植物体へのウイルス感染を調査するとともに、感染ウイルス系統を同定し、*rym1* から *rym15*(ただし *rym10*, *Rym14* を除く)を有する大麦品種の BaYMV 各系統に対する抵抗性と罹病性を高精度に判定した。今回、結果の概要を述べるとともに、抵抗性育種への利用について若干の考察を加えたので報告する。なお本研究は、農林水産省「農林水産・食品産業科学技術研究推進事業」により実施した。

II 試験方法

1. 供試圃場

ウイルス感染の年次変動を考慮し、試験は 2013 年(播種年)から 2016 年の 4 年実施した。BaYMV 系統 I 型, III 型検定試験は栃木県農業試験場栃木農場内の各々 10 番, 21 番圃場(栃木市大塚町)、BaYMV 系統 II 型検定試験は農研機構次世代作物開発研究センター谷和原圃場(茨城県つくばみらい市)、BaYMV 系統 V 型検定試験は山口県農林総合技術センター内圃場(山口市)で実施した。なお、BaYMV 系統 IV 型検定試験(栃木県大田原市)については、罹病性の指標品種(サチホゴールデン)に発病が認められなかったため試験成績は参考値とし、結果は省略した。

代表的な *rym* (*rym1*~6)の BaYMV 系統に対する反応について、既報(飯田ら, 1997; 河田・五月女, 1998; Konishi et al., 2002; Okada et al., 2003; 五月女ら, 2010)と本研究の結果を比較した(第1表)。今回の BaYMV 系統 III 型および系統 V 型の結果は既報と完全に一致したので本報告においても系統 III 型(以下 III 型)、系統 V 型(以下 V 型)と称した。系統 II 型については *rym2* の反応が既報と異なったが、ウイルス濃度の差によるものと判断し本報告でも系統 II 型(以下 II 型)と称した(考察を参照)。系統 I 型については *rym1* と *rym4* の反応が既報と異なったため、本報告では仮に系統 I⁺型(以下 I⁺型)と称することにした(考察を参照)。なお、II, III, V 型圃場は I 型(あるいは I⁺型)が混在しており、II 型圃場では JSBWMV も混発している。

2. 供試材料

供試材料は第2表に示す 19 品種とした。このうち、新田系 68 はサッポロビール株式会社より、竹林茨城 1 号は近畿中国四国農業研究センター(現農研機構西日本農業研究センター)より、Russia57, Muju covered 2, Taihoku A は岡山大学資源植物科学研究所より分譲を受けた。Franka, HHor3365, 10247, Bulgarian347 は USDA から導入した。その他の品種は栃木県農業試験場麦類研究室の保存種子を用いた。供試材料は 10 月下旬に 10 cm 点播、2 区制で約 20 粒播種し自然

第1表 BaYMV 系統に対する代表的 rym の反応に関する既報と本研究の比較

遺伝子	既報				本研究(一部は第4表と重複)			
	I 型	II 型	III 型	V 型	I ⁺ 型	II 型	III 型	V 型
rym1	R 2),3),4)	—	S 2),4)	—	S	R	S	S
rym2	R 1),2),3)	S 1)	R 1),2)	R 5)	R	R	R	R
rym3	R 1),2),3),4)	R 1),2)	R 1),2),4)	S 2),5)	R	R	R	S
rym4	R 1),2),3)	R 1)	S 1),2)	—	S	R	S	R
rym5	R 1),2),3),4)	R 1),2)	S 1),2),4)	R 2),5)	R	R	S	R
rym6	S 1),2),3),4)	R 1)	S 1),2),4)	S 2),5)	S	—	S	S

S: 罹病性, R: 抵抗性, —: 不明または供試なし.

既報の反応は, 1) 飯田ら(1997), 2) 河田・五月女(1998), 3) Konishi et al.(2002), 4) Okada et al.(2003), 5) 五月女ら(2010)よりそれぞれ引用.

条件下で養成した.

3. 評価方法

WB と RT-PCR に用いる材料はウイルスの感染が完了していると思われる 2 月中旬から 3 月上旬にサンプリングした. サンプル数は 1 区当たり 3~4 個体を基本とし, 2016 年度の 11 事例(結果を参照)は 1 区当たり 10 個体とした. WB は You and Shirako(2010)の方法に従った. サンプル(葉身:約 50mg, 根:約 100 mg)は-70°Cで凍結後, 粉碎抽出し, 抽出液をポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離した後に, メンブレン膜に転写し, 抗体反応によって BaYMV 外被タンパク質を検出した. 複数個体のサンプルのうち 1 個体でも葉身からウイルスを検出すれば, 罹病性と判定した.

RT-PCR のサンプル(葉身:約 100mg)は-70°Cで凍結し実験に用いた. RNA 抽出は RNeasy Mini Kit (QIAGEN) を使用した. 逆転写反応は Oligo (dT) 12-18 Primers (Invitrogen), SuperScript Reverse Transcriptase (Invitrogen), RNaseOUT Ribonuclease Inhibitor (Invitrogen) を使用した. PCR の DNA polymerase は rTaq (TAKARA) を使用し, プライマーは湯本らの方法(2008)に従い, 全ウイルス系統に共通のフォワードプライマー (5'-TAAGGGAACAAGTACCGCC-3') と I, III, V 型ウイルスに特異的なリバープライマー (各々, 5'-CCAAGATCGTAATCCGATGTGAC-3', 5'-CGTATCTTTGATAATAACCGTGGCTGA-3', 5'-GCAACCAAGTTTATGTCCTTATTGGATT-3') を用いた. PCR 条件は 94°C2 分, (94°C15 秒, 58°C 30 秒, 69°C1 分) × 35 サイクル, 69°C2 分で行い, PCR 産物を 1.5% アガロースゲルで泳動し増幅されたバンドの有無でウイルスの感染を判定した.

また参考として, 3 月中旬に達観でモザイク病徴程度を調査し, 0(無)~6(甚)の 7 段階に分類した.

III 結果

2013 年から 2016 年までの 4 年間の WB による調査の結

果を第2表に示した. 2015 年までの 3 年間で判定が不安定であった I⁺型の Russia57, Bulgarian347, II 型のあまぎ二条, Taihoku A, III 型の Franka, V 型の新田系 68, Russia57, 縞系 4-1-1, サチホゴールデン, Bulgarian347, なす二条の 11 事例は 2016 年の調査では検定個体数を 1 事例につき 10 個体に増加させ判定した. 11 事例のうち 2 事例(V 型の縞系 4-1-1, Bulgarian347)は抵抗性を示したが, 他は罹病性であった. また, II 型の 10247 はこれまで抵抗性としたが, 2016 年では罹病性を示し, 逆にこれまで罹病性としていた III 型の縞系 4-1-1 は 2016 年では抵抗性を示した. この様にウイルス感染は年次変動が見られたので, 4 年のうち 1 年でも WB でウイルスが検出された場合は罹病性と判断した. しかしながら, II, III および V 型圃場は I 型(あるいは I⁺型)が混在しているので, これらの圃場と I⁺型圃場の両方で罹病性と判定された品種は感染ウイルスを特定させる必要性が生じた.

