

# オオムギ縞萎縮病抵抗性の評価法と抵抗性遺伝子の作用機作の解明

## 1. 成果の要約

GFP\*発現オオムギ縞萎縮ウイルスを用いて、抵抗性を視覚的に評価する手法を確立した。本法により異なる抵抗性遺伝子を保有する品種の葉・根・基部へ接種し、ウイルスの挙動を解析した。葉への接種では、III型を除き、ほ場での感受性と一致したことから、抵抗性評価法として有効であると考えられた。さらに、挙動解析の結果から、抵抗性遺伝子 *rym12* は根部から上位葉へのウイルス移行を抑制する作用があることが推察された。

\*GFP (Green Fluorescent Protein) は、青色の光を吸収して緑色の蛍光を発するタンパク質であり、本試験では、ウイルスの増殖に伴い GFP が生産されるため、ウイルス増殖部位で GFP 蛍光観察される。

## 2. キーワード

オオムギ縞萎縮病、BaYMV、抵抗性遺伝子、*rym* 遺伝子、GFP

## 3. 試験のねらい

大麦生産を阻む要因の一つであるオオムギ縞萎縮病は、オオムギ縞萎縮ウイルス (BaYMV : *Barley yellow mosaic virus*) が引き起こす土壌伝染性のウイルス病で、抵抗性品種の作付けが現実的な唯一の防除対策である。国内の BaYMV は、各種大麦品種への感染性の違いにより、I～V型に分かれており、全系統に抵抗性を示す単独の抵抗性遺伝子は無い。持続性のある抵抗性を付与するためには、作用機作の異なる抵抗性遺伝子を戦略的に集積することが望まれる。そこで、各抵抗性遺伝子の作用機作を明らかにするため、GFP 遺伝子を導入した光るウイルス (GFP 発現ウイルス) を作製し (図-1)、蛍光観察によりウイルスの増殖を可視化する手法を確立した。

## 4. 試験方法

各系統の GFP 発現ウイルスは、遺伝子銃による接種、または感染葉を接種源とした汁液接種により苗に接種した。接種用苗は土耕または水耕栽培で育成した。まず、ニューゴールドン (抵抗性遺伝子なし) の葉へ汁液接種し、発病初期と発病1か月後に RT-PCR、病徴、GFP 蛍光観察による調査を行い、大麦体内でのウイルスの増殖・移行や GFP 遺伝子の安定性を評価した。さらに、抵抗性遺伝子の作用機作を調べるため、異なる抵抗性遺伝子 (*rym1, 3, 5, 12*) を保有する4品種及び「ニューゴールドン」の葉・根・基部 (生長点周辺部) へ接種し、接種2か月後まで継続的に GFP 蛍光観察を行った。

## 5. 試験結果および考察

- (1) 「ニューゴールドン」の葉への汁液接種の結果、発病から1か月後 (接種約2か月後) まで、GFP 遺伝子の脱落もなく、新葉で GFP 蛍光が確認できた。また、GFP 蛍光と RT-PCR によるウイルス検出及び病徴は一致し、病徴より先に GFP 蛍光を確認した。よって、蛍光観察によりウイルスの増殖部位を確認することで、抵抗性を視覚的に評価する手法を確立した (図-2)。
- (2) 各品種の葉へ汁液接種した結果、III型を除き、ほ場感受性と一致した。よって、本法は、抵抗性評価法として有効であると考えられた。また、*rym* 遺伝子を持つ罹病性品種は「ニューゴールドン」と比べて、発病株率が低い傾向にあった (表-1)。
- (3) 「ニューゴールドン」の根へ遺伝子銃により接種した結果、GFP 蛍光は接種部位付近の細根に留まり、発病しなかった。よって、本ウイルスは根で増殖しにくいことが示唆された。
- (4) 各品種の基部へ遺伝子銃により接種した結果、I、II、IV型において、ほ場で罹病性を示す組合せでは、基部周辺の新根に GFP 蛍光が確認された後、新葉で確認され、発病した。しかし、IV型と「サチホゴールドン (*rym3*)」では、GFP 蛍光もウイルスも検出されなかった。また、II型と *Mujiyu covered2 (rym12)* では、GFP 蛍光は基部周辺の新根に留まり発病しなかった。以上より、*rym12* は、基部周辺の新根から新葉へのウイルス移行を抑制する作用があることが推察された (表-2)。

※本研究は宇都宮大学と共同で、農研機構生研支援センター「イノベーション創出強化研究推進事業」の支援を受けて行った。

(担当者 研究開発部 生物工学研究室 田上舞\*・中澤佳子)

