オオムギ縞委縮病抵抗性遺伝子 rym3 の選抜に有効なDNAマーカー

1. 試験のねらい

オオムギ縞萎縮病は大麦の収量および品質に深刻な被害を及ぼすため、抵抗性品種の育成は最重要課題である。近年既知の抵抗性遺伝子を犯す新たなウイルス系統が見つかっており、抵抗性遺伝子の集積が進められているが、集積系統の選抜には手間とコストがかかることが課題であった。そこで、実用的な抵抗性遺伝子 rym3 選抜マーカーを開発し、集積系統選抜の効率化を図る。

2. 試験方法

(1)マーカーの作成

rym3 は5H 染色体短腕に位置するとされている。そこで、当該領域の EST 配列からプライマーを設計し、同時に Sato et al.(2009)のプライマーも用いて、イシュクシラズ(rym3)/ニシノチカラ(Rym3)および 栃系 258(rym3)/ニシノホシ(Rym3)の2組み合わせの解析集団の親における塩基配列を決定し、得られた配列多型を基に CAPS マーカーを作成した。

(2) rym3 遺伝子とマーカー間の連鎖解析

作成された CAPS マーカーを用いて、前述の解析集団から各マーカーおよび rym3 間の組換え価と遺伝距離を求めた。同時に、rym3 と強く連鎖している CAPS マーカーk09554-AvaI と TBr3-2 について rym3 遺伝子との連鎖関係を明らかにするために、分離比を検定した。連鎖解析には Map Manager QTX(http://www.mapmanager.org/)を用いた。

3. 試験結果および考察

- (1) 開発した DNA マーカーk09554-AvaI、TBr3-2 は CAPS マーカーであり、結果の安定性に優れる(図-1)。
- (2) 解析集団を用いた連鎖解析の結果、マーカー多型はオオムギ縞萎縮病に対する抵抗性反応の分離とほぼ一致した(表-1)。
- (3) CAPS マーカーk09554-AvaI は rym3 の上流 $0\sim0.5$ cM、TBr3-2 は下流 1.4cM にそれぞれ位置していた(図-2)。
- (4) 主要な大麦品種を用いてマーカー多型とrym3 の有無について検討した結果、CAPS マーカーk09554-AvaI は多くの二条大麦品種で利用できると考えられたが、一部の裸麦や六条大麦品種ではrym3 の有無とマーカー多型の間に不一致が見られた(表-2)。すなわち、得られた CAPS マーカーは縞委縮病抵抗性系統の育種上有効であるが、親やその系譜に日本在来品種を持つ交配組合せでは、予め親のマーカー多型を確認する必要がある。

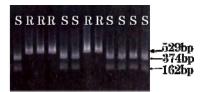
4. 成果の要約

DNA マーカーk09554-AvaI、TBr3-2 は、rym3 とよく連鎖しており、選抜マーカーとして実用的である。特に k09554-AvaI は国内の二条大麦品種で広く利用できる。また、rym1 や rym5 など既存の抵抗性遺伝子選抜マーカーと併用することで、抵抗性遺伝子集積品種を効率良く育成できる。

(担当者 作物技術部 麦類研究室 春山直人*、大関美香、五月女敏範) ※現 栃木県農業環境指導センター



CAPSマーカーk09554-AvaIの 制限酵素切断パターン



CAPSマーカーTBr3-2の 制限酵素切断パターン

マーカー	プライマ ー ⁴	制限酵素	制限酵素切断 ^b パターン
k09554-AvaI	F: TGCCTGGGGTTGAAGAATAC R: CCGCGCTTAAGTGAAAATGT	Aval	□I型: 365bp □N型: 160+205bp
TBr3-2	F: TCTTGCGAAAAGTGAAAGCA R: GTCCACCATCGAAGAACGAT	EcoRV	□ I 型: 529bp N型: 162+374bp

図-1 DNAマーカーk09554-Aval および TBr3-2 の特徴と 1.8%アガロースゲル電気泳動

像

表-1 rym3解析系統におけるマーカー多型と抵抗性反応

	表一2	主要な大麦品種におけ	6	rym3
-	の遺伝	子型とマーカー多型		

交配混合世		I. 編集258 SSD-F8	I. 編系258/ニシノ木シ SSD-F8			IL イシュクシラズ <i> ニシノチカ</i> ラ SSD-F8		
			抵抗性	基病性	<u>at</u>	抵抗性	温病性	Ħ
21	109554	1型	56	0	56	96	1	97
7	-Avel	ΝŒ	0	67	67	0	124	124
· 🕏		tł-	56	67	123	96	125	221
. 2		1型				95	2	97
: ■	TB/3-2	N型				1	123	124
#		tł				96	125	221
cián	定 k09554-Avel多型 抵抗性反応		X2(1:1)=0.984, 0.20 <p<0.30< td=""><td colspan="2">X4(1:1)=2.828, 0.05<₽<0.10</td></p<0.30<>		X4(1:1)=2.828, 0.05<₽<0.10			
A TOLIN			X²(1:1)=	X2(1:1)=0.984, 0.20 <p<0.30< td=""><td colspan="3">X²(1:1)=3.805, 0.05<p<0.10< td=""></p<0.10<></td></p<0.30<>			X ² (1:1)=3.805, 0.05 <p<0.10< td=""></p<0.10<>	

