

オオムギ種子感水性の QTL マッピング

岩佐友彦・高橋秀和・武田和義

QTL Mapping for Water Sensitivity in Barley Seeds

Tomohiko IWASA, Hidekazu TAKAHASHI and Kazuyoshi TAKEDA

Sensitivity to water condition during germination is an important character in malting barley because it affects the malt production. Water sensitivity in malting barley is defined as the difference in germination percentage between the seeds in standard and excess-water conditions. Usually standard and excess-water condition means 4 and 8 ml water in a 90 mm petri dish, respectively. Takeda and Fukuyama (1983) examined more than 4,000 barley accessions and found 0~100% water sensitivity. This means complete to no suppression of germination by an excess-water condition.

In this study, quantitative trait loci (QTL) analysis was applied to analyze the inheritance of water sensitivity. Two sets of doubled haploid (DH) populations derived from Steptoe $\times$ Morex (S/M) and Harrington $\times$ TR306 (H/T) crosses, were grown in the experiment field of the Research Institute for Bioresources, Okayama University. Bulbosum method was adapted to develop DH lines (Chen and Hayes 1989).

Water sensitivities of 150 (S/M) and 146 (H/T) lines and their parents were evaluated using 50 seeds each and the germination test (25°C, 4 days) was repeated four times. Water sensitivity showed a large variation (Fig. 1) and the heritability of the trait was 0.78 and 0.72 in S/M and H/T, respectively, indicating that about three-quarters of the phenotypic variance was genetic in origin.

Three (S/M) and one (H/T) significant QTL were detected and 23% (S/M) and 25% (H/T) of the phenotypic variance was explained by the QTL. These QTL were located on chromosomes 2H, 3H, 6H and 7H (Table 1, Fig. 2). QTL relating to germination traits were located near the QTL

controlling water sensitivity (Fig. 3). Interaction among the QTL was small (Table 2). Marker-assisted selection was effective (Table 3).

Key words: barley, water sensitivity, QTL analysis

緒 言

オオムギの主要な用途であるビール醸造のためにはオオムギ種子を発芽させて麦芽 (malt) を製造するプロセスが必須である。麦芽を製造するにはオオムギ種子を水に浸けて十分に吸水させ (浸麦), 適切な温度条件下で攪拌しながら発芽させる。その際, 過剰な水分によって発芽が影響されることは好ましくないため, 発芽時の過剰な水に対する感受性, すなわち種子の感水性 (water sensitivity) を低くすることがビール醸造用品種では重要な育種目標となっている。感水性 (水感受性) はペトリ皿を用いた発芽試験において, 標準的な水量を与えた時の発芽率とその倍量の水を与えた時の発芽率の差 (減少分) によって評価し (農業研究センター 1986), 感水性が45%以上であれば精麦に不適とされる (増田 1974)。

武田・福山 (1983) はオオムギ約4,000品種の感水性を評価して0~100%の大きな品種変異を見出し, 日本, 朝鮮半島, 中国などの品種の感水性が低いことを明らかにした。日本のビール麦品種の感水性は一般のオオムギ品種よりも低く, 育種の効果が示された。

感水性の遺伝性については組織的な研究が行われていないので, 本研究では倍加半数体系統を用いて感水性の QTL 解析を行った。

なお, 本研究の一部は学術振興会未来開拓学術研究推進事業「植物分子育種」JSPS-RFTF9616001によった。

材料および方法

オオムギ品種 Steptoe と Morex (S/M) および Harrington と TR306 (H/T) の交雑組合せからバルボッサム法 (Chen and Hayes 1989) で育成された倍加半数体 (DH) 150および146系統ならびに両親を供試した。

Steptoe と Morex は六条, Harrington と TR306 は二条でいずれも皮性, Morex と Harrington はビール醸造用品種である。

