岡大資生研報 (Bull. Res. Inst. Bioresour. Okayama Univ.) 5 : 61-68 (1997)

# コムギ属植物における穀粒のフェノール反応の変異および フェノール反応に関与する遺伝子の座乗染色体

張　成林・武田　真・武田和義

# Phenol Reaction of Kernels and Chromosome Location of Phenol Reaction Genes in the Genus *Triticum*

ChengLin CHANG, Shin TAKETA, and Kazuyoshi TAKEDA

A total of 3,606 accessions of the genus *Triticum* involving diploid, tetraploid, hexaploid, and synthetic wheat and 7 *Aegilops* materials were tested for the phenol reaction in kernels. All hexaploid wheat showed a positive reaction to phenol, but differed in staining degree. One of the synthetic wheat lines showed a negative reaction to phenol.

Using monosomics, ditelosomics and nulli-tetrasomics in the common wheat cv Chinese Spring (*Triticum aestivum* L.), and Langdon(*Triticum turgidum* var. *durum*) disomic substitutions, genes controlling phenol reaction of kernels were located on chromosomes 2A, 2B and 2D. Synteny of the chromosome region involving the phenol reaction gene in some gramineous plants was discussed.

**Key word:** Phenol reaction, *Triticum*, Chromosome

## 緒　　言

フェノールによる穀粒の着色反応は様々な作物で品種の識別などに利用されているが，この反応はフェノール類物質が polyphenol oxidase (PPO) によって酸化されるために起こると考えられている[7,8]．フェノール酸化物質は制菌作用があり，品質や耐病性と関連するとみられている．コムギではフェノールによる種子の着色程度と PPO 活性との関連性が認められ，PPO はコムギの粉色，製パン性に影響することが指摘されている[1,2,19]．

コムギの穀粒のフェノール反応に関与する遺伝子は2A および2D 染色体に座乗すると報告されている[18,20]が，それを支配する遺伝子の数およびそれぞれの染色体上の位置は明らか

Research Institute for Bioresources, Okayama University, Kurashiki 710, Japan
平成9年1月28日受理 (Received January 28, 1997)

にされておらず，その全体像については解析されていない．

本研究ではコムギ属植物における穀粒のフェノールによる着色反応の変異について調査し，また，コムギの穀粒のフェノール反応を支配する遺伝子の座乗染色体および染色体上の位置を明らかにする目的で普通系コムギ品種 Chinese Spring(CS) の異数体系統 nulli-tetrasomic 系統，ditelosomic 系統，monosomic 系統，および *T. durum* 品種 Langdon の disomic substitution 系統を用いて異数体分析を行った．

中国農業試験場　田谷省三博士より数多くの普通系コムギ系統，岐阜大学農学部古田喜彦教授より CS の nulli-tetrasomic 系統，また USDA の L. R. Joppa 博士より Langdon の disomic substitution 系統をいただきご好意に感謝する．

## 材料および方法

一粒系コムギ 8 系統，*Aegilops* 属の近縁野生種 7 系統，*Timopheevi* 系コムギ 1 系統，二粒系コムギ341系統，普通系コムギ3,251系統，および合成コムギ 5 系統とその親品種（系統）(Table 1)，コムギ品種 Chinese Spring(CS) の ditelosomics 35系統，nulli-tetrasomics 35系統，CS×紅芒麦(Hongmangmai)の $F_2$集団および CS の monosomic 系統と紅芒麦との雑種 $F_2$ 21集団，および *T. durum* 品種 Langdon の A ゲノム又は B ゲノム染色体を CS 由来の同祖の D ゲノム染色体で置換した Langdon disomic substitutions14系統とその親品種 Langdon をそれぞれ供試した．

各品種または個体から十分成熟した 4 ～ 6 粒の乾燥種子を取り，20℃で16時間吸水させた後に，水分を切り，ロ紙を敷いた直径90mm のシャーレに胚を上向きにして置床して pH 6 に調整した 1 %フェノール水溶液 3 ml を注入し，30℃で10時間反応させた後，着色程度を－(無着色)，＋（薄く着色)，＋＋（中程度に着色)，＋＋＋（濃く着色）の 4 段階で判定した．