交配据合せ					17-7			
		87-D22			22D-E8			
		_	基抗性	是病性	21	抵抗性	强病性	11
	M09554	1型	56	0	56	96	1	97
Ë	-Avel	ΝĒ	0	67	67	0	124	124
ş		t l	56	67	123	96	125	221
ł		1型				95	2	97
3	TB/3-2	N型				1	123	124
		Ħ				96	125	221
	k09554	Avel多型	X ² (1:1)=	0.984, 0.20	₽ <0.30	X²{1;1}=	2.828, 0.05	₽ 40.10
7	・ 抵抗性	反応	X ² (1:1)=0.984, 0.20 <p<0.30< td=""><td colspan="3">X²{1:1}=3.805, 0.05<₽<0.10</td></p<0.30<>			X ² {1:1}=3.805, 0.05<₽<0.10		

5H 5H k09554 -AvaI rym3 --0.5 1.4 TBr3-2 (cM)

Ⅱ イシュクシラズ I. 栃系258 ニシノホシ ニシノチカラ

図-2 大麦5H染色体上における rym3 とDNAマーカ -თ 連鎖地図

まカモゴールデン - N N N N N N N N N N N N N N N N N N		品種	rym3	k09554 -AvaI	TBr3-2
関果一年435年 + 1 N N N N N N N N N N N N N N N N N N		ミカモゴールデン	-		
関果一年435年 + 1 N N N N N N N N N N N N N N N N N N		タカホゴールデン	-		
関果一年435年 + 1 N N N N N N N N N N N N N N N N N N		スカイゴールデン	+		N
関果一年435年 + 1 N N N N N N N N N N N N N N N N N N		サチボコールテンド・明末ニタッコ	+	ł	N _A
Lpんれい			I	i	A/
Lpんれい	À	オース・ファ	-		N N
りょうふつ - N N N N N N N N N N N N N N N N N N	*	Lakani	_	N	Ñ
りょうふつ - N N N N N N N N N N N N N N N N N N	, 1	九州二条21号	+	1	N
りょうふつ - N N N N N N N N N N N N N N N N N N) 🕆	九州二条22号	+	I	N
りょうふつ - N N N N N N N N N N N N N N N N N N	۲ ا	はるな二条	-		N
### C50 / No	ì	りょうふう	-		
### C50/パネラ + 1	•	あまぎ二条	-	N	N
### C50/パネラ + 1		なす二条			
### コンノチカラ - N N N コンノチカラ - N N N N コンノチン - N N N N N N N N N N N N N N N N N N		とりのいふさ	+	I	<u>N</u>
コシノホシ - N N M 自分 - N N M 自分 - N N N N N N N N N N N N N N N N N N	₩.		-		N
イシュクシラズ + I I	=	ニシノホシ	-		
イシュクシラズ + I I	IJ	煌二条	+		
イシュクシラズ + I I ハガネムギ + I I シュンライ - ! ! ハガネムギ + I I シュンライ - ! ! ハガネムギ + I I シュンライ - ! ! ハガネムギ + I I ハガネムギ + I I ハガネムギ + I I ハガネム・ ! N ロボースノウ + I I ロボースノウ + I I ハボシー ! N ロボース・アンボン - ! N エメサキボシ - ! N エメサキボシ - ! I Morex - N N Metcalfe - N N Metcalfe - N N Harrington - N N H Harrington - N N	7	白妙二条	-	N	
イシュクシラズ + I I ハガネムギ + I I シュンライ - ! ! ファイバースノウ - ! N シルキースノウ + I I はるしらね + I I エメサネボシ - ! N エメサネボシ - ! N Morex - N N Metcalfe - N N Harrington - N N H L spontaneum	100	ひつつりはし	-	N	
ジュンライ - ! ! ! N : *****************************		イシュクシラズ	+	I	I
ジュンライ - ! ! ! N : *****************************		ハガネムギ	+	I	1
イチパンボシ - ! N ベ マンネンボシ - ! N K ユメサキボシ - ! ! Morex - N N Metcaife - N N H Harrington - N N H L spontaneum	ķ	シュンライ	-	1	1
イチパンボシ - ! N ベ マンネンボシ - ! N K ユメサキボシ - ! ! Morex - N N Metcaife - N N H Harrington - N N H L spontaneum	5	ファイバースノウ	-	Ī	N
イチパンボシ - ! N ベ マンネンボシ - ! N K ユメサキボシ - ! ! Morex - N N Metcaife - N N H Harrington - N N H L spontaneum	5	シルキースノウ		I	I
イチパンボシ - ! N ベ マンネンボシ - ! N K ユメサキボシ - ! ! Morex - N N Metcaife - N N H Harrington - N N H L spontaneum	`	はるしらね	+		I
** マンネンボシ - ! N ** ** ** エメサキボシ - ! !		イチバンボシ	-	I	
Morex - N N Metcalie - N N Karl - N N Harrington - N N H. spontaneum	ď	マンネンボシ	-	I	N
Morex - N N Metcalie - N N Karl - N N Harrington - N N H H. spontaneum	K	ユメサキボシ	-	I	I
Morex - N N Metcaife - N N Karl - N N Harrington - N N H. spontaneum		四国禄84号	-		
Metcalfe - N N Karl - N N Harrington - N N H. spontaneum - N N Dimor 893	ŧ	Morex	-	N	N
Karl - N N Harrington - N N H. spontaneum - N N H. Dimor 893	8		-		
Harrington - N N H H. spontaneum - N N H Dimor 893	1		-		
H H. spontaneum - N N 開 Dirmor 893		Harrington	-	N	N
m Dinnor 893	H	H. spontaneum		w	N
	1 課	Dinnor 893		П	М

 ⁴ k09554-Avalのプライマー配列はSatoら(2009)による。
 5 Tでは"イシュクシラズ型"(rym3)を"N"は"ニシノチカラ型"(Rym3)をそれぞれ表す。

CPCR条件は次のとおりである[(94°C4min)494°C30see-60°C30see-72°C30see)×35-(72°C5min)].