

春播二条オオムギにおける裂皮粒歩合の QTL 解析

金谷良市*・高橋秀和・武田和義

QTL Analysis for Expressivity of Hull-cracked Grain in Two-rowed Spring Barley

Ryouichi KANATANI, Hidekazu TAKAHASHI and Kazuyoshi TAKEDA

The exposure of the caryopsis through lemma and palea is called 'hull-cracked grain', which lowers the germinability and grade of malting barley. To breed new varieties with a low occurrence of hull-cracked grains, quantitative trait loci (QTL) analysis was conducted using 146 doubled haploid lines derived from Harrington × TR306. Interval mapping analysis revealed three significant QTLs on chromosomes 3H, 5H and 7H. About 37% of the variation of the expressivity of hull-cracked grains was explained by these three QTLs in a spikelet-thinning condition where 1/4 of the spikelets were thinned at the flowering time. On the contrary the QTL on 5H was silent in normal or non-treated condition and 23% of the variation was determined by the QTLs on 3H and 7H. Some of the QTLs detected here had a pleiotropic effect on the grain size.

Key words: Barley, Quality, Hull-cracked grain, QTL analysis.

緒 言

ビール醸造用のオオムギは麦芽生産のために発芽率が高くなければならず、糖化、発酵をスムーズに進めるために各種の酵素活性が高く、穀粒中のタンパク質含有率が適正 (9.5~11.5%) であるなど、厳しい品質基準を満たさなければならない。特に、ビールオオムギを糖化して得られる麦汁中の可溶性成分であるエキスの収率はビールの製造歩留まりに直接関係する経済的に最も重要な指標である。高度に品種改良されたビールオオムギ品種ではエキスを高めるために穀皮が極限まで薄くなっており、穀皮歩合 (穀粒に占める皮の重さの割合) は最低6%前後と、通常のカワムギ品種の1/2程度まで引き下げられている (佐藤ら

Research Institute for Bioresources, Okayama University, Kurashiki 710-0046, Japan
平成10年3月9日受理 (Received March 9, 1998)

* サッポロビール(株)植物工学研究所

1989).

このような状況の中で、1980年代の後半から西日本を中心として裂皮粒と呼ばれる新たな被害粒が発生し、国産ビールオオムギの品質に関する重大な問題となっており（浜地ら1988, 大石ら1988）、最近では北海道でも発生が見られるようになってきた（浅山ら1997）。

裂皮粒とは外穎の一部が裂けて、あるいは内穎と外穎の間に隙間が生じて、本来は内穎と外穎に包まれているべき穀粒が外から見える状態になった粒のことである（Fig. 1）。



Fig. 1. Hull-cracked grains of two-rowed barley.

裂皮粒では登熟中にその隙間部分から雨や露、あるいはカビなどの微生物が侵入し易く、発芽率やビールオオムギとしての品質が低下する。裂皮粒は農産物検査規格上の被害粒であり、その混入率が高くなるとビールオオムギとしては取り扱われず、价格的に不利な普通大粒オオムギとして買い上げられるため、生産者にとっては極めて深刻な問題となっている。

金谷・武田 (1996) は二条カワムギ615品種の裂皮粒歩合を調査して、在来品種よりも改良品種の裂皮粒歩合が高いことを見出し、品種改良の方向が裂皮粒の発生を助長するものであった事を示した。また、露崎・武田 (1989)、浜地ら (1989)、金谷・武田 (1996) は裂皮粒の発生機構を解析し、穀皮の大きさに対して相対的に穀粒が大きくなり過ぎるような環境条件で裂皮粒が発生し易いことを明らかにした。さらに、金谷ら (1996)、武田・金谷 (1995)、呉ら (1994, 1995) は裂皮粒歩合に関する一連の遺伝解析によって、裂皮粒が多数の量的遺伝子の集積によって発現される複合形質であることを明らかにした。

本研究ではマーカー情報のある倍加半数体系統を用いて裂皮粒歩合に関する QTL (Quantitative trait loci) 解析を行い、いくつかの有意な QTL を見出した結果を報告する。

本研究の実施にあたり、研究費の一部を御援助下さったビール酒造組合に御礼申し上げます。

材料および方法

実験には North American Barley Genome Mapping Project (NABGMP) が作成した Harrington と TR306 の交雑から修正バルボッサム法 (Chen and Hayes 1989) で養成した倍加半数体 (DH) 146 系統と親品種を用いた。