そこで 2015 年までの判定で I⁺型圃場, III 型(I 型混在)圃場の両方で罹病性と判定された新田系 68, Russia57, Franka, あまぎ二条, HHor3365, Bulgarian347, なす二条, ニューゴールデン(指標品種)の 8 品種は RT-PCR に供試し, I 型混在の III 型圃場において, いずれのウイルスが感染しているのかを確認した. 新田系 68, Russia57, Franka, あまぎ二条, Bulgarian347 はニューゴールデンと同様に明確に III 型の感染が確認されたので III 型に罹病性と判定した(第2図A, 第3表). HHor3365, なす二条は他よりも III 型感染量が少なかったため, III 型抵抗性のサチホゴールデン, 御堀裸 3 号と比較した. その結果 HHor3365, なす二条は, サチホゴールデンおよび御堀裸 3 号と同程度かそれ以下の極めて薄いバンド検出であるため抵抗性と判定した(第2図D, 第3表). なお, 新田系 68, Russia57, Franka, あまぎ二条, HHor3365, Bulgarian347 は, I 型混在の III 型圃場で I 型ウイルス感染が確認できなかったが(第2図B), I⁺型圃場では I 型ウイルスの感染が確認された(第2図C).

I⁺型圃場, V 型(I 型混在) 圃場の両方で罹病性と判定された新田系 68, Russia57, あまぎ二条, Bulgarian347, なす二条, ニューゴールデン(指標品種)の6品種も RT-PCR に供試し, I 型混在の V 型圃場において, いずれのウイルスが感染しているのかを確認した. これらの品種は全てニューゴールデンと同様に明確に V 型の感染が確認されたため, V 型に罹病性と判定した(第3図A, 第3表). なお, 新田系 68, Russia57, あまぎ二条, Bulgarian347 は I 型混在の V 型圃場で I 型ウイルスの感染が確認できなかったが(第3図B), I⁺型圃場では I 型ウイルスの感染が確認された(第2図C).

I⁺型圃場, II 型(I 型混在) 圃場の両方で罹病性と判定された Russia57, あまぎ二条, Bulgarian347 は, II 型特異的プライマーが未開発のため, II 型圃場の感染ウイルスを特定できず評価できなかった.

4年間の WB 検定と2016年の RT-PCR の結果に基づき確定した各品種の評価は第4表のとおりである. 4H 染色体長腕の *rym1/II* 遺伝子座(Yang et al., 2014b)の *rym1* を有する新田系 68(Okada et al., 2003)と, *rym1I* を有する Russia57(Nissan-Azzouz et al., 2005)は類似した反応を示し, I⁺, III, V 型に罹病性であった. II 型に対しては, Russia57 は未確定であるが新田系 68 は抵抗性を示した. 7H 染色体長腕に座乗し, 皮裸性遺伝子と連鎖関係にある *rym2* を有する御堀裸 3号(高橋ら,1970)は, I⁺, II, III, V 型全てに抵抗性を示した.

皮裸性遺伝子と連鎖し *rym2* とは異なる遺伝子座とされている *rym7t* を有する縞系 4-1-1(福岡ら, 1991; 古庄・福岡, 1997)は, I⁺, II 型に抵抗性で, III, V 型に罹病性であった. 5H 染色体短腕に座乗する *rym3* を有するサチホゴールデン(鶴飼・山下, 1980; 河田, 1988; Saeki et al., 1999; 加藤ら, 2006)は, I⁺, II, III 型に抵抗性で V 型に罹病した. 3H 染色体長腕の *rym4/5/6* 遺伝子座(Kanyuka et al., 2005; Pellio et al., 2005)の *rym4* を有する Franka(Konishi and Furusho, 2000), *rym5* を有するミカモゴールデン(Konishi et al., 1997), *rym6* を有するあまぎ二条(Iida et al., 1999)は, 各々異なる反応を示し, Franka は II, V 型に抵抗性で I⁺, III 型に罹病性, ミカモゴールデンは I⁺, II, V 型に抵抗性で III 型に罹病性, あまぎ二条は I⁺, III, V 型に罹病性であった(II 型は未確定). 1H 染色体短腕の *rym7* を有する HHor3365(Yang et al., 2013)は II, III, V 型に抵抗性で I⁺型に罹病性であった. 4H 染色体長腕に遺伝子クラスターを形成し, *rym1/II* とは非対立である *rym8/9/12/13* (Bauer et al., 1997; Werner et al., 2003a; Humbroich, 2007)の各遺伝子を有する品種は, 10247(*rym8*), Muju covered 2(*rym12*), Taihoku A(*rym13*)が同じ反応を示し, I⁺, V 型に抵抗性で II, III 型に罹病性であった. 一方, Bulgarian347(*rym9*)は I⁺, III, V 型に罹病性であった(II 型は未確定). 6H 染色体短腕に座乗する *rym15* と, 5H 染色体短腕に座乗する *rym3* 対立遺伝子またはそれと密接に連鎖す

第2表 WBによるBaYMV 系統に対する供試品種の評価

品種名	遺伝子	I ⁺ 型				II 型(I 型混在)				III 型(I 型混在)				V 型(I 型混在)			
		2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016
ニューゴールデン	-	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
新田系 68	<i>rym1</i>	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
Russia57	<i>rym11</i>	S	S	R	S	nt	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S
御堀裸 3号	<i>rym2</i>	R	R	R	R	nt	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
縞系 4-1-1	<i>rym7t</i>	R	R	R	R	nt	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R
サチホゴールデン	<i>rym3</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
Franka	<i>rym4</i>	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R
ミカモゴールデン	<i>rym5</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R
あまぎ二条	<i>rym6</i>	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
HHor3365	<i>rym7</i>	S	S	S	S	nt	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R
10247	<i>rym8</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R
Bulgarian347	<i>rym9</i>	S	S	R	S	nt	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
Muju covered 2	<i>rym12</i>	R	R	R	R	nt	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
Taihoku A	<i>rym13</i>	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R
竹林茨城 1号	unknown + <i>rym15</i>	R	R	R	R	nt	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
なす二条	unknown	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S
大系 M27	unknown	R	R	R	nt	nt	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
木石港 3	<i>rym1+5</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
スカイゴールデン	<i>rym3+5</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

