

低ポリフェノール大麦育成に有効な DNAマーカーの開発

1. 試験のねらい

大麦中のポリフェノールの一種であるプロアントシアニジン (PA) は、麦飯の褐変やビールの濁りの原因であり、その低減化が育種目標の一つとなっている。近年は、プロアントシアニジンフリー (PAF) 品種の育成が進められている。そこで育種の効率化を図るため、有望な PAF 遺伝子 *ant28* の選抜に有効な DNA マーカーを開発する。

2. 試験方法

(1) DNA マーカーの作成

ant28 の原品種 ant28-494 と本県育成品種サチホゴールドを用いて、大麦の発現遺伝子のデータベース HarvEST(<http://harvest.ucr.edu/>)の連鎖地図と遺伝子情報を基に、*ant28* が位置するとされる 3HL 染色体上の複数の遺伝子の DNA 配列を決定した。両品種間で検出された DNA 配列の差異を基に、CAPS 法による DNA マーカーを作成した。

(2) *ant28* 遺伝子との分離比および連鎖の解析

作成した DNA マーカーと *ant28* 遺伝子との連鎖関係を明らかにするために、*ant28* を持つ大系 HL107(とちのいぶき)と、持たないスカイゴールドおよび Otis を交配した子孫(F₂)を用いて分離比の検定を行った。また、複数のマーカーと *ant28* との連鎖について解析ソフト Map Manager QTX(<http://www.mapmanager.org/>)を用いて解析した。

3. 試験結果および考察

(1) 解析の結果、DNA マーカー OPAp1_1297-AccI は、*ant28* と 0.41 ~ 1.72% の組換え価で連鎖しており、その判定結果は従来の PA 判定法(水酸化ナトリウムによる種皮の呈色法)の結果とよく一致した(表 - 1、図 - 1、図 - 2)。

(2) 国内の主要品種・系統および *ant28* 遺伝子を持つ品種・系統について、本マーカーで判定した結果は一部外国品種を除き *ant28* 遺伝子の有無と一致した(表 - 2)。なお、外国品種である Alexis や Triumph では多型が見られないため、知見のない親を利用する際には確認が必要である。

(3) 従来の PA 判定法は試薬による種皮の呈色に基づくため、種子でしか選抜できない。F₃ まで世代を進めなければ *ant28* の選抜はできないため、速やかに次の交配ができなかった。本マーカーは植物体で *ant28* を選抜できるため、F₂ もしくは戻し交配の (BC_n)F₁ で交配を行うことが可能となる。例として、優良品種に 7 回の戻し交配を行う (BC₆) 場合、通常的手法では 13 世代かかるが本マーカーの利用によって 7 世代に短縮できる。

4. 成果の要約

DNA マーカー OPAp1_1297-AccI は、*ant28* とよく連鎖し、その選抜マーカーとして有効である。また、国内の主要品種で利用できるため、わが国の大麦育種への活用が期待される。本マーカーを用いて *ant28* を優良品種に戻し交配することで、従来と比較して育種年限を短縮できる。

(担当者 栃木分場 ビール麦品質研究室 春山直人、大関美香、五月女敏範)

表 - 1 *ant28*系統と通常型品種のF₂における*ant28*選抜マーカーのCAPS多型およびF₃種子のPAの有無

組合せ		No.1 大系HL107/スカイゴールドン			No.2 大系HL107/Otis		
		種皮中のPA			種皮中のPA		
		有	無	計	有	無	計
マーカーの多型	通常型	63	0	63	28	0	28
	ヘテロ型	110	0	110	58	2	60
	<i>ant28</i> 型	1	67	68	0	28	28
計		174	67	241	86	30	116

注1. 大系HL107(とちのいぶき)はPAF品種である。各組合せにおける種皮中のPAの有無とマーカー多型の分離比に対する χ^2 検定の結果は以下のとおりである。