供試材料は1996年に北海道網走市北浜のサッポロビール植物工学研究所の北海道春播試験圃場に慣行法で春播栽培した。各系統、約20個体を播種し、開花期に1/4の小花を間引いた「摘粒区」と、無処理の「対照区」を設けた。成熟期に「摘粒区」および「対照区」からそれぞれ生育良好な5穂を採り、自然乾燥後、穂の両側から観察して穀皮の隙間や割れ目から穀粒が見えるものを裂皮粒とし、稔実粒に対する裂皮粒の百分率を裂皮粒歩合とした。機械的な衝撃による剥皮粒を含まないように、調査は脱穀する前の穂について行った。本実験では粒大を調査しなかったが、同一の材料を1994年に倉敷の岡山大学資源生物科学研究所圃場で秋播栽培して1,000粒重を調査したデータを用いて粒大を支配する QTL を解析した結果 (武田 1996) から裂皮粒歩合と粒大との関係を考察した。

得られたデータを基に、MAPMAKER/QTL 1.1 (Lander and Botstein 1989, Lincoln et al. 1992) を用いて裂皮粒歩合の QTL 解析を行い、LDO スコアが2.0以上のものを有意とした。裂皮粒歩合の分散分析、QTL 解析等にあたっては百分率の逆正弦変換値 ($\arcsin\sqrt{\%}$) を用いた。

結 果

各処理区における親品種の裂皮粒歩合と DH 系統の裂皮粒歩合の平均値 (百分率) を Table 1 に、またその角度変換値の分散分析結果を Table 2 に示す。裂皮粒歩合はいずれの処理区でも低かったが、ほとんどの系統で摘粒区の裂皮粒歩合がわずかに高く、処理間差は有意であった (Table 2)。また、裂皮粒歩合の処理間相関係数は $r=0.70$ と高く、DH 系統の裂皮粒歩合は両処理区において平行的であった。

親品種の裂皮粒歩合は Harrington が対照区で 0%、摘粒区で 0.93%、TR306 が対照区で 0%、摘粒区で 0.97% といずれも極めて低く、両親間に差はなかった (Table 1)。一方、DH 系

Table 1. Expressivity of hull-cracked grain (%) in 146 doubled haploid (DH) lines and their parents grown under two different conditions

	Conditions	
	I	II
Harrington	0.00	0.93
TR306	0.00	0.97
Mean of DH lines	1.38	1.66

I : Control.

II : Spikelet thinning.

Table 2. Analysis of variance for the expressivity of hull-cracked grain in 146 DH lines grown under two different conditions

Source of variance	df	MS	F
Lines	145	51.52	5.74***
Conditions	1	76.21	8.49**
Interaction	145	8.98	

** and ***: Significant at the 1% and 0.1% levels, respectively.

Table 3. Frequency distribution for the expressivity of hull-cracked grain (%) in 146 DH lines grown under two different conditions

Hull-cracked grains (%)	Conditions	
	I	II
0- 2	116	115
2-	16	18
4-	6	3
6-	1	1
8-	3	2
10-	2	3
12-	0	2
14-	1	2
16-18	1	0
Total	146	146

I : Control

II : Spikelet thinning

統の裂皮粒歩合も全体的に低く、対照区では全体の半数以上の82系統で裂皮粒が発生せず、摘粒区でも全体の約4割の61系統で裂皮粒が発生しなかった。以上のように、DH系統の裂皮粒歩合はいずれの処理区でも低い方向に強く偏った分布を示したが、両親の値がいずれも低いにも関わらず、裂皮粒歩合の比較的高い系統の超越分離も見られ、最も高い系統では裂皮粒歩合が17.9%であった (Table 3)。

これらのデータに基づいて interval mapping によって裂皮粒歩合を支配する QTL の位置と効果を各処理区毎に推定した。

摘粒区では 3 H 上の ABG609B-MWG838 の間 (LOD=4.54, $r^2=0.134$)、5 H 上の Act8B-MWG502 の間 (LOD=2.00, $r^2=0.061$) および 7 H 上の MWG626-VAtp57A の間 (LOD=5.71, $r^2=0.176$) に裂皮粒発生に関する有意な QTL が見いだされた。3 H 上の QTL は裂皮粒歩合を 4.0 度、7 H 上の QTL は裂皮粒歩合を 4.6 度それぞれ高める効果を持ち、いずれも Harrington に由来していた。また、5 H 上の QTL は裂皮粒歩合を 2.7 度高める効果を持ち、TR306 に由来していた (Table 4, Fig. 2)。これらの 3 個の QTL によって変異の 36.7% が説明され、各 QTL による r^2 の和が 3 因子による r^2 と良く一致したので QTL 間の交互作用はほとんど無いものと見られた (Table 4)。