ろ紙を2枚敷いた直径90mmのプラスチック製ペトリ皿に両親および各系統の種子50粒を置床し, 25℃, 暗条件で4日間催芽して発芽率を調査した。0.1%のベンレート水溶液を4ml与えた対照区と8ml与えた水過剰区の発芽歩合の差を感水性の指標とした。実験は4反復し, 計200粒の発芽率を評価した。

それぞれの系統の感水性の数値と223 (S/M) および127 (H/T) のマーカー情報に基づき MAPMAKER/QTL 1.1 を用いてインターバルマッピングを行い (Lander and Botstein 1989), LOD スコアが2.0以上のものを有意な QTL とした。なお, DH 系統ならびにマーカー情報は North American Barley Genome Mapping Project から提供された。

結果および考察

親品種の感水性は Steptoe が 20.0%, Morex が 32.7%, Harrington が 10.2% および TR306 が 22.0% であった。

両組合せの DH 系統群では連続的で超越的な分離が認められ、系統平均値は S/M では 35.8%, H/T では 24.6% と感受性の高い親とほぼ一致した (Fig. 1)。DH 系統はすべて純系で遺伝子の優性効果は現れないので、このように集団平均値が中間親よりも高くなるのは遺伝子間に相互作用 (エピスタシス) が働いているか、感水性を示す指標のスケールリングが適

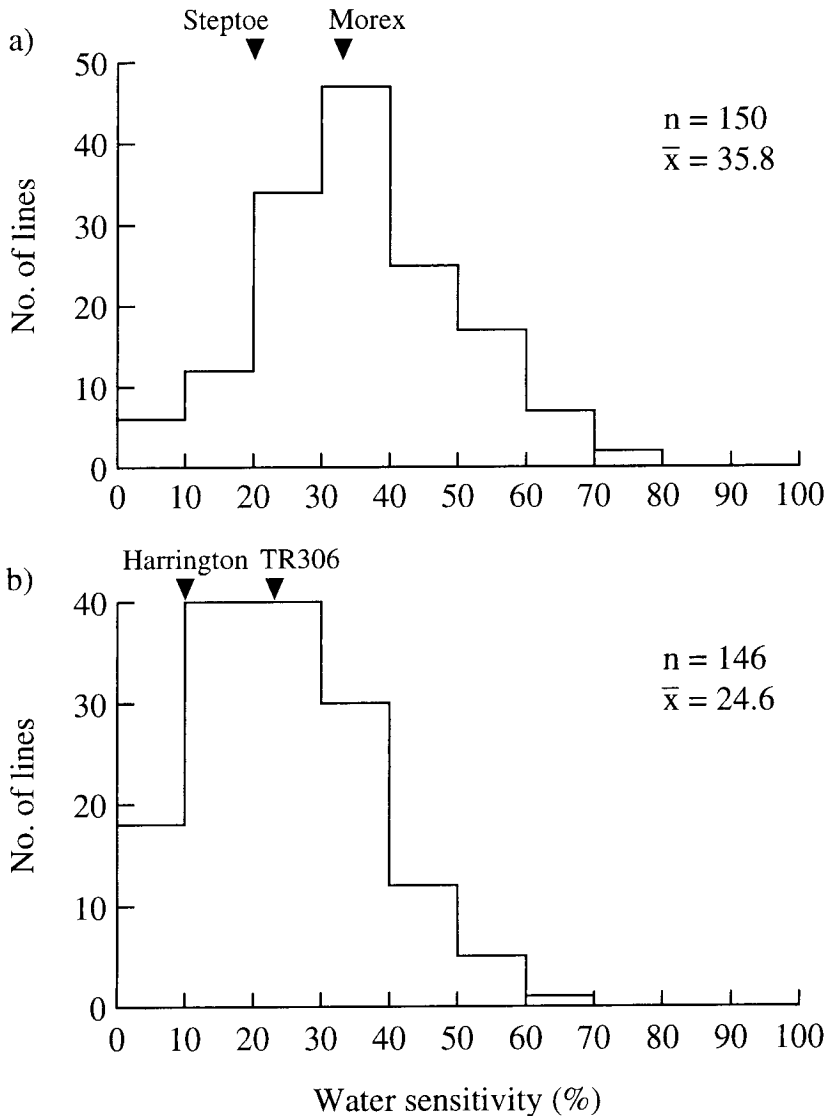


Fig. 1. Frequency distributions of water sensitivity of barley seeds in the DH lines. a): Steptoe x Morex. b): Harrington x TR306.

