

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

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 0~0.5cM、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で不一致が見られた(表-2)。すなわち、得られた CAPS マーカーは縞萎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



マーカー	プライマー ^a	制限酵素	制限酵素切断 ^b パターン
k09554-AvaI	F: TGCCTGGGGTTGAAGAATAC R: CCGCGCTTAAAGTGA AAAATGT	AvaI	I型: 365bp N型: 160+205bp
TBr3-2	F: TCTTGC GAAAAGTGA AAAAGCA R: GTCCACCATCGAAGAACGAT	EcoRV	I型: 529bp N型: 162+374bp

^a k09554-AvaIのプライマー配列はSatoら(2009)による。
^b "I"はイシユクシラズ型(*rym3*)を"N"はニシノチカラ型(*rym3*)をそれぞれ表す。
^c PCR条件は次のとおりである[94°C4min)(94°C30sec-60°C30sec-72°C30sec)×35(72°C5min)]。

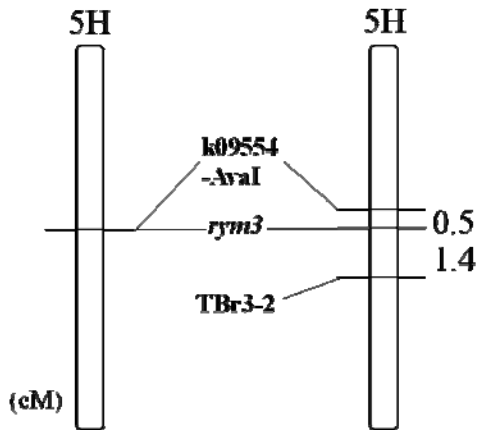
図-1 DNAマーカーk09554-AvaI および TBr3-2 の特徴と 1.8%アガロースゲル電気泳動像

表-1 *rym3* 解析系統におけるマーカー多型と抵抗性反応

交配組合せ	I. 栃系258/ニシノホシ SSD-F8			II. イシユクシラズ/ニシノチカラ SSD-F8				
	抵抗性	罹病性	計	抵抗性	罹病性	計		
CASPマーカー解析系統	k09554	I型	56	0	56	96	1	97
	-AvaI	N型	0	67	67	0	124	124
	計		56	67	123	96	125	221
CASPマーカー解析系統	TBr3-2	I型				95	2	97
		N型				1	123	124
		計				96	125	221
χ ² 検定	k09554-AvaI多型	χ ² (1:1)=0.984, 0.20<P<0.30			χ ² (1:1)=2.828, 0.05<P<0.10			
	抵抗性反応	χ ² (1:1)=0.984, 0.20<P<0.30			χ ² (1:1)=3.805, 0.05<P<0.10			

表-2 主要な大麦品種における *rym3* の遺伝子型とマーカー多型

品種	<i>rym3</i>	k09554 -AvaI	TBr3-2
ミカモゴールド	-	N	N
タカモゴールド	-	N	N
スカイゴールド	+	I	N
サチホゴールド	+	I	N
関東二条42号	+	I	N
関東二条43号	+	I	N
ほうしゅん	-	N	N
しゅんれい	-	N	N
九州二条21号	+	I	N
九州二条22号	+	I	N
はるな二条	-	N	N
りょうふう	-	N	N
あまぎ二条	-	N	N
なす二条	-	N	N
とちのいぶき	+	I	N
ニシノチカラ	-	N	N
ニシノホシ	-	N	N
煙二条	+	I	I
白妙二条	-	N	N
もっちりぼし	-	N	N
イシユクシラズ	+	I	I
ハガネムギ	+	I	I
シュンライ	-	I	I
ファイバースノウ	-	I	N
シルキースノウ	+	I	I
はるしらね	+	I	I
イチバンボシ	-	I	N
マンネンボシ	-	I	N
ユメサキボシ	-	I	I
四国標84号	-	I	I
Morex	-	N	N
Metcalfe	-	N	N
Karl	-	N	N
Harrington	-	N	N
H. spontaneum	-	N	N
Dimor 893	-	N	N



I. 栃系258/ニシノホシ II. イシユクシラズ/ニシノチカラ

図-2 大麦5H染色体上における *rym3* とDNAマーカーの連鎖地図