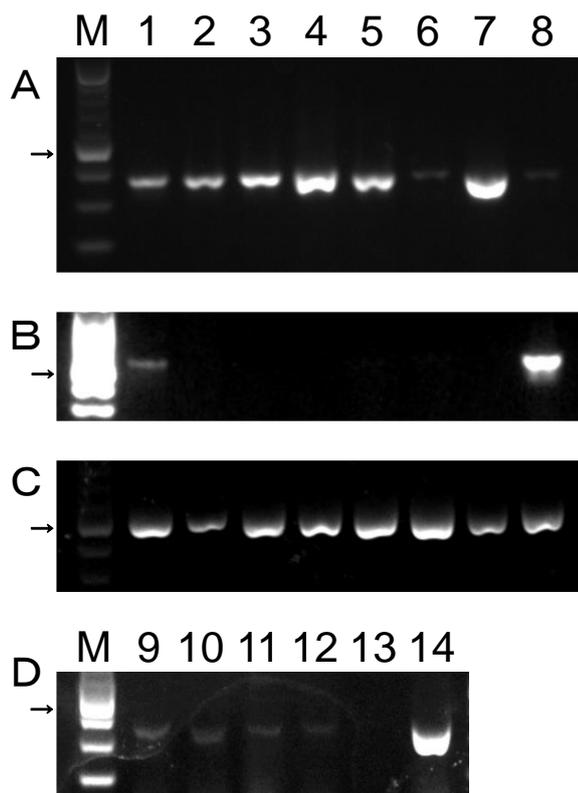
S(罹病性), R(抵抗性)は葉身の WB により判定, nt は供試なし.
ニューゴールデンは全ての BaYMV 系統に罹病性.

る遺伝子を有する竹林茨城 1 号 (Werner et al., 2003b ; Le Gouis et al., 2004) は, I⁺, V 型に抵抗性で II, III 型に罹病性を示した. 遺伝子未同定だが, *rym1*, *rym2*, *rym3*, *rym5* と非対立の単一劣性遺伝子を有するなす二条 (寺村ら, 1990) は, II, III 型に抵抗性で I⁺, V 型に罹病性を示した. 大系 M27 (遺伝子未同定), *rym1+rym5* を有する木石港 3 (高橋ら, 1970 ; Konishi and Kaiser, 1991 ; Konishi et al., 1997), *rym3+rym5* を有するスカイゴールド (谷口ら, 2001) は I⁺, II, III, V 型全てに抵抗性であった.

IV 考察

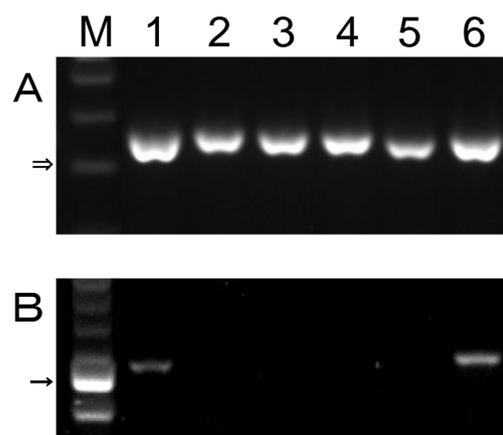
4 年間にわたり *rym1* から *rym15* (*rym10*, *Rym14* を除く) を有する大麦品種の BaYMV 国内主要系統に対する反応を評価した. 先ず本研究で使用した各圃場の BaYMV 系統の純度や濃度について考察する. 「試験方法」に記述したように *rym1* ~6 の反応について過去の報告と今回の結果を比較すると, III 型と V 型に対しては既報 (飯田ら, 1997 ; 河田・五月

女, 1998 ; Okada et al., 2003 ; 五月女ら, 2010) と完全に一致した (第 1 表). しかし, I 型に対しては, 新田系 68 (*rym1*) と Franka (*rym4*) の反応が罹病性となり, いずれも抵抗性としていた既報 (飯田ら, 1997 ; 河田・五月女, 1998 ; Konishi et al., 2002 ; Okada et al., 2003) とは異なる結果となった (第 1 表). *Rym4/5/6* は mRNA の 5' 末端キャップを認識する翻訳開始因子 (*HvEIF4E*) をコードし, BaYMV-RNA 5' 末端に結合した BaYMV ゲノム由来のタンパク質 (VPg) と相互作用することで, BaYMV の複製が起こる (Kanyuka et al., 2005 ; Stein et al., 2005). 一方, *Rym1/11* はタンパク質の高次構造形成を触媒するプロテインジスルフィドイソメラーゼ様 5-1 (*HvPDIL5-1*) をコードし (Yang et al., 2014a ; Yang et al., 2014b), BaYMV の翻訳タンパク質を正常な立体構造にする役割を担っている. また, BaYMV-RNA の in vitro 転写産物を用いた接種実験において, *rym2* や *rym3* が葉肉プロトプラストに感染するのに対して, *rym4/5/6* は感染が認められず, *rym1* も比較的感染量が少ないことが明らかにされている (You and Shirako, 2013). 以上のことを踏まえると, *rym4/5/6* および *rym1/11* は BaYMV 感染経路の上流の機構を防御していることが明白であり, 今回 *rym4* および *rym1* の反応が既報と異なった事実は, ウイルス側に何らかの変異がもたらされた可能性を示唆する. Kashiwazaki et al. (1989) は, 汁液接種の二条品種 (*rym3*, 5, 6) の反応の違いから I~III に分類し, さらに I 型を六条品種の反応から I-1~I-3 に細分類している. 今回の結果は I-1~I-3 の範疇だが, 検定用の六条品種の反応が不明であること



第 2 図 RT-PCR による BaYMV-III 型圃場 (I 型混在) で養成した材料の III 型感染 (A, D) および I 型感染 (B) と, BaYMV-I⁺ 型圃場で養成した材料の I 型感染 (C)

M: 100bp ladder, 矢印は 500bp, 1: ニューゴールドン, 2: 新田系 68, 3: Russia57, 4: Franka, 5: あまぎ二条, 6: HHor3365, 7: Bulgarian347, 8: なす二条, 9: サチホゴールドン, 10: 御堀裸 3 号, 11: HHor3365, 12: なす二条, 13: (ブランク), 14: ニューゴールドン D(9~14) は A(1~8) の 2 倍量アプライした



第 3 図 RT-PCR による BaYMV-V 型圃場 (I 型混在) で養成した材料の V 型感染 (A) および I 型感染 (B)

M: 100bp ladder, 矢印⇒は 200bp, →は 500bp, 1: ニューゴールドン, 2: 新田系 68, 3: Russia57, 4: あまぎ二条, 5: Bulgarian347, 6: なす二条

第3表 RT-PCRによるBaYMV-I型, III型, V型に対する供試品種の評価

品種名	I ⁺ 型圃場栽植	III型圃場(I型混在)栽植		V型圃場(I型混在)栽植	
	BaYMV-I型	BaYMV-I型	BaYMV-III型	BaYMV-I型	BaYMV-V型
ニューゴールデン	+	+	+	+	+
新田系68	+	-	+	-	+
Russia57	+	-	+	-	+
Franka	+	-	+	nt	nt
あまぎ二条	+	-	+	-	+
HHor3365	+	-	-	nt	nt
Bulgarian347	+	-	+	-	+
なす二条	+	+	-	+	+

I⁺型圃場とIII型圃場(I型混在), またはI⁺型圃場とV型圃場(I型混在)の両方で罹病性と判定された品種を供試(第2表参照).