Table 1. Location of QTL affecting water sensitivity of barley seeds in the DH lines

Cross	Chromosome	Marker interval ^a	LOD score	r ²	Weight (%) ^b
S/M	2H	ABC156A -MWG858	2.3	0.067	7.6S
	3H	BCD828 -MWG680	2.0	0.061	7.2S
	6H	ABG387B -ABG458	3.0	0.094	9.0M
	Multilocus		8.3	0.231	24.6
H/T	7H	MWG626- VAtp57A	8.7	0.254	12.9H

^a: Nearest marker in boldface.

^b: Values indicate parent contributing higher value allele, where S=Steptoe, M=Morex and H=Harrington.

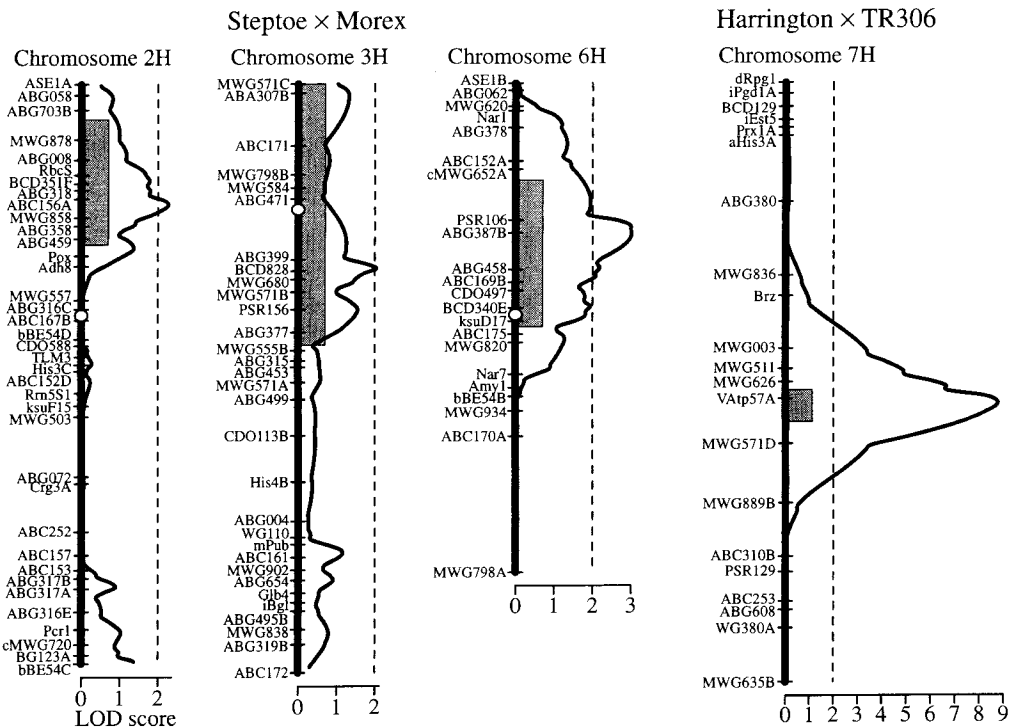


Fig. 2. LOD score from the QTL analysis of water sensitivity of barley seeds in the cross of DH lines derived from Steptoe×Morex (chromosomes 2H, 3H and 6H) and Harrington×TR306 (chromosome 7H).

