

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月15日現在

機関番号：80122

研究種目：若手（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22780008

研究課題名（和文） NBRP コムギデータベースを利用したコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子の解析

研究課題名（英文） Analysis of WYMV resistance gene using NBRP KOMUGI database

研究代表者

鈴木 孝子（Suzuki Takako）

北海道立総合研究機構農業研究本部中央農業試験場作物開発部・主査

研究者番号：00462375

研究成果の概要（和文）：コムギ縞萎縮病(WYMV)抵抗性品種の Madsen と同病感受性品種のホクシン由来の組み換え自殖系統（F₉ 世代）151 系統を病害汚染圃場に供試した。151 系統は ELISA によってウイルスの有無を確認し、NBRP 推奨マーカーを利用して遺伝子型を調査した。その結果二つの効果の大きい QTL が 2DL および 3BS 染色体上に検出された。加えて 2DL 上の抵抗性遺伝子と連鎖した DNA マーカーを開発した。

研究成果の概要（英文）：In this study 151 recombinant inbred lines (RILs) (F₉) from a cross between 'Madsen' (resistant to WYMV) and 'Hokushin' (susceptible to WYMV) were tested in the field trials at a WYMV nursery. 151 RILs were detected WYMV by ELISA and genotyped by NBRP recommended markers. Two major QTLs associated with WYMV resistance were detected on chromosome 2DL between and 3BS. In addition DNA marker linked to resistance gene on 2DL was developed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
22年度	1,000,000	300,000	1,300,000
23年度	500,000	150,000	650,000
24年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：植物育種・遺伝・抵抗性・耐性

1. 研究開始当初の背景

（1）コムギ縞萎縮病は、コムギ縞萎縮ウイルス（Wheat yellow mosaic virus: WYMV）を病原とする土壌伝染性の病害で、土壌生息性の原生生物 *Polymyxa graminis* により媒介される。同様な機作により発症するオオムギ縞萎縮病（BaYMV）に関しては、多くの研究報告から各種ウイルス系統に対する複数の抵抗性遺伝子が明らかとなっており、抵抗性

遺伝子を判別するアイソザイムマーカーや DNA マーカー技術を利用した抵抗性品種の開発が行われている。また、一部の抵抗性遺伝子についてはその塩基配列までもが明らかとなっている。一方コムギ縞萎縮病に関しては、アジアの日本及び中国で主に問題となっている病害であるため、その抵抗性遺伝子に関する報告は少なかった。

(2) 申請者らは圃場における抵抗性検定と WYMV の検出を繰り返し、WYMV 感受性品種「ホクシン」に、「Madsen」の抵抗性遺伝子を導入した準同質遺伝子系統を作出し、「Madsen」の有する抵抗性の一つは 2DL 染色体に座乗していると推測した。

(3) 「ホクシン/Madsen」の組み換え自殖系統 (RILs) F9 世代を用いた予備試験による分離比では、抵抗性：感受性 = 3 : 1 となり、「Madsen」には二つの抵抗性遺伝子がある可能性が示唆された。

2. 研究の目的

(1) 2DL 染色体上に座乗している「Madsen」由来の抵抗性遺伝子に強連鎖し、育種で利用しやすいアガロースベースの DNA マーカーを開発する。

(2) 「Madsen」が有する新たな抵抗性遺伝子を探査する。

3. 研究の方法

(1) 2DL 染色体上のコムギ縮萎病抵抗性遺伝子と連鎖した DNA マーカーの開発

① 「ホクシン」と WYMV 抵抗性準同質遺伝子系統間で多型を示す AFLP マーカーを探査する。得られた AFLP 増幅産物の周辺領域の遺伝子配列をもとに PCR マーカーを作成する。
② 育成系統を利用して、得られた PCR マーカーの実用性を評価する。

(2) 新規抵抗性遺伝子の探索

NBRP コムギの情報を利用してジェノタイプングを行い、「ホクシン/Madsen」の RILs の QTL 解析を行い抵抗性遺伝子が座乗する染色体を特定する。

4. 研究成果

(1) 2DL 染色体上のコムギ縮萎病抵抗性遺伝子と連鎖した DNA マーカーの開発

① 「ホクシン」とコムギ縮萎病抵抗性準同質遺伝子系統との間で多型を示した AFLP 断片が 6 個得られた。それらの AFLP 断片および周辺領域の配列を利用して 2 つの DNA マーカー Ym189、Ym115 を開発した。

② 開発したマーカーは抵抗性 QTL 領域内にマッピングされた (図 1)。

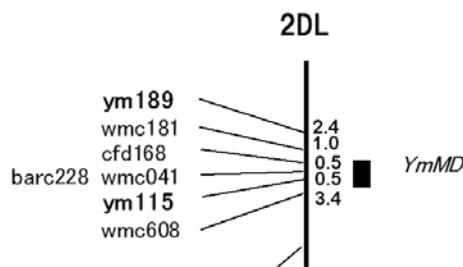


図 1 2DL 染色体上の抵抗性遺伝子 *YmMD* 近傍の連鎖地図

注) 太字が本研究で開発した DNA マーカー

③ Ym115 については、ヘテロ型が検出できる共優性マーカーで、本マーカーは「ゆめちから」「北見 74 号」「Jagger」などの抵抗性品種においても利用できることが明らかとなった (図 2)。