+: 感染あり, -: 感染なし, nt: 供試なし.

から仮にI⁺型とした. 一方, II型に対する反応を既報(飯田ら, 1997)と比較すると, *rym3*, 4, 5の反応は一致したが, *rym2*の反応が抵抗性となり異なる結果となった(第1表). 飯田ら(1997)は, JSBWMVの混発圃場を含む5つのII型圃場に対する御堀裸3号(*rym2*)の反応をELISA法により調査し, 1圃場でBaYMVの感染を認めたが, 他の4圃場ではBaYMVの感染が認められなかったと報告している. Kashiwazaki et al. (1989)は, II型もI型同様に六条品種の反応の違いからII-1, II-2に細分類し, 検定用品種の一つである御堀裸3号が感染しないタイプをII-1, 感染するタイプをII-2としている. しかし, II-1はKashiwazaki et al. (1989)によればカシマムギや水府も感染しないことになるが(II-2は両品種ともに感染する), 本研究で使用したII型圃場のカシマムギは著しく発病し, 水府もまた発病した(データ略). また, 飯田ら(1997)の5つのII型圃場のカシマムギも高い発病株率であった. 以上のことから, 本研究と飯田ら(1997)のII型圃場はKashiwazaki et al. (1989)によるところのII-2の可能性が高く, 御堀裸3号(*rym2*)の反応の差異はウイルス濃度の影響であると考えられた. そのII型圃場は, あまぎ二条の反応からI型混在の可能性が高いと考えられるが(第1表, 第2表), I⁺型罹病性の新田系68やFrankaがII型圃場でウイルスを検出されなかったことから(第2表), II型圃場に混在するI型と栃木I⁺型はタイプを異にするのかもしれない.

次に評価精度について考察する. *rym*の種類によってBaYMVの感染に年次変動が見られた. ウイルスの感染は温度の影響を受け, 至適温度があることが知られている(Ohsato et al., 2003; 大藤, 2005; You and Shirako, 2010). 他にも根の状態等の要因も影響すると思われる. したがって単年での抵抗性の評価は難しく4年間実施したことに意義があり, より精度の高い判定ができたと考えられる. しかしながら, 今回検定に使用した圃場は複数のウイルス系統が混発しているため *rym* の

評価に不確定な部分が残されていた. つまり, III型圃場とV型圃場についてはI型が混在しているため, III型(I型混在)とI⁺型の両圃場で罹病性と判定された品種, およびV型(I型混在)とI⁺型の両圃場で罹病性と判定された品種は, I型のみ感染で, それぞれIII型あるいはV型には抵抗性という可能性も考えられた. この点を明らかにするため, 2016年にはI, III, V型系統に特異的なプライマーを設計し, RT-PCRによりウイルスの感染を特定した. BaYMVは2分節のRNAから構成され, 全域の塩基配列が決定している(Nishigawa et al., 2008). BaYMVのVPgコード領域は宿主(*rym4/5/6*)の感染力を支配することが証明されており(Li et al., 2016), 今回のI⁺, III, V型における*rym4/5/6*の反応は, I⁺型には*rym5*のみが抵抗性を示し, III型にはいずれも罹病し, V型には*rym4, 5*が抵抗性を示すように異なることから, 感染ウイルス系統の同定のためにVPg領域内で設計されたプライマー(湯本ら, 2008)を使用したことは妥当であると考えられた. RT-PCRの結果, 特定BaYMV系統の感染の有無を判定することができ, これまで不明確であった品種の抵抗性/罹病性を明確にすることができた(第2~3図, 第3表). この実験の中で, I⁺, II, III, V型に罹病性のニューゴールデンは, III型(I型混在)圃場およびV型(I型混在)圃場において, I型感染量は相対的に少ないながらも複数のウイルスが検出された. I⁺, V型に罹病性のなす二条もV型(I型混在)圃場において, I型とV型が検出された. これに対して, I⁺, III型に罹病性の新田系68, Russia57, Franka, あまぎ二条, Bulgarian347は, III型(I型混在)圃場においてI型の感染が認められなかった. 同様にIII型抵抗性でI⁺型罹病性のHHor3365も, III型(I型混在)圃場においてI型の感染が認められなかった. 新田系68, Russia57, あまぎ二条, Bulgarian347はI⁺型に加えV型にも罹病性であるが, V型(I型混在)圃場においてもやはりI型の感染が認められなかった. 本研究からはこれらの現

象を明確に説明することはできないが、圃場内で競合するウイルスの干渉効果が作用している可能性がある。今後定量的な検定を行うことで解明につながるかもしれない。II 型圃場でも III, V 型圃場同様に I 型の混発が疑われるが、II 型特異的プライマーが未開発であることから、感染しているウイルス系統の決定に至らなかった。今後、関係機関と連携して特異的プライマーの開発を進めていく予定である。

次に rym の有用性と育種利用について考察する。遺伝子の作用を明確に把握するためには準同質遺伝子系統を用いるのが最も適しているが(古庄・福岡, 1997; 河田・五月女, 1998), 本研究は品種比較であるため遺伝的背景の影響が少なからず含まれることを考慮されたい。rym7 から rym15 は海外で同定された遺伝子であり、国内 BaYMV 系統に対する反応はこれまでに I 型の報告のみで(Konishi et al., 2002), II ~ V 型に対する反応は不明であった。したがって本研究は rym7~15(rym10, Rym14 を除く)の II, III, V 型に対する反応を評価した最初のレポートとなる。Konishi et al. (2002) は rym7~12 について I 型に抵抗性であると報告しているが、それは福岡県のウイルス系統である。九州 I 型と栃木 I 型の反応が若干異なることは河田・五月女(1998)も報告しており、今回の栃木 I⁺型に対しては、HHor3365(rym7), Bulgarian347

(rym9), Russia57(rym11) が罹病性となり、Konishi et al. (2002)とは異なる反応を示した。rym7~15 の中で我々は条件付きになるが rym7, 8, 12, 13 が有用と考えた。rym7 を有する HHor3365(Yang et al., 2013)は、I⁺型に罹病したが、II, III, V 型に抵抗性であり、今回供試した中では唯一の反応パターンを示した。一方、4H 染色体長腕のテロメア領域に遺伝子クラスターを形成すると考えられている rym8/9/12/13(Bauer et al., 1997; Werner et al. 2003a; Humbroich, 2007)のうち、10247(rym8), Muju covered 2(rym12), Taihoku A(rym13)は、II, III 型に罹病したが、I⁺, V 型に抵抗性であった。Graner et al. (1999)は、rym7 を有する品種は欧州のオオムギマイルドモザイクウイルス Barley mild mosaic virus (BaMMV) に対して不完全な抵抗性であると報告し、Yang et al. (2013)は、そのような不完全抵抗性遺伝子の長所としてウイルスが宿主の抵抗性を打破する能力獲得を遅らせる可能性がある旨指摘している。また、McGrann and Adams (2004)は Polymyxa graminis を根に接種する実験から rym8 および rym9 を有する品種の抵抗性はウイルス移行段階の防御機構の可能性を示唆している。我々は 2013~2015 年に観察した根部の WB 検定において、年次で結果が異なったが、2013 年の V 型に対する Taihoku A(rym13), 2014 年の II 型に対する HHor3365