The shadowed regions indicate the confidence interval of QTL for water sensitivity. Circles show the position of centromere regions.

切でないことによると考えられる。

インターバルマッピングによって感水性を支配する QTL の位置と効果を推定したところ、S/Mにおいては2H, 3Hおよび6H染色体上に有意なQTLが見出され、それらによって感水性の変異の23.1%が説明された。個々のQTLは変異の6～9%を説明し、それぞれ感水性を7～9%変化させるとみられた (Table 1)。これらのQTLはそれぞれ2H染色体の短腕, 3H染色体の動原体近傍, 6H染色体の短腕上に存在するとみられたが、LODスコアのピーク

Table 2. Analysis of variance for water sensitivity (%) in Steptoe×Morex DH lines

Source	df	MS	F
ABC156A (a)	1	1839.8	11.085**
BCD828 (b)	1	2320.6	13.981***
ABG387B (c)	1	2510.2	15.124***
a×b	1	328.3	1.978
b×c	1	81.1	0.489
a×c	1	693.1	4.176*
a×b×c	1	182.3	1.098
Error	122	166.0	

*, ** and ***: Significant at the 5, 1 and 0.1% levels, respectively.

は明瞭でなく、信頼区間も広いので、遺伝子の作用は明確でない (Fig. 2)。このうち 2H と 3H 染色体上の QTL は Steptoe に由来し、6H 染色体の QTL は Morex に由来していた。超越分離を示した系統では、これらの異なる親に由来する遺伝子が集積して両親の値を超えたものと考えられる。これらの 3 個の QTL の間に相互作用 (エピスタシス) があるかどうかを分散分析法によって検定したところ、2H 染色体上の QTL と 6H 染色体上の QTL の間にだけ 5% 水準で有意な感水性を高める方向の弱い相互作用が認められた (Table 2)。

一方、H/T においては 7H 染色体上に感水性を約 13% 変化させ、変異の 25.4% を説明する作用価の大きい QTL が見出された。この QTL は感水性の低い Harrington に由来する点が注目される。Harrington がこのように作用力の大きい QTL を持っているにもかかわらず他方の TR306 よりも感水性が低いということは、Harrington の遺伝的背景として感水性を低下させるようなポリジーンを多数集積していることを示唆するものであろう。この QTL は 7H 染色体の中部に明らかな LOD スコアのピークを示し、作用の明らかな遺伝子であることを示している (Fig. 2)。

S/M と H/T の感水性の系統間分散と系統内分散 (誤差分散) から感受性の系統平均値の遺伝率を算出すると、S/M では 0.780、H/T では 0.720 となり、表現型分散の約 1/4 が誤差分散、残りの 3/4 が遺伝分散であることが示された。一方、S/M では 3 個の QTL、H/T では 1 個の QTL によってそれぞれの表現型分散の約 1/4 (S/M: 0.231, H/T: 0.254) が説明されるので、残りの約 1/2 は LOD スコア 2.0 に達しない作用力の小さな、いわゆるポリジーンによる遺伝分散であろう。すなわち、両交雑組合せにおいて感水性の表現型分散の約 1/4 は作用力の大きい QTL、約 1/2 は作用力の小さいポリジーン、残りの約 1/4 は誤差によるものとみられる。

従来、オオムギの種子感水性はビール醸造用品種では重要な品質関連形質として認識されてきたが、そのメカニズムや遺伝性について明解な情報はなかった。今回、解析に用いた DH 系統の親品種は感水性に関して大きな品種間差異を示さず、QTL 解析には必ずしも適切な材料ではなかったにもかかわらず、4 本の染色体上に有意な QTL が見出され、そのうちの 1 個は主働遺伝子と言っても良いほどの大きな作用価を示した。このように QTL 解析は遺伝的実体の不明確な形質を解析するうえでも有用な方法である。