なお，CS の ditelosomics と nulli-tetrasomics の各異数体系統については 1 系統 2 粒を供試した．

## 結果および考察

### Ⅰ．コムギ属植物における穀粒のフェノール反応の変異

A ゲノムを有する *T. monococcum* と *T. boeoticum* では供試した全系統がフェノールで強く着色した．S ゲノムを有し，B ゲノムの提供親と考えられる *Ae. speltoides* では調査した 1 系統は着色しなかった．D ゲノムを有する *Ae. squarrosa* 3 変種（6 系統）のうち，var. strangulata は 2 系統共着色し，var. meyeri（1 系統）は着色しなかったが，var. typica（3 系統)の中には着色するものと着色しないものがあった．*T. timopheevi* は 1 系統だけ調査したが，フェノールによって着色しなかった．

二粒系コムギのうち，*T. polonicum* 4 系統は何れも着色しなかったが，*T. persicum*，*T. abyssinicum* 及び *T. turgidum* は全てフェノールに反応して着色した．ところが，*T. dicoccum* と *T. durum* には着色する系統と着色しない系統が認められ，着色程度にも変異が認められた．

Bhowal ら[4]は普通系コムギにフェノールによって着色する系統と着色しない系統があることを報告している．しかし本研究では調査した普通系コムギ3,251系統全てがフェノールによって着色し，着色しない系統は見出されなかった．濃く着色した系統と中程度に着色した系統が大部分を占め，薄く着色したのは118系統（3.6%）と少なかった（Table 1）．

合成コムギ（ゲノム構成 AABBDD）5系統のうち4系統は着色した．これら4系統は両親或いは片親に着色する系統を有しており，それらの着色程度は反応する親あるいは反応の強い方の親と同程度であった．着色しない1系統の両親はフェノールに反応しない Mexi75と *Ae. squarrosa*（var. typica）であった（Table 1）．

Table 1. Phenol reaction in the diploid, tetraploid and hexaploid wheats

| Species | Genome | −[1] | + | ++ | +++ | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *T. monococcum* | AA | | | 2 | 5 | 7 |
| *T. boeoticum*(4x) | AAAA | | | | 1 | 1 |
| *Ae. speltoides*(4x) | SSSS | 1 | | | | 1 |
| *Ae. squarrosa* | DD | 2 | | 3 | | 5 |
| *Ae. squarrosa*(4x) | DDDD | 1 | | | | 1 |
| *T. timopheevi* | AAGG | 1 | | | | 1 |
| *T. polonicum* | AABB | 4 | | | | 4 |
| *T. turgidum* | AABB | | | 1 | | 1 |
| *T. persicum* | AABB | | | | 3 | 3 |
| *T. abyssinicum* | AABB | | | 10 | | 10 |
| *T. dicoccum* | AABB | 3 | | 1 | 1 | 5 |
| *T. durum* | AABB | 301 | 7 | 8 | 2 | 318 |
| *T. sphaerococcum* | AABBDD | | | | 1 | 1 |
| *T. spelta* | AABBDD | | | 3 | 2 | 5 |
| *T. aestivum* | AABBDD | | 118 | 1,351 | 1,776 | 3,245 |
| Synthetics(AABBDD): | | | | | | |
| Stewart(−)×*Ae. squarrosa*(++)[2] | | | | | | ++ |
| Tetra Canthach(+++)×*Ae. squarrosa*(−) | | | | | | +++ |
| Tetra Canthach(+++)×*Ae. squarrosa*(++) | | | | | | +++ |
| Mexi75(−)×*Ae. squarrosa*(−) | | | | | | − |
| Mexi75(−)×*Ae. squarrosa*(++) | | | | | | ++ |

1). −: Not stained, +: Brown, ++: Dark brown, +++: Black
2). The parent's reaction

*T. durum* の着色しなかった301系統のうち，268系統は CIMMYT の育成系統であった．

フェノール酸化酵素 polyphenol oxidase はコムギの加工品質に影響を及ぼすことが指摘されており[1,2,19]，フェノール酸化酵素が発現しないコムギ系統の育成はコムギの加工品質および食品の外観イメージの改善に寄与すると思われる．また，本実験で見出されたフェノールに反応しない6倍体の合成コムギ系統は遺伝研究および育種のための材料として有用と思われる．

