

六条オオムギ育種で利用可能な縞萎縮病抵抗性 *rym3* 選抜マーカーの検討

青木秀之*¹⁾・関昌子¹⁾・中田克^{1,2)}・中野友貴¹⁾・長嶺敬¹⁾

(¹⁾中央農業研究センター・北陸研究拠点、²⁾現：九州沖縄農業研究センター)

【背景・目的】 オオムギ縞萎縮病は Barley yellow mosaic virus (BaYMV)によって媒介される土壤伝染性病害であり、オオムギの収量、品質に多大な被害を及ぼす。国内では BaYMV は主に I~V 型の 5 系統のウイルスが報告され、複数の抵抗性遺伝子を蓄積した品種の開発が求められている。*rym3* は BaYMV レース I~III 型に抵抗性を有する縞萎縮病抵抗性遺伝子であり、「スカイゴールドン」、「サチホゴールドン」などの多くの栽培品種に利用されている。*rym3* 遺伝子はまだ単離されていないが、二条オオムギでの研究で *rym3* 近傍マーカー「k09554-AvaI」及び「TBr3-2-EcoRV」が報告されている（春山ら 2012 栃木農試成果集 30: 65）。しかし、これらのマーカーでは *rym3* を持たない「ファイバースノウ」などの六条品種は *rym3* をもつ二条オオムギとの多型が得られない品種がほとんどであり、六条オオムギ育種で利用可能な DNA マーカーの開発が求められている。そこで本研究では二条 *rym3* 品種との多型を示す六条オオムギでの *rym3* 近傍変異を探索した。

【材料及び方法】 *rym3* 品種「スカイゴールドン」、「サチホゴールドン」、「はがねむぎ」及び *rym3* をもたないことが明らかな品種「ファイバースノウ」、「ゆきみ六条」、「イチバンボシ」、「カシマムギ」、「ミカモゴールドン」の TBr3-2-EcoRV 近傍領域(HORVU5Hr1G046890)をシークエンスし、遺伝子多型を探索した。遺伝子多型の情報を基にして「TBr3-2-TaqI」マーカーを作成した。「TBr3-2-TaqI」マーカーのプライマー配列は dCAPS-TBr3-2TaqI-F: 5'-GTAGTTTGAGATACTTCAACTTCTCATCAAGGAGTGCAACAAGGTTCTCG-3'、dCAPS-TBr3-2TaqI-R: 5'-ATTCTAGAACCATTCTCTTACTGC CAAC -3'とした。PCR は Hot Start Taq DNA Polymerase (NEB)および OneTaq GC Reaction Buffer (NEB) を用いて、94°C3 分 1 回(94°C30 秒-55°C30 秒-68°C30 秒)45 回-68°C3 分 1 回-4°Cの反応条件で行った。PCR 反応溶液を制限酵素 TaqI-v2 (NEB)で 65°C3 時間反応させ、3%アガロースゲルで電気泳動を行った。

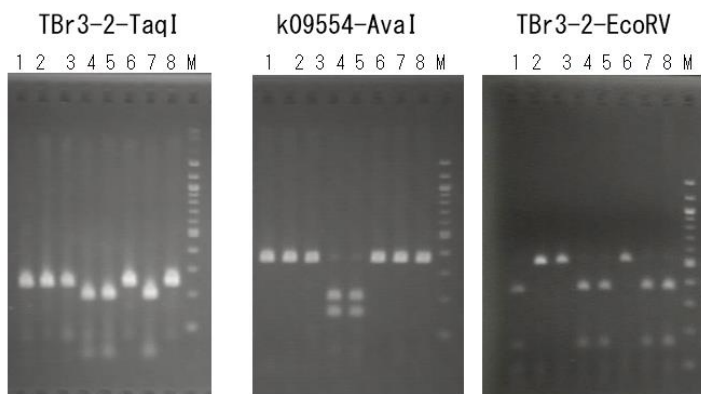
【結果及び考察】 TBr3-2 近傍領域のシークエンスを行った結果、TBr3-2-EcoRV (HORVU5Hr1G046890 : 641-646)から 55bp 上流に一塩基多型 SNP(HORVU5Hr1G046890 : 589)が存在し、「スカイゴールドン」、「サチホゴールドン」、「ミカモゴールドン」(T)と「ファイバースノウ」、「はがねむぎ」、「ゆきみ六条」、「イチバンボシ」、「カシマムギ」(C)に分離していた。この SNP を利用することで、これまで判別できなかった「スカイゴールドン」、「サチホゴールドン」(*rym3*)と「ファイバースノウ」(罹病型)の判別が可能になるが、この SNP では *rym3* の由来品種である「はがねむぎ」と「ファイバースノウ」は判別できないことから、*rym3* 遺伝子自体の多型ではないと推測された。

SNP 情報を基にして「スカイゴールドン」型は 50+200bp、「ファイバースノウ」型は 250bp のバンドが現れる dCAPS マーカー「TBr3-2-TaqI」を設計し、主要なオオムギ品種について「TBr3-2-TaqI」、「k09554-AvaI」、「TBr3-2-EcoRV」のマーカーセットを用いた多型を判別した(第1図、第1表)。第1表で *rym3* 品種および「スカイゴールドン」の多型をグレーで示した。「サチホゴールドン」、「もち絹香」、「はるしずく」、「関東二条 43 号」、「くすもち二条」、「はるみやび」の *rym3* 品種は「スカイゴール

デン」と同じ多型を示した。「関東裸糯 105 号」、「四国裸糯 131 号」、「北陸二条 70 号」は rym3 抵抗性不明の系統であるが「スカイゴールデン」と同じ多型であるため、rym3 型の縞萎縮病抵抗性が期待できることが分かった。