一方、対照区では 3 H 上の摘粒区と同じ ABG609B-MWG838 の間 (LOD=4.66, $r^2=0.142$) と 7 H 上の摘粒区とほとんど同じ MWG511-MWG626 の間 (LOD=2.73, $r^2=0.082$) に裂皮粒発生に関する有意な QTL が見いだされた。摘粒区で 5 H 上に見出された QTL は対照区では有意でなかった。3 H 上の QTL は裂皮粒歩合を 3.2 度、7 H 上の QTL は裂皮粒歩

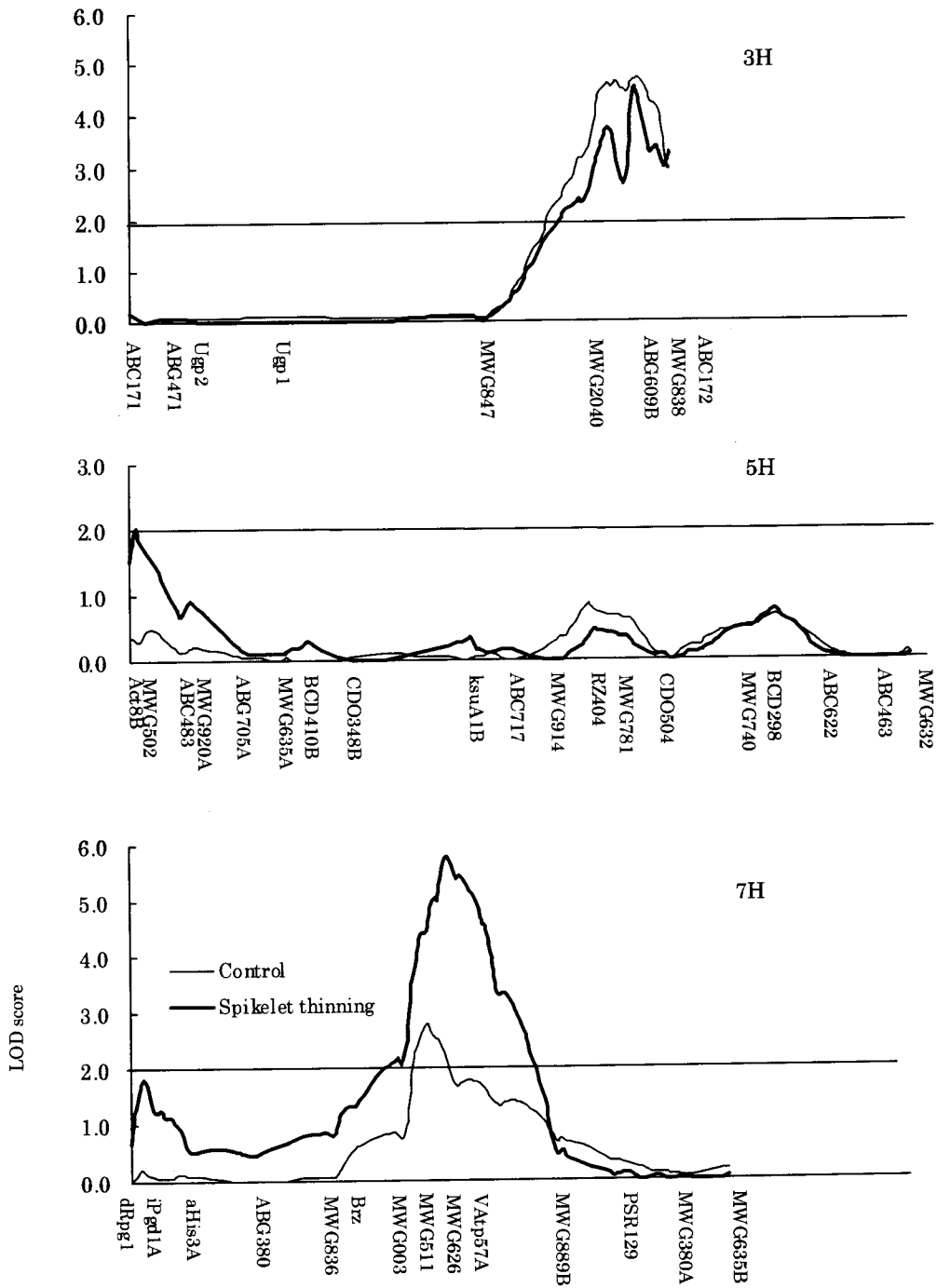


Fig. 2. LOD score from the QTL analysis of the expressivity of hull-cracked grains in DH lines derived from Harrington × TR306.

