

ビール大麦育種に有用な 4 種の DNA マーカーと利用上の留意点

1. 試験のねらい

ビール大麦育種の効率化を目的として、ビールの香味安定性、泡持ち性に関わるリポキシゲナーゼ欠損特性 (*lox-1*)、縞萎縮病抵抗性 (*rym5*)、うどんこ病抵抗性 (*m1o*)、凍霜害の回避に有用な秋播性 (*Vrn-H2*) について DNA マーカーを開発あるいは外国品種を用いた研究により開発された既報マーカーを評価する。マーカーの有用性や日本品種のもつ遺伝子型変異を解析するとともに、マーカーが適用できない事例を明らかにし、育種に役立てる。

2. 試験方法

材料には遺伝子型が明らかな基準品種や解析対象となる栃木分場育成品種・系統などを用いた。リポキシゲナーゼ欠損遺伝子 (*lox-1*) の DNA マーカーは近中四農研が解析した塩基配列情報を基にして、プライマーを設計し、PCR 後に制限酵素処理を行う CAPS 法を用いた。また、縞萎縮病抵抗性 (*rym5*)、うどんこ病抵抗性 (*m1o*)、凍霜害の回避に有用な秋播性 (*Vrn-H2*) については外国品種を用いた研究により開発された既報の STS マーカーを用いた。PCR は表 1 に示した条件で行った。

3. 試験結果および考察

- (1) ビールの香味安定性・泡もち性の向上に有用なリポキシゲナーゼ欠損遺伝子 (*lox-1*) は、PCR 後に *Bsa*AI 処理を行う CAPS マーカーにより判別できる (表-1、-2、図-1)。
- (2) 外国品種を用いた研究で縞萎縮病抵抗性遺伝子 (*rym5*) に強連鎖することが報告されている E31/M41 マーカーは、日本のビール大麦品種・系統については正確に遺伝子型を判別できる。しかし、一部の外国品種や裸麦品種では例外が見られるため、育種利用には交配組合せ・交配母本の選定に注意する必要がある (表-1、-2、図-2)。
- (3) 日本のビール大麦品種が持たないうどんこ病抵抗性遺伝子 (*m1o*) に関する om2 マーカーは日本品種間で多型がみられる。本マーカーを利用した選抜には抵抗性外国品種と異なる Del 型ハプロタイプを持つ日本品種を交配母本として利用する必要がある (表-1、-2)。
- (4) 秋播性遺伝子 (*Vrn-H2*) に関する *Zcct-a/b* マーカーは、主な秋播性大麦品種・系統を検出できるが、秋播性程度が低いヤチホゴールド(播性：Ⅲ)など一部品種の秋播性遺伝子は検出できない (表-1、-2)。
- (5) DNA マーカーが適用できない事例のある *rym5*、*m1o*、*Vrn-H2* についても、現在の栃木分場における交配組合せの大半では利用可能である。

4. 成果の要約

麦芽品質に関わるリポキシゲナーゼ欠損遺伝子 (*lox-1*) の DNA マーカーを作出するとともに、縞萎縮病抵抗性遺伝子 (*rym5*)、うどんこ病抵抗性遺伝子 (*m1o*)、秋播性遺伝子 (*Vrn-H2*) に関する既報マーカーの育種利用上の問題点を明らかにした。

(担当者 栃木分場 ビール麦研究室 長嶺敬、天谷正行¹⁾、大関美香、春山直人、加藤常夫²⁾)

¹⁾ 遺伝子工学研、²⁾ 現 経営技術課

表-1 遺伝子型判別に用いたプライマーの塩基配列及びPCR条件

目的形質・遺伝子	マーカー名	Fプライマー塩基配列 (5'→3')	Rプライマー塩基配列 (5'→3')	PCR温度条件	CAPS処理制限酵素名
リボキシゲナーゼ欠損特性 <i>lox-1</i>	940LOX	GCAACGGAGGGAGTAAACA	CGATGGCTTGACCAATTAC	94°C4分-(94°C30秒-53°C45秒-72°C45秒)×40回-72°C5分	<i>Bsa</i> AI
縞萎縮病抵抗性 <i>rym5</i>	E31/M41 ¹⁾	GAGTCGTGACAACTACCTTGC	GTGGCTGTAATAGGCTAAGGCC	94°C4分-(94°C30秒-60°C30秒-72°C30秒)×35回-72°C5分	—
うどんこ病抵抗性 <i>mlo</i>	om2 ²⁾	TAGCAATCACGGTCACGTCAAC	CCGCAAGGCTGCTATGAAAAGGG	94°C4分-(94°C30秒-65°C50秒-72°C1分)×35回-72°C5分	—
秋播性 <i>Vm-H2</i>	ZCCT-Ha/b ³⁾	CCTAGTTAAACATATATCCATAGAGC	GATCGTTGCGTTGCTAATAGTG	94°C4分-(94°C30秒-55°C30秒-72°C45秒)×35回-72°C5分	—

マーカー文献: 1) Pello *et al.* (2005) *Theor. Appl. Genet.* 110:283-293.
 2) Tacconi *et al.* (2006) *Genome* 49:864-872.
 3) Szucs *et al.* (2006) *Theor. Appl. Genet.* 112:680-687.