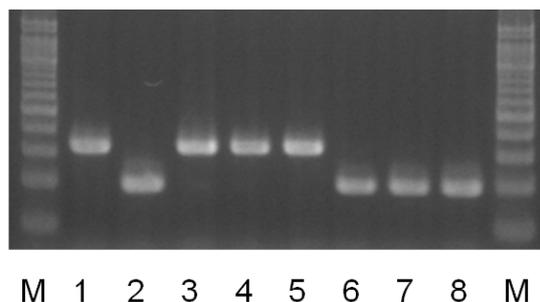


図 2 Ym115 による PCR 増幅断片図
(2%アガロースゲルで電気泳動)

M: サイズマーカー (100bp ラダー)

- 1 Madsen (コムギ縮萎病抵抗性)
- 2 ホクシン (同病感受性)
- 3 ゆめちから 4 北見 74 号
- 5 Jagger 6 きたほなみ
- 7 ホロシリコムギ 8 タクネコムギ

④ 本研究によって開発されたマーカーはアガロースで容易に判別が可能で、国内外の多くの研究所で利用できる。マーカー数が少ないコムギの D ゲノムに座乗するマーカーであることから、マッピングなどに利用できることに加えて、コムギの品種改良において Marker assisted selection (MAS) に有効に活用されることが期待される。

(2) 新規抵抗性遺伝子の探索

①151系統のRILsの発病調査およびNBRP推奨マーカーを利用した全染色体にわたる遺伝子型の調査結果を用いてQTL解析を行ったところ、これまで抵抗性遺伝子が座乗していると推測されていた2DLに加えて3BS染色体上に効果の大きい抵抗性QTLが検出された。2DL、3BS領域については、インターネットで公開されているSSRマーカーを用いてさらに遺伝子型を調査しQTL解析を行った(図3、図4)。

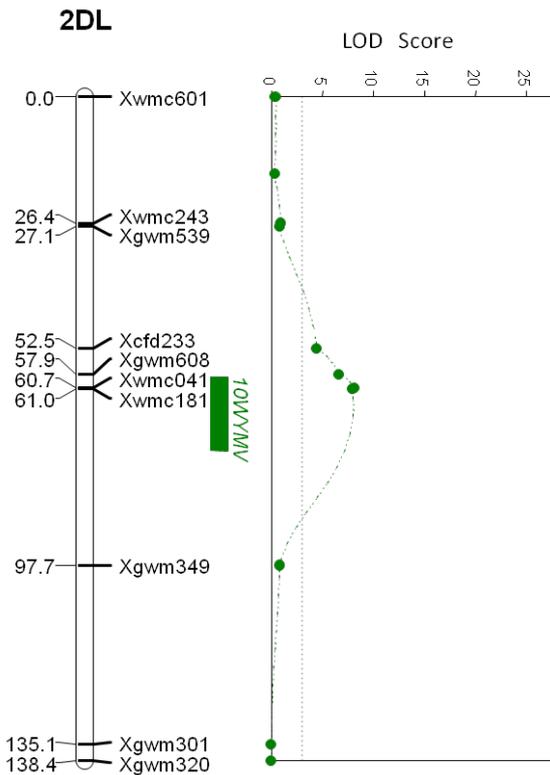


図3 ホクシン/MadsenのRILsで検出されたMadsen由来のコムギ縞萎縮病抵抗性QTL(2DL領域)

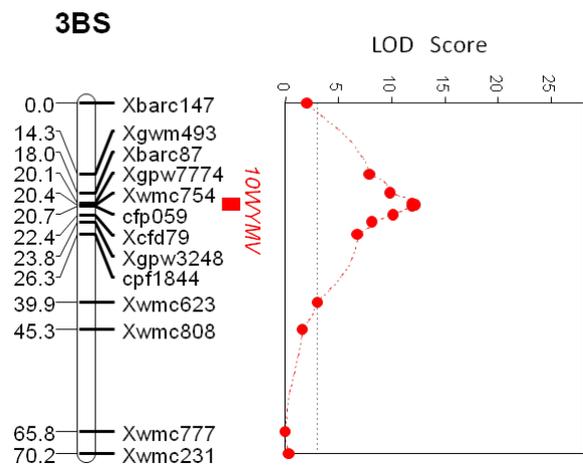


図4 ホクシン/MadsenのRILsで検出されたMadsen由来のコムギ縞萎縮病抵抗性QTL(3BS領域)

②新規に検出された3BS上の抵抗性QTLは、2DL上の抵抗性QTLと同様効果が大きく、これら二つの抵抗性QTLを保持したRILsからはウイルスが検出されなかったことから、品種改良において二つの抵抗性遺伝子を導入することによって、高度な抵抗性を示す系統を作出することができると考えられる。

本成果は日本国内だけではなく、本病害が問題となっている中国等の海外でも利用可能である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

①鈴木孝子・新田みゆき・那須田周平・吉村康弘、「Madsen」由来のコムギ縞萎縮病抵抗性遺伝子と連鎖するDNAマーカーの開発、日本育種学会第118回講演会、2010年9月25日、秋田県立大学

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

号:

○取得状況(計 0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 孝子 (Suzuki Takako)

北海道立総合研究機構農業研究本部中央
農業試験場作物開発部・主査

研究者番号：00462375