次に、これらの QTL と密接に連鎖している分子マーカーを利用した間接選抜の有効性を

Table. 3. Comparison of water sensitivity (%) between subsets selected by markers linked with the QTL

Cross	Marker	Chromosome	H	L	H-L
S/M	ABC156A (a)	2H	39.1 (80)	32.0 (67)	7.1***
	BCD828 (b)	3H	39.7 (66)	32.5 (82)	7.2***
	ABG387B (c)	6H	40.0 (78)	31.4 (56)	8.6***
	a+b		43.5 (37)	29.4 (39)	14.1***
	b+c		45.4 (31)	28.2 (30)	17.2***
	a+c		44.7 (44)	30.0 (27)	14.7***
	a+b+c		53.7 (17)	27.2 (14)	26.5***
H/T	VAtp57A	7H	32.2 (59)	19.9 (80)	12.3***

***: Significant at the 0.1% level by T-test.

“H” indicates the subset which has high QTL for water sensitivity seeds, and “L” low QTL.

Numerals in the parentheses indicate number of lines selected.

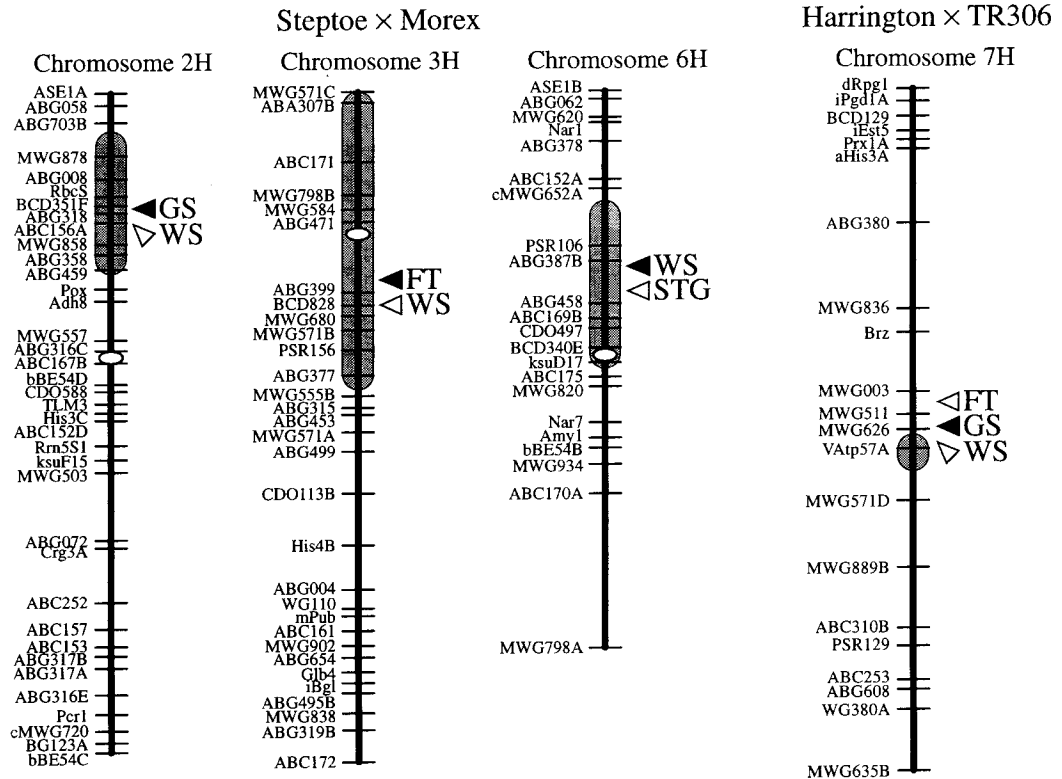


Fig. 3. Location of QTL affecting water sensitivity (WS), germination speed (GS), flooding tolerance at pre-germination (FT) and salt tolerance at germination (STG) from the cross of Steptoe × Morex (chromosomes 2H, 3H and 6H) and Harrington × TR306 (chromosome 7H). The shadowed regions indicate the confidence interval of QTL for water sensitivity.