表-2 DNAマーカーによる主要品種・系統の遺伝子型分類

品種・系統名	リボキシゲナーゼ <i>Lox-1</i>	縞萎縮病抵抗性 ¹⁾ <i>rym5</i>	うどんこ病抵抗性 ²⁾ <i>mlo</i>	秋播性 ³⁾ <i>Vm-H2</i>	特性	品種・系統名	リボキシゲナーゼ <i>Lox-1</i>	縞萎縮病抵抗性 ¹⁾ <i>rym5</i>	うどんこ病抵抗性 ²⁾ <i>mlo</i>	秋播性 <i>Vm-H2</i>	特性
関東二条29号	正常型	-	Del	春播型	ビール用	大系HG13	正常型	+	Del	秋播型	秋播性中間母本
サチホゴールデン	正常型	-	Del	春播型	ビール用	大系HG32	正常型	+	Del	秋播型	秋播性中間母本
スカイゴールデン	正常型	+	Del	春播型	ビール用	大系HM102	正常型	+	Del	秋播型	秋播性中間母本
はるな二条	正常型	-	Del	春播型	ビール用	Alexis	正常型	-	In	春播型	<i>mlo-9</i> 品種
ほうしゅん	正常型	+	In	春播型	ビール用	Chariot	正常型	(+)	In	春播型	<i>mlo-11</i> 品種
ミカモールデン	正常型	+	Del	春播型	ビール用	Maris Otter	正常型	-	Del	秋播型	秋播性品種
ミサトールデン	正常型	+	Del	春播型	ビール用	Morex	正常型	(+)	Del	春播型	外国品種
ミナルール	正常型	+	Del	春播型	ビール用	Optic	正常型	(+)	Del	春播型	外国品種
みょうぎ二条	正常型	+	In	春播型	ビール用	木石港3	正常型	+	Del	秋播型	外国品種
ヤシオールデン	正常型	-	In	春播型	ビール用	ファイバースノウ	正常型	(+)	In	秋播型	食用六条品種
ヤチホールデン	正常型	+	Del	春播型	ビール用	ニンホシ	正常型	+	In	春播型	食用皮麦
栃木ゴールデン/モロ	正常型	-	Del	春播型	ビール用	マンネホシ	正常型	(+)	Del	秋播型	裸麦
大系LM1	欠損型	-	Del	春播型	Kari突然変異	四国裸103号	正常型	(+)	In	春播型	裸麦

1) *rym5*遺伝子型 : + ... *rym5*を有する; - ... *rym5*をもたない; (+) ... 誤判定品種(*rym5*をもたない品種であるがバンド検出)
 2) *mlo*遺伝子型 : In ... 挿入型(1000bpバンドをもつ); Del ... 欠失型(750bpバンドをもつ)。抵抗性外国品種(Alexis, Chariot)はいずれもIn型。
 3) *Vm-H2*遺伝子型: 関東二条29号、ヤチホールデンは播性Ⅲの秋播性をもつが、マーカー判定は春播型。

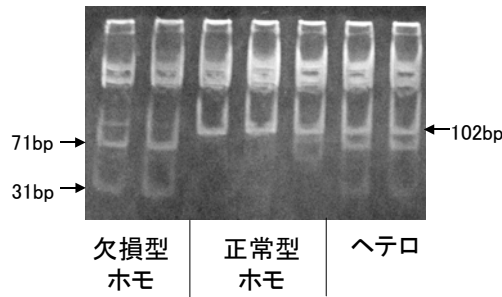


図-1 CAPSマーカーによる *Lox-1* 遺伝子型の判別
 欠損型 *lox-1*: 71bp+31bp バンド
 正常型 *Lox-1*: 102bp バンド

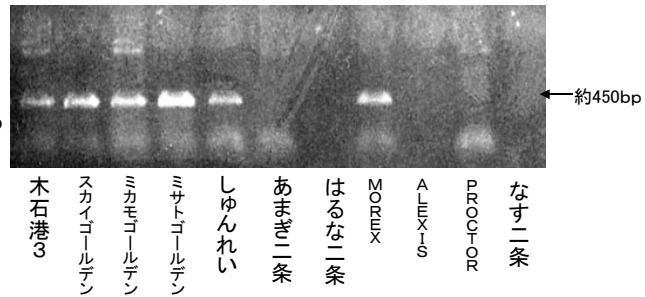


図-2 E31/M41マーカーによる *rym5* 遺伝子型の判別
*rym5*をもつ品種: 木石港3, スカイゴールデン, ミカモールデン, ミサトールデン, しゅんれい.
 (Morex は *rym5* を持たないがバンドが出る)