第4表 WB と RT-PCR により判定された BaYMV 系統に対する供試品種の評価

品種名	遺伝子	座乗染色体	I ⁺ 型 評価	II 型 評価	III 型 評価	V 型 評価
ニューゴールデン	—	—	S	S	S	S
新田系 68	rym1	4HL	S	R	S	S
Russia57	rym11	4HL	S	unknown	S	S
御堀裸 3 号	rym2	7HL	R	R*	R	R
縞系 4-1-1	rym7t	7HL	R	R	S	S
サチホゴールデン	rym3	5HS	R	R	R	S
Franka	rym4	3HL	S	R	S	R
ミカモゴールデン	rym5	3HL	R	R	S	R
あまぎ二条	rym6	3HL	S	unknown	S	S
HHor3365	rym7	1HS	S	R	R	R
10247	rym8	4HL	R	S	S	R
Bulgarian347	rym9	4HL	S	unknown	S	S
Muju covered 2	rym12	4HL	R	S	S	R
Taihoku A	rym13	4HL	R	S	S	R
竹林茨城 1 号	unknown + rym15	5HS+6HS	R	S	S	R
なす二条	unknown	unknown	S	R	R	S
大系 M27	unknown	unknown	R	R	R	R
木石港 3	rym1+5	4HL+3HL	R	R	R	R
スカイゴールデン	rym3+5	5HS+3HL	R	R	R	R

S(罹病性), R(抵抗性)は葉身の WB と RT-PCR により判定。

ニューゴールデンは全ての BaYMV 系統に罹病性。

II 型評価の unknown は I⁺型圃場, II 型(I 型混在)圃場の両方で S(罹病性)の品種, II 型特異的プライマーが未開発のため II 型圃場の感染ウイルスを特定できなかった。

* 御堀裸 3 号の II 型評価は R(抵抗性)としたが、ウイルス濃度が一定水準以上になると S(罹病性)になる可能性がある。

(*rym7*), 2015 年の I 型に対する Bulgarian347(*rym9*)では、葉身の感染が認められず根部のみに感染を認めた(データ略)。また、2016 年の III 型圃場における HHor3365 は RT-PCR ではウイルス感染が極僅かに認められる程度であったが(第2図)、異なる個体の WB では罹病性品種に比べると薄いバンドながらもウイルスが検出される場合も見られた(第2表)。今後のさらなる解析が必要だが *rym7*, *rym8/9/12/13* は根から地上部へのウイルスの移行を阻害する機構を持っているのかもしれない。ただし、Graner et al.(1999)によれば、*rym7* は欧州の BaMMV に抵抗性を示すことで見出された遺伝子であり、欧州の BaYMV には罹病性を示す。したがって、HHor3365 の国内 BaYMV に対する抵抗性は *rym7* 以外の遺伝子が関与する可能性を考慮しなければならない。また、10247(*rym8*), Muju covered 2(*rym12*), Taihoku A(*rym13*)は欧州の BaYMV と BaMMV の両方に抵抗性であるが(Konishi et al., 2002), 抵抗性遺伝子 *rym* のマッピングはいずれも BaMMV に対して行われている(Bauer et al., 1997; Werner et al., 2003a; Humbroich, 2007)。したがって、これらの品種の BaYMV に対する抵抗性は別の遺伝子が関与する可能性を否定できない。仮にそのような可能性が棄却され、*rym7*, 8, 12, 13 が国内 BaYMV 系統に抵抗性を示すのであれば、これらの遺伝子は単独では国内 BaYMV 全系統に対応できないが、*rym3* や *rym5* と組み合わせることによって有用であろう。

その *rym3* と *rym5* の反応は既報(飯田ら, 1997; 河田・五月女, 1998; Konishi et al., 2002; Okada et al., 2003; 五月女ら, 2010)と完全に一致し、前者は V 型に罹病するが I⁺, II, III 型に抵抗性、後者は III 型に罹病するが I⁺, II, V 型に抵抗性を示した。*rym3* と *rym5* がともに導入されたスカイゴールド(谷口ら, 2001)は、既報(五月女ら, 2010; 飯田ら, 2013)と同様に I⁺, II, III, V 型に抵抗性を示した(実際には IV 型にも抵抗性である)。また、遺伝子未同定だが、*rym1*, *rym2*, *rym3*, *rym5* と非対立の単一劣性遺伝子を有するなす二条(寺村ら, 1990)は I⁺, V 型に罹病するが、II, III 型に抵抗性であった。したがって、*rym8*, 12, 13 は *rym3* またはなす二条(の抵抗性遺伝子)との併用、*rym7* は *rym3* または *rym5* との併用が達成できれば、*rym3*+*rym5* と同様の効果を発揮する可能性は十分にある。スカイゴールドの *rym3* と *rym5* の集積は、エステラーゼアインザイム遺伝子型と BaYMV 汚染圃場での抵抗性個体の達観選抜により達成された(五月女, 2012)。今日では *rym3* と *rym5* の選抜は効率的な DNA マーカーを利用している(長嶺ら, 2007; 春山ら, 2012)。今後、*rym8*+*rym3* や *rym7*+*rym5* のようなタイプを目指して(実際には *rym8*+*rym3*+*rym5* や *rym7*+*rym3*+*rym5* を目指すことになる)、未利用の抵抗性遺伝子を効率よく集積させるためには、既知の DNA マーカー(Bauer et al., 1997; Werner et al.,

2003a; Humbroich, 2007; Humbroich et al., 2010; Yang et al., 2013)を精査するとともに、より実用性の高いマーカーを開発・利用する必要がある。

竹林茨城 1 号は欧州の BaYMV に抵抗性で(Werner et al., 2003b), 国内の BaYMV には罹病すると報告されているが(鶴飼・山下, 1980), 今回は I⁺, V 型に抵抗性を示した。竹林茨城 1 号の有する *rym15* は、欧州の BaMMV に対して抵抗性であることで見出された遺伝子である(Le Gouis et al., 2004)。一方、欧州の BaYMV に対する抵抗性は、5H 染色体短腕に座乗する *rym3* の対立遺伝子あるいはそれと密接に連鎖する遺伝子によると報告されている(Werner et al., 2003b)。今回 I⁺, V 型に抵抗性を示した竹林茨城 1 号の遺伝子は、*rym15* なのか 5H 染色体のもう一方の遺伝子なのかは今のところ不明である。今後各々の遺伝子の作用を明らかにする必要がある。