普通系コムギを多数調査したにも関わらずフェノールに着色しない系統は見出されなかっ

た．その原因として次のような可能性が考えられる．フェノール反応に関与する遺伝子はA，BおよびDの全てのゲノム上に存在していて，それらが不活性化されてはじめて着色がみられなくなる．普通系コムギの成立に関与する栽培二粒系コムギと *Ae. squarrosa* が共にフェノール反応性のものであったとすればA，BおよびDゲノムのそれぞれに存在するフェノール反応遺伝子が不活性化される確率は極めて低いであろう．

## Ⅱ．コムギのフェノール反応に関与する遺伝子の座乗染色体

CSのditelosomicsおよびnulli-tetrasomicsに関しては不稔のために作出できない系統と供試できなかった系統を除き，35系統ずつを供試した．その結果，Table 2およびFig. 1で示すように，ditelosomicの2BL(2Bの短腕が無い)，nulli-tetrasomicのN2BT2D，N2DT2AおよびN2DT2BはCS（＋＋, Dark brown）よりも明らかに薄い着色（＋, Brown）を示した．このことからCSの2B（短腕）および2D染色体にはフェノール反応に関与する遺伝子が存在することが示唆された．2A染色体に関してはditelosomicの2AL及びnulli-tetrasomicのN2AT2BとN2AT2Dが得られておらず，完全な解析はできなかった．

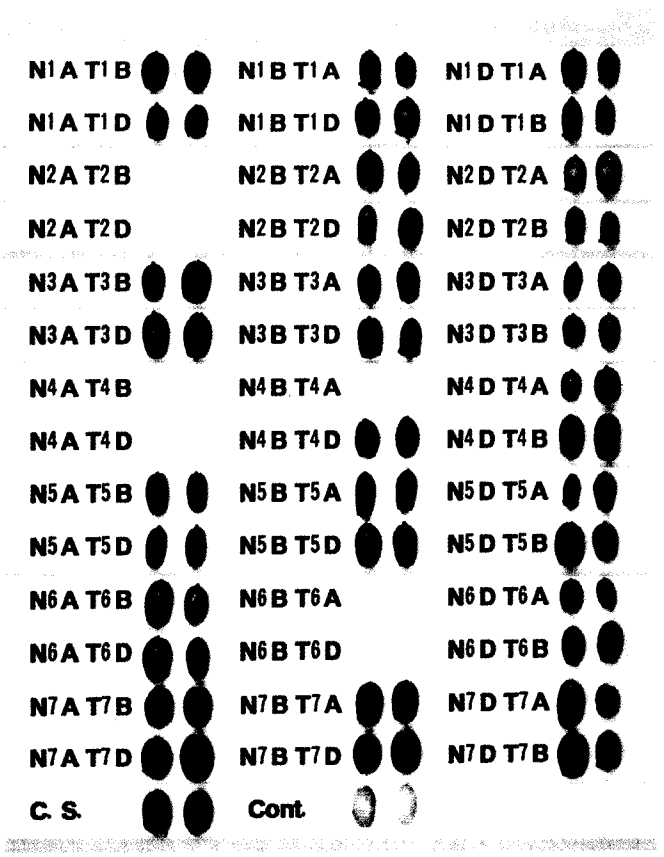


Fig. 1. Phenol reaction of nulli-tetrasomics of Chinese Spring (C. S.)

*T. durum* の品種 Langdon（ゲノム構成 AABB）は種子がフェノールによって着色しなかった．Langdon の A ゲノム又は B ゲノム染色体を CS 由来の同祖の D ゲノム染色体で置換した Langdon disomic substitution 系統では2A 染色体が2D 染色体で置換された場合，あるいは2B 染色体が2D 染色体で置換された場合に，種子が CS と同程度の着色（＋＋，Dark brown）を示した．このことから，CS の2D 染色体に種子のフェノール反応を支配する遺伝子が存在することが明らかになった（Fig. 2）．

CS より濃く着色する紅芒麦（＋＋＋, Black）と CS との交配を行い，$F_2$における穀粒のフェノールによる着色反応を調べたところ，その分離は 1 遺伝子による場合の期待分離比 3：1 に適合した．紅芒麦のフェノール反応を支配する遺伝子を CS の monosomic 系統と交配して，モノソミック分析によって座乗染色体を解析したところ，monosomic 2A×紅芒麦の$F_2$集団における穀粒のフェノール反応の分離は 3：1 の期待値に適合せず，2A 染色体にフェノール反応遺伝子の存在が示された（Table 3）．