Table 4. Location of QTLs affecting the expressivity of hull-cracked grain in the DH lines derived from the cross of Harrington × TR 306 grown under two different conditions

Conditions	Chrom.	Marker interval	LOD	r ²	Weight ¹⁾
Spikelet thinning	3H	ABG609B-MWG838	4.54	0.134	4.0 ^H
	5H	Act8B-MWG502	2.00	0.061	2.7 ^T
	7H	MWG626-VAtp57A	5.71	0.176	4.6 ^H
		Multilocus	14.00	0.367	11.2
Contorol	3H	ABG609B-MWG838	4.66	0.142	3.2 ^H
	7H	MWG511-MWG626	2.73	0.082	4.1 ^H
		Multilocus	7.94	0.227	7.4

1) Letter suffix indicates parent contributing allele with a higher value.
H: Harrington, T: TR306

合を4.1度それぞれ高める効果を持ち、いずれも Harrington に由来していた (Table 4, Fig. 2)。これらの2個のQTLによって変異の22.7%が説明され、この場合もQTL間の交互作用はほとんど無いものと見られた (Table 4)。

各処理区で見いだされたQTLの近傍にある分子マーカーの遺伝子型によってDH系統を分類し、それぞれのマーカーを持つ系統群の平均裂皮粒歩合(逆正弦変換値)を比較した。その結果、摘粒区では3HのABG609Bおよび7HのVAtp57A座がHarrington型の系統群の方がTR306型の系統群より平均裂皮粒歩合が高く、5HのAct8B座では逆にTR306型の系統群の方がHarrington型より高かった。3つのマーカー(ABG609B-Act8B-VAtp57A)の遺伝子型がHarrington-TR306-Harringtonである系統群の平均裂皮粒歩合は14.59度と高い値を示し、逆にTR306-Harrington-TR306である系統群は1.45度と低く、両

Table 5. Expressivity of hull-cracked grain and 1,000 grain weight for DH lines classified by genetic markers (in spikelet thinning condition)

Locus			Expressivity	1,000 grain	No. of
ABG609B	Act8B	VAtp57A	(arcsin/%)	wt (g)	lines
H			7.70 ***	51.5	66
T			2.95	52.0	69
	T		6.58 **	52.9 ***	59
	H		3.61	50.5	69
		H	7.35 ***	50.9	59
		T	3.12	52.3 **	80
H	T	H	14.59 ***	51.5	10
T	H	T	1.45	51.9	17

H: Harrington, T: TR306.

1,000 grain weight was recorded at Kurashiki in 1995.

** and ***: Significantly different at the 1% and 0.1% levels, respectively.

系統群間の裂皮粒歩合の差は極めて顕著であった (Table 5).

一方、対照区では 3 H の ABG609B 座が Harrington 型である系統群の平均裂皮粒歩合は 6.26 度、TR306 型の系統群の平均裂皮粒歩合は 1.92 度であった。また、7 H の MWG511 座では Harrington 型と TR306 型の系統群の平均裂皮粒歩合は、それぞれ 5.75 度および 2.60 度で、いずれの遺伝子座においても Harrington 型の系統群の方が裂皮粒歩合が高かった。ABG609B と MWG511 がいずれも Harrington 型である系統群の平均裂皮粒歩合は 9.17 度、逆にいずれも TR306 型である系統群は 1.79 度と両系統群間の差は顕著であった (Table 6)。

3 H および 7 H 上に見出された QTL の染色体上の位置は両処理区において、同じか極めて近傍であったので、これらの QTL は同一のものである可能性が高い。

Table 6. Expressivity of hull-cracked grain and 1,000 grain weight for DH lines classified by genetic markers (in normal condition)

Locus		Expressivity (arcsin√%)	1,000 grain wt (g)	No. of lines
ABG609B	MWG511			
H		6.26 ***	51.5	66
T		1.92	52.0	69
	H	5.75 ***	50.7	67
	T	2.60	52.3 ***	79
H	H	9.17 ***	50.6	31
T	T	1.79	52.8 **	37

H: Harrington, T: TR306.