抵抗性遺伝子は不明だが、大系 M27 は I⁺, II, III, V 型全てに抵抗性であった。この系統は、罹病性の栃系 166 に γ 線照射した突然変異系統であり、対立性検定より *rym2*, *rym3*, *rym5* とは異なる単一遺伝子を有することが示唆されている(未発表)。しかし、穂型に異常をきたすなど欠点が多い。大系 M27 の抵抗性遺伝子を活用するための一方法として、我々が育成した罹病性の *Rym3* サチホゴールド準同質遺伝子系統の戻し交配が有効であろう。

rym2 を有する御堀裸 3 号は、これまで II 型に罹病性とされていたが(Kashiwazaki et al., 1989; 飯田ら, 1997), 今回は II 型を含む全ての BaYMV 系統に抵抗性を示した。前述したように既報と今回の結果の相違は II 型のウイルス濃度によるものと考えられた。サチホゴールド(*rym3*)も同様であったが、御堀裸 3 号(*rym2*)は III 型圃場で養成したサンプルを RT-PCR にかけると僅かながらウイルスが検出され(第2図D), *rym2*(および *rym3*)はウイルスの細胞間移動レベルの機構を防御する遺伝子であるとする You and Shirako(2013)の考えを支持する結果が示された。おそらくウイルス濃度が一定水準を超えたときにこの防御機構が機能しなくなり発病するとみられる。御堀裸 3 号(*rym2*)の II 型に対する反応は今後も注視していく必要があるが、I⁺, III, V 型には安定して抵抗性を示したので、抵抗性遺伝資源としては有用と考える。ただし、御堀裸 3 号は *rym2* の他に微動遺伝子の存在が示唆されているので(高橋ら, 1970), 今後 *rym2* 単独の作用を明らかにする必要がある。また、御堀裸 3 号はこれまでも数多く母本として利用されてきたが、品種はおろか有望系統の作出も成功していない。この事実から、御堀裸 3 号の持つ抵抗性遺伝子は農業形質に有害な多面発現効果を及ぼしている可能性、または農業上不利な形質と密接連鎖している可能性が考えられる。かつて不良形質との連鎖が指摘された *rym3*(はがねむぎ

由来)が、関東二条 29 号や新田系 30 を経ることによって効率よくサチホゴールドに導入されたように(五月女ら, 1995 ; 加藤ら, 2006), 今後, 御堀裸 3 号の *rym2* を有する実用品種育成のためには, *rym2* 周辺の連鎖ブロックから不良形質を排除させた中間母本を開発することを考える必要があるだろう。

縞系 4-1-1(*rym7t*)は, *rym3* と *rym7t* を有する徳島モチ裸から *rym7t* のみを受け継がせた実験系統である(福岡ら, 1991 ; 古庄・福岡, 1997). その *rym7t* は *rym2* と同様に皮裸性遺伝子と連鎖するが両者は非対立遺伝子とされている。*rym7t* はこれまで V 型には罹病するが I, II, III 型に抵抗性と報告され(河田・五月女, 1998 ; 五月女ら, 2010), DNA マーカーの開発とともに育種に利用されてきた(高田ら, 2012). しかし, 今回 V 型に加えて III 型にも罹病性を示したことから, *rym7t* の作用と有用性については御堀裸 3 号の *rym2* 単独の作用解析と併せて今後検討していく必要がある。

rym1 と *rym5* を持つことが知られている木石港 3(高橋ら, 1970 ; Konishi and Kaiser, 1991 ; Konishi et al., 1997)は, 既報(五月女ら, 2010 ; 飯田ら, 2013)と同様に I⁺, II, III, V 型全てに抵抗性を示した。新田系 68 が有する *rym1* とミカモゴールドが有する *rym5* の結果を見ると(第4表), *rym1* は I⁺, III, V 型に罹病性で, *rym5* は III 型に罹病性である。単純に考えれば *rym1* と *rym5* を有する木石港 3 は III 型には罹病する可能性が大きいと思われるが, III 型を含む全ての BaYMV 系統に抵抗性であった。この現象は従来から知られており, 複数の抵抗性遺伝子を集積することで相乗効果を発揮し, 単純な組み合わせ以上の抵抗性を示す可能性が考えられている(河田・五月女, 1998 ; Okada et al., 2004). *rym1* と *rym5* の各々の機能は前述したように既に解明されているが(Kanyuka et al., 2005 ; Stein et al., 2005 ; Yang et al., 2014a ; Yang et al., 2014b), それらの遺伝子の集積による相乗効果については不明である。今後は未解明の遺伝子の機能解明と併せて遺伝子集積の相乗効果の解明が抵抗性機作を理解するうえで重要であると考えられる。

これまで国内で確認されている BaYMV 系統は I~V 型であるが, 今後 BaYMV のさらなる分化や, 韓国, 中国, 欧州で確認されている海外の BaYMV 系統(Chen et al., 1996 ; Lee et al., 2006 ; Humbroich, 2007)の流入も懸念される。現状では栽培技術による対策がないため, 今後のあらゆる状況を想定し, 抵抗性遺伝子の機作解明や未利用抵抗性遺伝子の導入, 複数の抵抗性遺伝子を集積した品種や素材の開発に努めていく必要がある。

謝辞

本研究を遂行するにあたり, 岡山大学資源植物科学研究所武田真教授, 宇都宮大学農学部西川尚志准教授には多

大なご協力とご助言をいただいた。BaYMV-II 型および V 型の検定は農研機構次世代作物開発研究センターおよび山口県農林総合技術センターの関係各位にご協力いただいた。また, 当試験場技術員およびパート諸氏には圃場管理, 実験補助に多大な支援をいただいた。ここに記して感謝の意を表します。