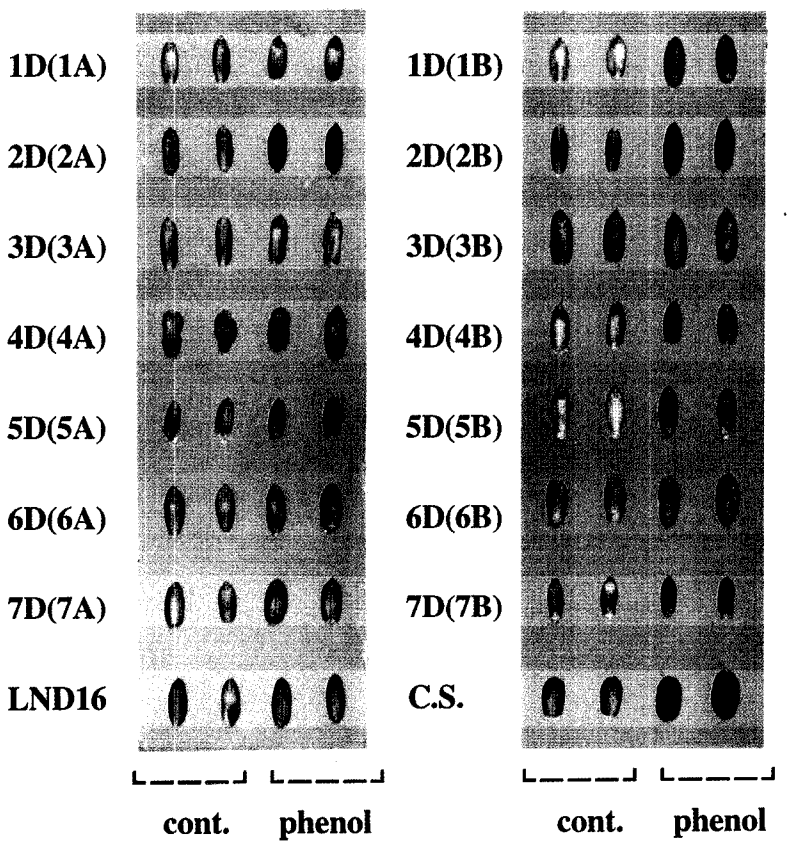


Fig. 2. Phenol reaction of Langdon(LND) disomic substitutions
1D(1A) means 1A is substituted by 1D

コムギの穀粒のフェノール反応に関与する遺伝子は2A および2D 染色体に座乗すると報告されている[18,20]が，本研究では2A および2D 染色体に座乗することが再確認された上，2B 染色体にも穀粒のフェノール反応を支配する遺伝子の存在が認められた．このように，コムギの第 2 同祖群の全ての染色体にフェノール反応を支配する遺伝子が存在することが確かめられた．

我々はオオムギにおいて芒がフェノールによって着色しない変異体を見出し，その遺伝分析からオオムギの芒のフェノール反応を支配する遺伝子 *Phr* は2H 染色体に座乗し，無葉耳遺伝子 *li* と連鎖していることを明らかにした[17]．また，ライムギのフェノール反応遺伝子は2R 染色体に座乗するとされている[18]．一方，イネのフェノール反応遺伝子は無葉耳遺伝子と連鎖し第 4 染色体に属する[13,14]．

イネ科植物に共通の特徴である無葉耳（無葉舌）に関与する遺伝子は Table 4 に要約した

Table 2. Phenol reaction(PR) of ditelosomic lines(DT) of Chinese Spring(CS)