1,000 grain weight was recorded at Kurashiki in 1995.

** and ***: Significantly different at the 1% and 0.1% levels, respectively.

考 察

供試した DH 系統の両親である Harrington および TR306 はいずれも裂皮粒歩合が低かったが、交雑後代の DH 系統には裂皮粒歩合の高い方向への超越分離が見られた。このことは、裂皮粒歩合の家系分析 (金谷ら 1996) の結果、裂皮粒歩合の高い新田系 8 および新田系 22 の両親はいずれも裂皮粒歩合がそれほど高くなかったこと、多数の F₂ 集団を解析した結果 (呉ら 1994)、裂皮粒歩合の低い親品種間の交雑に由来する F₂ 集団においても裂皮粒歩合の高い方向への超越分離が現れたことなどと良く一致した。

以上のように、裂皮粒歩合の低い親同士の交雑による後代で両親よりも裂皮粒歩合の高い個体あるいは系統が出現するのは、複数の遺伝子の組換え、集積の結果によるものとみられる。これらの事実は裂皮粒歩合が登熟程度、穀皮の厚さ、穀皮の大きさと子実の大きさのバランスなど、多くの要因が関与する複合形質であることを強く示唆している。従って、今回見つかった作用力の強い 2 ないし 3 つの QTL は、裂皮粒の発生にかかわる要因、すなわち穀皮の厚さ、粒大、登熟程度などを支配する遺伝子であると考えられる。

このDH系統を倉敷で秋播栽培して1,000粒重に関するQTL解析を行った結果、いずれも1,000粒重を2g前後変化させるQTLが4個(KW1~4)見出されており、これらは4Hに1個、5Hに1個、7Hに2個座乗している(武田 1996)。5Hに座乗するKW4はAct8B-MWG502にあり、摘粒区で見出された裂皮粒歩合のQTLと同座、7Hに座乗するKW2はMWG626-VAtp157Aにあり、裂皮粒歩合のQTLと同座と見られ、裂皮粒を発生させる要因の一つとして粒の肥大程度が関与することが裏づけられた。

興味深いことに、5HのQTL(KW4)は大粒化するアレルが裂皮粒歩合を高める方向に働いているのに対して、7HのQTL(KW2)は小粒化するアレルが裂皮粒歩合を高めており、前者は穀粒を大きくすることによって裂皮粒を発生し、後者は穎花(穀皮)を小さくすることによって裂皮粒を発生するものと見られる(Table 5,6)。KW2とKW4が同時に関与する摘粒区では裂皮粒歩合に関してマーカー選抜した系統間では、KW2による小粒化とKW4による大粒化が打ち消し合って、粒大の平均値が51.5gと51.9gで有意差を示さなかった。このように、大粒化の方向も小粒化の方向も裂皮粒の発生を助長するため、粒大と裂皮粒歩合の遺伝相関が低い(呉ら 1995)のであろう。本実験に供試したDH系統でも、倉敷の秋播栽培条件における1,000粒重と網走の対照区における裂皮粒歩合との相関係数は0.141、同じく摘粒区における裂皮粒歩合との相関係数は0.136といずれも有意でなかった。

裂皮粒歩合に関与する3H上のQTLは粒大以外の、例えば穀皮の厚さなどを通じて裂皮粒の発生に関与しているものとみられる。

摘粒区と対照区の平均裂皮粒歩合には大きな差が認められなかったものの、対照区では見いだされなかった3つ目のQTLが摘粒区において5H上に検出されたことは興味深い。5H上の因子の作用が加わったことによってQTLの寄与率も対照区($r^2=0.227$)よりも摘粒区($r^2=0.367$)の方が大きくなった。

Table 5および6に示されたように、QTL近傍の分子マーカーの遺伝子型によってDH系統を分類した場合、分子マーカーの遺伝子型の違いにより、裂皮粒歩合が大きく異なった。このことは、分子マーカーによる間接選抜が有効であることを示しており、実際の裂皮粒歩合の選抜においてQTL解析ならびに分子マーカーによるQTLの間接選抜が有効な手段となり得ることを示している。