引用文献

- Bauer E., Weyen J., Schiemann A., Graner A., Ordon F. (1997) Molecular mapping of novel resistance genes against barley mild mosaic virus (BaMMV). *Theor. Appl. Genet.* 95:1263-1269
- Chen J.P., Adams M.J., Zhu F.T., Wang Z.Q., Chen J., Huang S.Z., Zhang Z.C. (1996) Response of foreign barley cultivars to barley yellow mosaic virus at different sites in China. *Plant Pathol.* 45:1117-1125
- 藤井敏男・小林俊一・瀬古秀文 (1984) 大麦縞萎縮病抵抗性ビールムギ品種育成に関する研究 4.抵抗性系統の有用性. *育種*34(別1):306-307
- 福岡忠彦・古庄雅彦・牧野徳彦 (1991) モチ性大麦品‘徳島モチ裸’に存在する新しい縞萎縮病抵抗性遺伝子について. *育種*41(別2):388-389
- 古庄雅彦・福岡忠彦 (1997) オオムギ縞萎縮病抵抗性の遺伝子分析とその利用. *農研センター研報*27:31-71
- Graner A., Streng S., Kellermann A., Proeseler G., Schiemann A., Peterka H., Ordon F.(1999) Molecular mapping of genes conferring resistance to soil-borne viruses in barley – an approach to promote understanding of host-pathogen interactions. *J. Plant Diseases Protection* 106:405-410
- 春山直人・大関美香・五月女敏範 (2012) オオムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子 *rym3* の選抜に有効な DNA マーカー. *栃木農試成果集*30:65-66
- Humbroich K. (2007) Identification and mapping of resistance genes against soil-borne viruses barley (*Hordeum vulgare* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agricultural and nutritional sciences. Justus-Liebig-University, Halle*
- Humbroich K., Jaiser H., Schiemann A., Devaux P., Jacobi A., Cselenyi L., Habekuß A., Friedt W., Ordon F. (2010) Mapping of resistance against barley mild mosaic virus-Teik (BaMMV) – an *rym5* resistance breaking strain of BaMMV – in the Taiwanese barley (*Hordeum vulgare*) cultivar ‘Taihoku A’. *Plant Breed.* 129:346-348
- 飯田貴子・薄井雅夫・五月女敏範・山口昌宏・大関美香・

- 青木恵美子・鈴木康夫 (2013) オオムギ縞萎縮ウイルス系統に対する各種抵抗性遺伝子 (*rym*) を有する大麦品種の反応. 栃木農試成果集31:53-54
- 飯田幸彦・小川奎・渡辺健・千葉恒夫・山崎郁子・三田村剛・小西猛朗 (1997) 麦類の土壤伝染性ウイルス病に対する大麦品種の抵抗性に関する研究. 茨城農総セ農業研究所研報4:115-174
- Iida Y., Ban T., Konishi T. (1999) Linkage analysis of the *rym6* resistance gene to Japanese strain II of barley yellow mosaic virus (BaYMV-II) in barley. Barley Genet. Newsletter 29:31-32
- Kai H., Takata K., Tsukazaki., Furusho M., Baba T. (2012) Molecular mapping of *Rym17*, a dominant and *rym18* a recessive barley yellow mosaic virus (BaYMV) resistance genes derived from *Hordeum vulgare* L. Theor. Appl. Genet. 124:577-583
- Kanyuka K., Druka A., Caldwell D.G., Tymon A., Mccallum N., Waugh R., Adams M.J. (2005) Evidence that the recessive bymovirus resistance locus *rym4* in barley corresponds to the eukaryotic translation initiation factor 4E gene. Mol. Plant Pathol. 6:449-458
- Kashiwazaki S., Ogawa K., Usugi T., Omura T., Tsuchizaki T. (1989) Characterization of several strains of barley yellow mosaic virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan 55:15-25.
- 加藤常夫・長嶺敬・糸川晃伸・山口恵美子・大野かおり・渡辺浩久・大関美香・関和孝博・渡邊修孝・谷口義則・山口昌宏・大塚勝・小田俊介・常見讓史・五月女敏範・加島典子・仲田聡・河田尚之・石川直幸・小玉雅晴・野沢清一・福田暎・佐藤圭一・早乙女和彦・徳江紀子・宮川三郎・神永明 (2006) 二条大麦新品種「サチホゴールド」の育成(二条大麦農林22号). 栃木農試研報58:59-77
- 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. 育種38(別2):418-419
- 河田尚之・五月女敏範 (1998) オオムギ縞萎縮病抵抗性準同質遺伝子系統の作出と病原ウイルス系統に対する反応. 栃木農試研報47:65-77
- Konishi T., Kaiser R. (1991) Genetic difference in barley yellow mosaic virus resistance between Mokusekko 3 and Misato Golden. Japan. J. Breed. 41:499:505
- Konishi T., Ban T., Iida Y., Yoshimi R. (1997) Genetic analysis of disease resistance to all strains of BaYMV in a Chinese barley landrace, Mokusekko 3. Theor. Appl. Genet. 94:871-877
- Konishi T., Furusho M. (2000) German barley cv. 'Franka' possesses two different resistance genes to barley yellow mosaic virus (BaYMV) and barley mild mosaic virus (BaMMV). Barley Genet. Newsletter 30:55-57
- Konishi T., Ordon F., Furusho M. (2002) Reactions of barley accessions carrying different *rym* genes to BaYMV and BaMMV in Japan and Germany. Barley Genet. Newsletter 32:46-48
- Lee K.J., Choi M.K., Lee W.H., Rajkumar M. (2006) Molecular analysis of Korean isolate of barley yellow mosaic virus. Virus Genes 32:171-176
- Le Gouis J., Devaux P., Werner K., Hariri D., Bahrman N., Béghin D., Ordon F. (2004) *rym15* from the Japanese cultivar Chikurin Ibaraki 1 is a new barley mild mosaic virus (BaMMV) resistance gene mapped on chromosome 6H. Theor. Appl. Genet. 108:1521-1525
- Li H., Kondo H., Kühne T., Shirako Y. (2016) Barley yellow mosaic virus VPg is the determinant protein for breaking eIF4E-mediated recessive resistance in barley plants. Front. Plant Sci. 7:1449
- McGrann G.R.D., Adams M.J. (2004) Investigating resistance to barley mild mosaic virus. Plant Pathol. 53:161-169
- 長嶺敬・天谷正行・池田達哉・大関美香・春山直人・加藤常夫・五月女敏範 (2007) ビール大麦の主要形質DNAマーカーの開発・評価と育種利用上の問題点. 栃木農試研報59:45-54
- Nishigawa H., Hagiwara T., Yumoto M., Sotome T., Kato T., Natsuaki T. (2008) Molecular phylogenetic analysis of barley yellow mosaic virus. Arch. Virol. 153:1783-1786
- Nissan-Azzouz F., Graner A., Friedt W., Ordon F. (2005) Fine-mapping of the BaMMV, BaYMV-1 and BaYMV-2 resistance of barley (*Hordeum vulgare*) accession PI1963. Theor. Appl. Genet. 110:212-218
- 大兼善三郎・手塚徳弥・手塚紳浩・本郷武・中山喜一・斎藤司朗 (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
- Ohsato S., Miyanishi M., Shirako Y. (2003) The optimal temperature for RNA replication in cells infected by soil-borne wheat mosaic virus is 17°C. J. General Virol. 84:995-1000
- 大藤泰雄 (2005) コムギ縞萎縮病の発生生態に関する研究. 東北農研研報104:17-74
- Okada Y., Kashiwazaki S., Kanatani R., Arai S., Ito K.,