◀: Allele from Steptoe or Harrington.

▶: Allele from Morex or TR306.

検討した。

S/M では 2H 染色体上の ABC156A, 3H 染色体上の BCD828 および 6H 染色体上の ABG387B をマーカーとしてそれぞれ単独, 2 個づつおよび 3 個のマーカーによって DH 系統を選抜し, その選抜効果 (H-L) を Table 3 に示す。それぞれの単独マーカーによって選抜した群間差 (選抜効果) は Table 1 に示される QTL の作用価 (weight) にほぼ近似しており, 2 個あるいは 3 個のマーカーによって選抜された群間差も Table 1 に示される weight の積算値と近似していた。一方, H/T においても 7H 染色体上の VAtp57A をマーカーとして選抜した群間差は 12.3% と Table 1 に示される weight 12.9% に近似していた。

これらの DH 系統については発芽速度, 種子の耐水性 (25℃ で 4 日間種子を水浸けした後の発芽能力), 発芽時の耐塩性などの QTL 解析が行われている (武田 1997)。これらの QTL と今回解析された感水性の QTL の位置関係を見ると, S/M の 2H 染色体上の感水性の QTL の近傍には発芽速度の QTL が, 3H 染色体上の感水性の QTL の近傍には種子の耐水性の QTL が, 6H 染色体上の感水性の QTL の近傍には発芽時の耐塩性の QTL が存在し, H/T で見出された感水性の QTL の近傍には発芽速度と種子の耐水性の QTL が存在することがわかった (Fig. 3)。特に発芽速度と種子の感水性の間には S/M では $r = -0.256$, H/T では $r = -0.304$ といずれも 1% 水準で有意な負の相関 (発芽速度の早い系統は感水性が低い) が認められ, 感水性のメカニズムの一端が示された。

武田・福山 (1983) は皮裸性の同質遺伝子系統の感水性を比較して, 皮性系統は同一の遺伝的背景を持つ裸性系統よりも明らかに感水性が高いことを見出し, カワムギの持つ穀皮およびノリ物質が過湿条件下でガス交換を妨げ, 感水性を高めるものと推定した。感水性のメカニズムはまだ解明されていないが, 感水性の QTL の極く近傍に発芽速度などの発芽に関連する QTL が存在することは感水性のメカニズムを考えるうえで興味深い。

摘 要

Stephoe × Morex (S/M) および Harrington × TR306 (H/T) の倍加半数体 (DH) 系統を用いて種子の感水性の QTL 解析を行った。DH 系統は連続的な超越分離を示し, S/M では 3 個, H/T では 1 個の有意な QTL が見出され, それぞれ感水性の変異の約 1/4 が説明された。これらの QTL の近傍には発芽速度などの発芽に関連する他の QTL が見出された。

キーワード: オオムギ, 種子の感水性, QTL 解析

引 用 文 献

- Chen, F. Q. and Hayes P. M. 1989. A comparison of *Hordeum bulbosum* mediated haploid production efficiency in barley using in vitro floret and tiller culture. Theor. Appl. Genet. 77: 701-704.
- Lander, E. S. and Botstein, D. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics. 121: 185-199.
- 増田澄夫. 1974. 製麦適性の判定. (松尾孝嶺監修) 育種学ハンドブック. pp 557. 養賢堂, 東京.
- 農業研究センター. 1986. 醸造用大麦調査基準 第 1 版. pp 53. 農林水産省農業研究センター, 茨城.

オオムギ種子感水性の QTL マッピング

- 武田和義. 1997. 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. 1-61.
- 武田和義・福山利範. 1983. オオムギ種子の感水性に関する研究. I. アジアにおける品種間差異と地理的分布. 育種学雑誌33(別1): 226-227.