| DT | PR | DT | PR | DT | PR |
|---|---|---|---|---|---|
| 1AS | ++[1)] | 1BS | ++ | 1DS | ++ |
| 1AL | ++ | 1BL | ++ | 1DL | ++ |
| 2AS | ++ | 2BS | | 2DS | ++ |
| 2AL | . | 2BL | + | 2DL | ++ |
| 3AS | ++ | 3BS | ++ | 3DS | ++ |
| 3AL | ++ | 3BL | ++ | 3DL | ++ |
| 4AS | ++ | 4BS | ++ | 4DS | ++ |
| 4AL | | 4BL | ++ | 4DL | ++ |
| 5AS | | 5BS | | 5DS | |
| 5AL | ++ | 5BL | ++ | 5DL | ++ |
| 6AS | ++ | 6BS | ++ | 6DS | ++ |
| 6AL | ++ | 6BL | ++ | 6DL | ++ |
| 7AS | ++ | 7BS | ++ | 7DS | ++ |
| 7AL | ++ | 7BL | ++ | 7DL | |
| CS | ++ | | | | |

1). + : Brown, ++ : Dark brown

Table 3. Segregation for phenol reaction of seeds in $F_2$ populations crossed between Chinese Spring(CS) monosomics and Hongmangmai(HM)

| Monosomics | Phenol reaction | | Total | $\chi^2(3:1)$ |
|---|---|---|---|---|
| | +++[1)] | ++ | | |
| 1A | 67 | 17 | 84 | 1.02 |
| 2A | 83 | 1 | 84 | 25.40** |
| 3A | 59 | 22 | 81 | 0.20 |
| 4A | 68 | 18 | 86 | 0.76 |
| 5A | 60 | 16 | 76 | 0.63 |
| 6A | 52 | 13 | 65 | 0.87 |
| 7A | 69 | 19 | 88 | 0.55 |
| 1B | 69 | 24 | 93 | 0.03 |
| 2B | 54 | 12 | 66 | 1.64 |
| 3B | 61 | 14 | 75 | 1.60 |
| 4B | 55 | 21 | 76 | 0.28 |
| 5B | 64 | 16 | 80 | 1.07 |
| 6B | 64 | 22 | 86 | 0.02 |
| 7B | 70 | 16 | 86 | 1.88 |
| 1D | 73 | 20 | 93 | 0.61 |
| 2D | 62 | 19 | 81 | 0.10 |
| 3D | 64 | 20 | 84 | 0.06 |
| 4D | 74 | 16 | 90 | 2.50 |
| 5D | 65 | 18 | 83 | 0.49 |
| 6D | 59 | 15 | 74 | 0.88 |
| 7D | 61 | 23 | 84 | 0.25 |
| CS×HM $F_2$ | 148 | 49 | 197 | 0.002 |
| CS | | 10 | 10 | |
| HM | 10 | | 10 | |

1): ++ Dark brown, +++ Black

** : Significant at the 1% level

ように，オオムギの2H 染色体，コムギの2B，2D 染色体，イネの第 4 染色体，トウモロコシの第 2 染色体に座乗していることが明らかにされており，コムギの第 2 同祖群，ライムギの2R 染色体，イネの第 4 染色体，トウモロコシの第 2 染色体およびオオムギの 2H 染色体は同祖関係にあることが知られている[3,6,9,15]．このようにフェノール反応遺伝子と無葉耳（葉舌）遺伝子が連鎖して同祖染色体上に座乗していることはイネ科植物の系統分化を考える上で興味深い．

Table 4. Location of ligule-less and phenol reaction genes in some gramineous plants

| Crops | Ligule-less | Reference No. | Phenol reaction | Reference No. |
|---|---|---|---|---|
| Barley | 2H | 16 | 2H | 17 |
| Wheat | | | 2A | 18, 20, present |
| | 2B | 11 | 2B | 5 |
| | 2D | 10, 11 | 2D | 18, 20, present |
| Rye | 2R | 12 | 2R | 18 |
| Rice | 4 | 13 | 4 | 13 |
| Maize | 2 | 3 | ? | |

## 摘　　要

**1．** コムギ属における穀粒のフェノールによる着色反応を調査した結果，二粒系コムギでは着色する系統としない系統が存在するが，普通系コムギでは3,200以上の品種を供試したにもかかわらず，穀粒がフェノールによって着色しない系統は見出されなかった．合成コムギ（AABBDD）にはフェノールによって着色しない系統が見出された．

**2．** 異数体分析によって普通系コムギの穀粒のフェノール反応を支配する遺伝子が2A と2D 染色体に座乗することが明らかになり，2B 染色体にも穀粒のフェノール反応を支配する遺伝子の存在が認められ，コムギの第 2 同祖群の全ての染色体にフェノール反応遺伝子が存在することが確かめられた．