従来統計遺伝学的手法で解析された量的遺伝子は一種の抽象概念で、遺伝的実態の不明な場合も多かったが、QTL解析は量的形質を支配する遺伝子座の染色体上の位置を特定できるため、形質間相互の関係や、遺伝子間の働き合いをより実体的に解析できる。特に、同一の遺伝子型を反復して、あるいは異なる環境条件下で評価できる倍加半数体や組換え自殖系統(recombinant inbred line)などはF₂や戻交雑などの分離世代の材料に比べて利用価値が高い。

本実験材料のDH系統は裂皮粒歩合のQTL解析を目的として育成されたものではないので、両親品種の裂皮粒歩合は極めて低く、DH系統群の裂皮粒歩合も一般に低かった。それに関わらず3H、5Hおよび7H上に有意なQTLが見いだされたことは、裂皮粒の発生が確かな遺伝的背景を持つ形質であることを示している。今後、裂皮粒歩合の高い材料を供試してQTL解析を行えば、より多くの遺伝子がマッピングされ、育種の効率化に役立つものと期待される。

摘 要

Harrington×TR306に由来する倍加半数体146系統およびその両親を北海道網走市で春播条件で栽培し、穎花の1/4を間引いた摘粒区と無処理区で裂皮粒歩合を調査し、interval mappingによって裂皮粒歩合を支配するQTL解析を行った。両親の裂皮粒歩合は極めて低かったが、裂皮粒歩合の高い系統の超越分離が認められた。無処理区では3Hと7Hに有意なQTLが見出され、これらによって変異の約23%が説明できた。摘粒区ではこの2つに加えて5Hにも有意なQTLが見出され、これらによって変異の約37%が説明できた。これらの3つのQTLのうち2つは粒大を支配するQTLと同座と見られた。

キーワード：オオムギ、品質、裂皮粒、QTL解析

引 用 文 献

- 浅山 聡・後藤英次・桃野 寛・白旗雅樹・鈴木 剛, 1997. ビール大麦に対する被害粒(側面裂皮粒)の発生要因解明と軽減対策. 北海道立農試集報 73:63-68.
- 浜地勇次・古庄雅彦・吉田智彦, 1989. ビール大麦における側面裂皮粒の発生に及ぼす環境条件の影響. 日本作物学会紀事 58:507-512.
- Chen, F. Q. and P. M. Hayes. 1989. A comparison of *Hordeum bulbosum* mediated haploid production efficiency in barley using in vitro floret and tiller culture. Theor. Apple. Genet. 77:701-704.
- 金谷良市・武田和義, 1996. 二条オオムギにおける裂皮粒歩合の品種変異と発生機構. 岡大資生研報 4:89-96.
- 金谷良市・呉 基日・武田和義, 1996. 二条オオムギにおける側面裂皮粒率の品種間差異と家系分析. 育種学雑誌 46:67-71.
- Lander, E. and P. Green. 1987. Construction of multilocus genetic maps in Humans. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 84:2363-2367.
- Lincoln, S., M. Daly and E. Lander. 1992. Mapping genes controlling quantitative traits with MAPMAKER/QTL 1.1. Whitehead Institute Technical Report. 2nd ed.
- 大石博嗣・中村大四郎・横尾造明, 1988. 1987産ビール麦に多発した被害粒について. 九州農業研究 50:47.
- 佐藤和広・吉良賢二・越智弘明・成田秀雄, 1989. ビールオオムギにおける穀皮歩合のダイアレル分析. 育種学雑誌 39:471-480.
- 武田和義, 1996. 倍加半数体オオムギにおける有用遺伝子のマッピング. 平成7年度科学研究費補助金(一般研究C)研究成果報告書.
- 武田和義・金谷良市, 1995. 二条オオムギにおける裂皮粒歩合のダイアレル分析. 育種学雑誌 45:217-221.
- 露崎 浩・武田和義, 1989. オオムギにおける裂皮粒ならびに凸腹粒の発生機構(予報). 日本作物学会東北支部報 32:73-75.
- 呉 基日・武田和義・金谷良市, 1994. 二条オオムギのF₂集団における裂皮粒歩合のダイアレル分析. 岡大資生研報 2:79-89.
- 呉 基日・金谷良市・武田和義, 1995. 二条オオムギにおける裂皮粒歩合と1,000粒重の遺伝. 育種学雑誌 45:223-226.