「ファイバースノウ」、「はねうまもち」などの rym3 遺伝子型が罹病型の六条品種は、これまでの「k09554-AvaI」と「TBr3-2-EcoRV」のマーカーセットでは「スカイゴールデン」と同じ多型になるため rym3 遺伝子型が判別できなかった。マーカーセットに今回開発した「TBr3-2-TaqI」マーカーを加えることで、北陸品種に rym3 遺伝子の導入が可能になる。「TBr3-2-TaqI」マーカーでは rym3 品種「イシクシラズ」、「はるか二条」、「ユメサキボシ」、「キラリモチ」、「はがねむぎ」と北陸品種は同じ多型を示すためマーカー判別に利用できないが、既存の「TBr3-2-EcoRV」マーカーで判別することで rym3 遺伝子の導入が可能である。また本結果を用いることで、「ファイバースノウ」と同じ多型の六条裸麦品種「イチバンボシ」、「マンネンボシ」、「四国裸 139 号」にも、同様の方法で rym3 遺伝子を導入することが可能になった。

BaYMV レース I, II, IV 型に抵抗性を有する縞萎縮病抵抗性遺伝子 rym5 は既に遺伝子が単離され、判別マーカーも作成されている。北陸研究拠点では本研究結果を用いて複数の縞萎縮病抵抗性遺伝子を導入したオオムギ品種の開発を進展させるとともに、さらに正確な判別を行える rym3 マーカーの開発に取り組む予定である。



第 1 図 TBr3-2-TaqI, k09554-AvaI および TBr3-2-EcoRV の電気泳動図

1.カシマムギ、2.カシマゴール、3.ユメサキボシ、4.ニシノホシ、5.ミサトゴールデン、6.キラリモチ、7.サチホゴールデン、8.イチバンボシ、M. 100 bp DNA Ladder (NEB)。TBr3-2-TaqI は 250bp (lane1,2,3,6,8), 50+200bp (lane4,5,7)に分離した。k09554-AvaI は 365bp (lane1,2,3,6,7,8), 160+205bp (lane4,5)に分離した。 TBr3-2-EcoRV は 529bp (lane2,3,6), 162+374bp (lane1,4,5,7,8)に分離した。

第1表 主要な大麦品種におけるrym3遺伝子型と近傍マーカー多型

特性	品種	rym3 遺伝子型	K09554- AvaI (5H 250. 1MB)	TBr3-2- EcoRV (5H 328. 1MB)	TBr3-2- TaqI (5H 328. 1MB)	
二 条 ・ 皮	スカイゴールデン	rym3	365	162+374	50+200	
	サチホゴールデン	rym3	365	162+374	50+200	
	もち絹香	rym3	365	162+374	50+200	
	はるしずく	rym3	365	162+374	50+200	
	関東二条43号	rym3	365	162+374	50+200	
	くすもち二条	rym3	365	162+374	50+200	
	はるみやび	rym3	365	162+374	50+200	
	イシクシラズ	rym3	365	529	250	
	はるか二条	rym3	365	529	250	
	ニシノホシ	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	ミサトゴールデン	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	りょうふう	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	ワセドリ二条	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	小春二条	罹病型	160+205	162+374	50+200	
六 条 ・ 皮	あまぎ二条	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	ミカモゴールデン	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	アズマゴールデン	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	ほうしゅん	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	はるな二条	罹病型	160+205	162+374	50+200	
	ニシノチカラ	罹病型	160+205	162+374	250	
	ニューゴールデン	罹病型	160+205	162+374	250	
	ミハルゴールド	罹病型	160+205	162+374	250	
	北陸二条70号	不明	365	162+374	50+200	
	ユメサキボシ	rym3	365	529	250	
	キラリモチ	rym3	365	529	250	
	二 条 ・ 裸	ビューファイバー	不明	365	529	250
	ワキシーファイバー	不明	365	529	250	
	関東裸糯105号	不明	365	162+374	50+200	
四国裸糯109号	不明	365	529	250		
四国裸糯131号	不明	365	162+374	50+200		
四国裸糯137号	不明	365	162+374	250		
四国裸糯141号	不明	365	529	250		
六 条 ・ 裸	はがねむぎ	rym3	365	529	250	
	カシマゴール	rym3	365	529	250	
	シユンライ	罹病型	365	529	250	
	シルキースノウ	罹病型	365	529	250	
	ミノリムギ	罹病型	365	529	250	
	ミユキオオムギ	罹病型	160+205	529	250	
	ファイバースノウ	罹病型	365	162+374	250	
	カシマムギ	罹病型	365	162+374	250	
	ホワイトファイバー	罹病型	365	162+374	250	
	ゆきみ六条	罹病型	365	162+374	250	
	はねうまもち	罹病型	365	162+374	250	
	ゆきはな六条	罹病型	365	162+374	250	
	さやかざ	不明	365	529	250	
	きはだもち	不明	365	529	250	
はるしらね	不明	365	529	250		
シンジュボシ	不明	365	162+374	250		
北陸皮63号	不明	365	162+374	250		
北陸皮66号	不明	365	162+374	250		
北陸皮69号	不明	365	162+374	250		
イチバンボシ	罹病型	365	162+374	250		
マンネンボシ	罹病型	365	162+374	250		
ハルヒメボシ	罹病型	365	529	250		
フクミファイバー	不明	365	529	250		
四国裸糯139号	不明	365	162+374	250		

rym3遺伝子型は品種・系譜情報や縞萎縮病III型抵抗性検定の結果からの推定