- 種皮中PAの表現型分離比; No.1: $\chi^2(3:1)=2.037, 0.10 < P < 0.20$, No.2: $\chi^2(3:1)=0.046, 0.50 < P < 0.95$
 - マーカーの分離比; No.1: $\chi^2(1:2:1)=1.008, 0.20 < P < 0.50$, No.2: $\chi^2(1:2:1)=0.138, 0.50 < P < 0.95$
- また、組換え価はNo.1が $0.41 \pm 0.41\%$ 、No.2が $1.72 \pm 1.21\%$ である。

表 - 2 主要な大麦品種・系統におけるOPAp1_1297-AccIの多型

判定型	品種・系統名
通常型	ミカモゴールドン、タカホゴールドン、スカイゴールドン、サチホゴールドン、関東二条42号、関東二条43号、関東二条44号、大系LM1、大系LM2、はるな二条、新田系74、ほうしゅん、しゅんれい、九州二条20号、九州二条21号、ニシノチカラ、ニシノホシ、キリニジョウ、煌二条、あまぎ二条、なす二条、りょうふう、四国裸84号、四国裸103号、マンテンボシ、イチパンボシ、シルキースノウ、ファイバースノウ、シュンライ、Prisma、Manley
<i>ant28</i> 型	とちのいぶき、白妙二条、大系HL106、大系HL109、大系HL112、栃系338、栃系339、関東皮88号、<i>ant28-494</i>(Catrin)、<i>ant28-484</i>(Grit)、<i>ant28-2131</i>(Alexis)、<u>Alexis</u>、<u>Triumph</u>

注. **太字・斜体**は*ant28*品種・系統であり、下線はDNAマーカーの利用できない品種である。

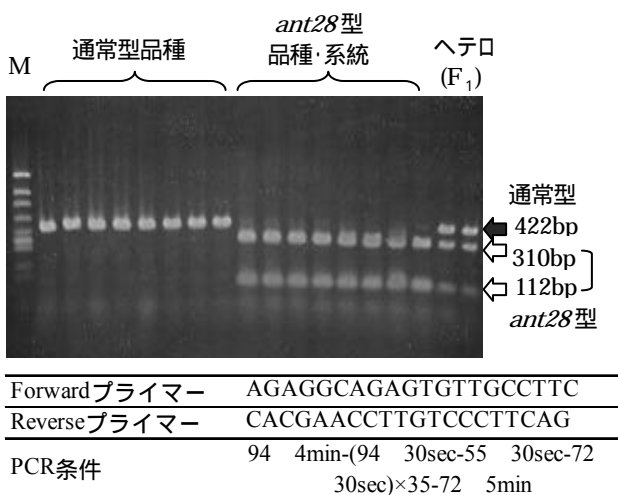
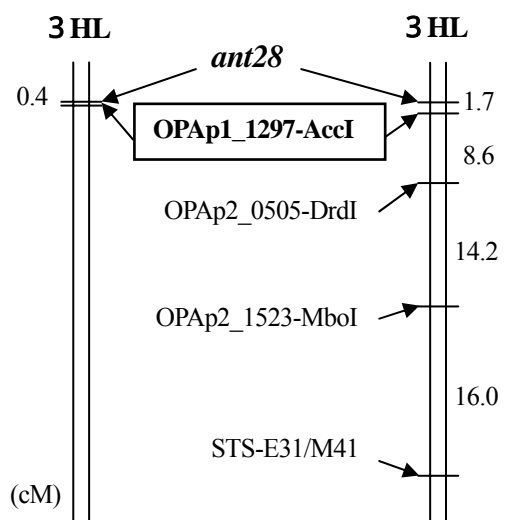


図 - 1 DNAマーカーOPAp1_1297-AccIの使用条件と

1.8%アガロースゲルによる電気泳動像

注. 泳動には国内の主要な8品種、*ant28*を持つ8品種・系統および*ant28*型と通常型品種のF₁(ヘテロ型)を用いた。



No.1 大系HL107/スカイゴールドン No.2 大系HL107/Otis

図 - 2 . 大麦染色体3HL上における*ant28*と連鎖マーカーの連鎖地図