\*現 安足農業振興事務所

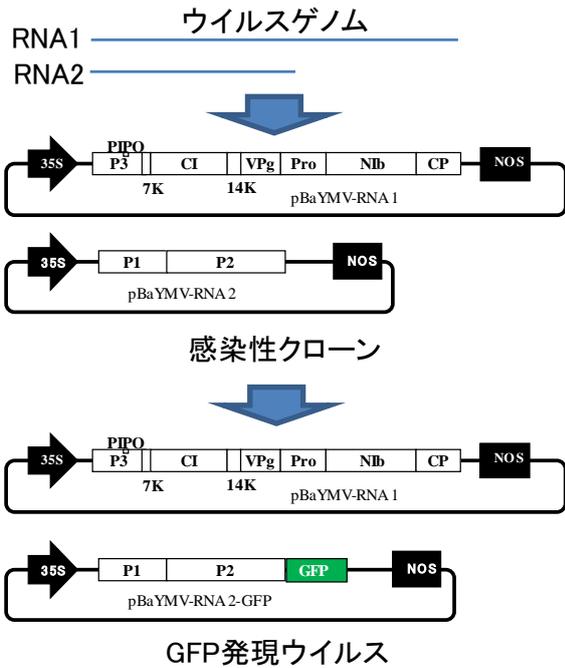


図-1 GFP 発現オオムギ萎縮ウイルスの作製 (宇都宮大学作製)

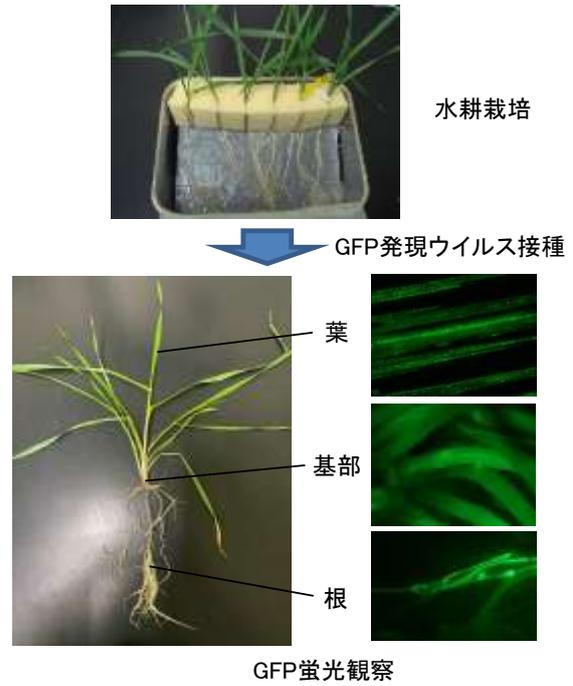


図-2 抵抗性を視覚的に評価する手法  
ウイルスが増殖している部分に蛍光が確認できる

表-1 ほ場感受性と GFP 発現ウイルスの葉への接種結果 (土耕栽培苗使用)

品種	抵抗性遺伝子	発病株率 (%)				
		I 型	II 型	III 型	IV 型	V 型
ニューゴールド	なし	S 62	S 60	S 21	S 36	S 57
新田系68	<i>rym1</i>	R 0	R 0	S 0	S 27	S 6
サチホゴールド	<i>rym3</i>	R 0	R 0	R 0	S 7	S 17
ミハルゴールド	<i>rym5</i>	R 0	R 0	S 9	R 0	R 0
Muju covered2	<i>rym12</i>	R 0	S 20	S 6	R-S 0	R 0

注1 左側にほ場感受性、右側に接種試験結果を示す。

注2 ほ場感受性は、S:罹病性、R:抵抗性、R-S:年次により感染の有無が変動することを示す。

注3 数値は、GFP 発現ウイルスを大麦葉へ汁液接種した時の発病株率 (接種2か月後) を示す。

注4 黄色は発病株率30%以上、緑色は発病株率30%未満、灰色はほ場感受性と接種試験結果が一致しない発病株率を示す。

表-2 ほ場感受性と GFP 発現ウイルスの基部への接種結果 (水耕栽培苗使用)

品種	抵抗性遺伝子	GFP蛍光確認株率 (%)					
		I 型		II 型		IV 型	
		基部周辺	新葉	基部周辺	新葉	基部周辺	新葉
ニューゴールド	なし	S 15	15	S 69	69	S 64	50
新田系68	<i>rym1</i>	R 0	0	R 0	0	S 72	39
サチホゴールド	<i>rym3</i>	R 0	0	R 0	0	S 0	0
ミハルゴールド	<i>rym5</i>	R 0	0	R 0	0	R 0	0
Muju covered2	<i>rym12</i>	R 0	0	S 27	0	R-S 0	0

注1 左側にほ場感受性、右側に接種試験結果 (基部周辺、新葉) を示す。

注2 ほ場感受性は、S:罹病性、R:抵抗性、R-S:年次により感染の有無が変動することを示す。

注3 数値は、GFP 発現ウイルスを大麦基部へ遺伝子銃を用いて接種した時の蛍光確認株率 (接種2か月後) を示す。

新葉での蛍光確認株率=発病株率となる。

注4 黄色は基部周辺で光った後、新葉で光る組合せ、緑色は基部周辺で光るが、新葉では光らない組合せ、灰色はほ場では罹病性であるが、接種試験では蛍光が確認されず、ウイルスも検出されなかった組合せを示す。