- (2003) Effects of barley yellow mosaic disease resistant gene *rym1* on the infection by strains of barley yellow mosaic virus and barley mild mosaic virus. *Theor. Appl. Genet.* 106:181-189
- Okada Y., Kanatani R., Arai S., Ito K. (2004) Interaction between barley yellow mosaic disease-resistance genes *rym1* and *rym5*, in the response to BaYMV strains. *Breed. Sci.* 54:319-325
- Ordon F., Ahlemeyer J., Werner K., Köhler W., Friedt W. (2005) Molecular assessment of genetic diversity in winter barley and its use in breeding. *Euphytica* 146:21-28
- Pellio B., Streng S., Bauer E., Stein N., Perovic D., Schiemann A., Friedt W., Ordon F., Graner A. (2005) High-resolution mapping of the *Rym4/Rym5* locus conferring resistance to the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) in barley (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* L.) *Theor. Appl. Genet.* 110:283-293
- Saeki K., Miyazaki C., Hirota N., Saito A., Ito K., Konishi T. (1999) RFLP mapping of BaYMV resistance gene *rym3* in barley (*Hordeum vulgare*). *Theor. Appl. Genet.* 99:727-732
- 瀬古秀文・田谷省三・藤井敏男・伊藤浩・小林俊一・土沢美津留・早乙女和彦・桐生光広・氏原和人・北原操一・武田元吉・野中舜二・川口数美・関口忠男・倉井耕一・鈴木崇之・大橋一夫・吉沢朋子・若田部紀国・久保野実・山野昌敏 (1986) 二条大麦新品種「ミサトゴールデン」について. *栃木農試研報*32:43-64
- 五月女敏範・早乙女和彦・河田尚之・福田暎・宮川三郎 (1995) エステラーゼアインゾイム(同位酵素)遺伝子型を標識としたオオムギ縮萎縮病抵抗性の選抜ならびに抵抗性遺伝子の集積. *栃木農試研報*43:95-106
- 五月女敏範・早乙女和彦・河田尚之・前岡庸介・井上興 (1997) BaYMV III 型系統の拡大及び抵抗性遺伝子 *ym3* を持つ品種の罹病について. *育雑*47(別1):279
- 五月女敏範・河田尚之・加藤常夫・関和孝博・西川尚志・夏秋知英・木村晃司・前岡庸介・長嶺敬・小林俊一・和田義春・吉田智彦 (2010) 栃木県におけるオオムギ縮萎縮ウイルスの発生状況と新たに見出されたオオムギ縮萎縮ウイルス系統. *日作紀*79:29-36
- 五月女敏範 (2012) ビールオオムギにおける大麦縮萎縮病抵抗性遺伝子集積品種の育成とその普及に関する研究. *栃木農試研報*67:1-55
- Stein N., Perovic D., Kumlehn J., Pellio B., Stracke S., Streng S., Ordon F., Graner A. (2005) The eukaryotic translation initiation factor 4E confers multiallelic recessive *Bymovirus* resistance in *Hordeum vulgare* (L.). *Plant J.* 42:912-922
- 高橋隆平・林二郎・守屋勇・平尾忠三 (1970) 大麦の縮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
- 高田依子・甲斐浩臣・内村要介・塚崎守啓・古庄雅彦・馬場孝秀 (2012) オオムギ縮萎縮病抵抗性遺伝子 *rym7* と連鎖する DNA マーカーの選定. *育種学研究* 14:43-49
- 玉田哲男・近藤秀樹 (2014) ネコブカビ類伝染性ウイルスとその媒介生物の生物学的及び遺伝的多様性. *日植病報*80特集号:143-150
- 谷口義則・小田俊介・常見讓史・大塚勝・関和孝博・糸川晃伸・山口昌宏・五月女敏範・福田暎・早乙女和彦・河田尚之・石川直幸・加藤常夫・加島典子・宮川三郎・神永明・小玉雅晴・佐々木昭博・仲田聡・徳江紀子・桐生光広・野沢清一・佐藤圭一・伊藤浩 (2001) 二条大麦新品種「スカイゴールデン」の育成(二条大麦農林20号). *栃木農試研報*50:1-18
- 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」の育成とその縮萎縮病抵抗性について. *育雑*40(別2):174-175
- 戸嶋郁子・渡辺健・飯田幸彦 (1991) 茨城県における大麦縮萎縮病 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デンの発生状況. *関東東山病害虫研報*38:35-36.
- 氏原和人・藤井敏男・野沢清一・関口忠男・千葉恒夫 (1984) 大麦縮萎縮病とビールムギ品質. *育雑*34(別1):302-303
- 鶴飼保雄・山下淳 (1980) オオムギにおける縮萎縮病抵抗性の突然変異. *育雑*30:125-130
- 山口昌宏・谷口義則・関和孝博・大塚勝・五月女敏範・小田俊介 (2002) オオムギ縮萎縮病がビール大麦の収量および麦芽品質に及ぼす影響. *栃木農試研報* 51:1-8
- Yang P., Perovic D., Habekuß A., Zhou R., Graner A., Ordon F., Stein N. (2013) Gene-based high-density mapping of the gene *rym7* conferring resistance to *Barley mild mosaic virus* (BaMMV). *Mol. Breed.* 32:27-37
- Yang P., Lüpken T., Habekuß A., Hensel G., Steuernagel B., Kilian B., Ariyadasa R., Himmelbach A., Kumlehn J., Scholz U., Ordon F., Stein N. (2014a) *Protein disulfide isomerase like 5-1* is a susceptibility factor to plant

- viruses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 111:2104-2109
- Yang P., Habekuß A., Ordon F., Stein N. (2014b) Analysis of bymovirus resistance genes on proximal barley chromosome 4HL provides the basis for precision breeding for BaMMV/BaYMV resistance. Theor. Appl. Genet. 127:1625-1634
- You Y., Shirako Y. (2010) Bymovirus reverse genetics: requirements for RNA2-encoded proteins in systemic infection. Mol. Plant Pathol. 11:383-394
- You Y., Shirako Y. (2013) Evaluation of host resistance to *Barley yellow mosaic virus* infection at the cellular and whole-plant leaves. Plant Pathol. 62:226-232
- 湯本真理・萩原智美・西川尚志・五月女敏範・加藤常夫・夏秋知英 (2008) オオムギ縞萎縮ウイルスの系統判別法の確立. 日植病報74(3):240
- Werner K., Röncke S., Le Gouis J., Friedt W., Ordon F. (2003a) Mapping of a new BaMMV-resistance gene derived from the variety 'Taihoku A'. J. Plant Diseases Protection 110:304-311
- Werner K., Friedt W., Laubach E., Waugh R., Ordon F. (2003b) Dissection of resistance to soil-borne yellow-mosaic-inducing viruses of barley (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) in a complex breeders' cross by means of SSRs and simultaneous mapping of BaYMV/BaYMV-2 resistance of var. 'Chikurin Ibaraki 1'. Theor. Appl. Genet. 106:1425-1432