**3．** フェノール反応遺伝子と無葉耳遺伝子が見出されているイネ科植物の染色体の同祖性について考察した．

**キーワード**：フェノール反応，コムギ属，染色体

## 引　用　文　献

1. Abrol, Y. P. and D. C. Uprety. 1970. Studies on darkening of whole wheat meal dough. Current Science 18 : 421-422.
2. Abrol, Y. P., D. C. Uprety, A. Ram and S. Tikoo. 1970. Phenol color reaction as an indicator of

chapati quality in wheat. SABRAO Newsletter 3(1) : 17-21.

3. Ahn, S., J. A. Anderson, M. E. Sorrells and S. D. Tanksley. 1993. Homoeologous relationships of rice, wheat and maize chromosomes. Mol. Gen. Genet 241 : 483-490.
4. Bhowal, J. G., S. K. Banerjee and M. G. Joshi. 1969. The evolution of the phenol colour reaction gene in wheat. Japan J. Genetics 44(3) : 123-128.
5. 張　成林・武田　真・武田和義. 1995. コムギ属における粒のフェノール反応の変異　育種学雑誌　45(別冊1)：253.
6. Devos, K. M., T. Millan and M. D. Gale. 1993. Comparative RFLP maps of the homoeologous group-2 chromosomes of wheat, rye and barley. Theor. Appl. Genet. 85 : 784-792.
7. 近藤萬太郎・高橋隆平. 1938. フェノール着色法による小麦の品種鑑識（第一報）. 農学研究　30：39-68.
8. 栗山英雄・工藤政明. 1967. 稲の成熟穎黒色を支配する補足遺伝子 *Ph* および *Bh* とそれらの地理的分布. 育種学雑誌　17：13-19.
9. Kurata, N., G. Moore, Y. Nagamura, T. Foote, M. Yano, Y. Minobe and M. Gale. 1994. Conservation of genome structure between rice and wheat. Bio/Technology 12 : 276-278.
10. Li, W., Z. Li, and S. Huang. 1990. Chromosomal location of gene for auricle development in common wheat. Wheat Inform. Serv. 71 : 27-28.
11. Mcintosh, R. A. and E. P. Baker. 1968. A linkage map for chromosome 2D. Proc. 3rd Int. Wheat Genet. Symp. (Aust Acad Sci, Canberra) 305-309.
12. Melz, G., R. Schlegel and V. Thiele. 1992. Genetic linkage map of rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. 85 : 33-45.
13. 長尾正人・高橋万右衛門. 1952. 稲の交雑に関する研究　第XVI報　Pl 連鎖群に属する遺伝子の座位に就いて. 育種学雑誌　1：237-240.
14. Nagao, S. and M. Takahashi. 1963. Trial construction of twelve linkage groups in Japanese rice. Genetical studies on rice plant, XXVII. J. Fac. Agr., Hokkaido Univ., Sapporo 53 : 72-130.
15. Sherman, J. D., A. L. Fenwick, D. M. Namuth and N. L. V. Lapitan. 1995. A barley RFLP map : alignment of three barley maps and comparisons to Gramineae species. Theor. Appl. Genet. 91 : 681-690.
16. 高橋隆平・福山利範. 1977. 遺伝子表と染色体地図：オオムギ　植物遺伝学Ⅳ（山口編）：391-416　裳華房　東京.
17. Takeda, K and C. L. Chang. 1996. Inheritance and geographical distribution of phenol reaction-less varieties of barley. Euphytica 90 : 217-221.
18. Wrigley, C. W. and R. A. Mcintosh. 1975. Genetic control of factors regulating the phenol reaction of wheat and rye grain. Wheat Inf. Sav. No.40 : 6-10.
19. Yanagisawa A. and Y. Amano. 1995. Degradation of wheat flour color damaged by rain in Hokkaido. The Abstracts of 7th International Symposium Pro-Harvest Sprouting in Cereals pp.10.
20. Zeven, A. C. 1972. Identification of chromosomes carrying a locus for a gene conditioning the production of tyrosinase in wheat grains. Wheat Inform. Serv. 35 : 3-8.