

オオムギの芒におけるフェノール着色反応の遺伝性

武田和義・張 成林・金谷良市*

Inheritance of Phenol Reaction in the Awn of Barley

Kazuyoshi TAKEDA, Chan Lin ZHANG and Ryoichi KANATANI

The inheritance and geographical distribution of the phenol reaction in rice has been investigated intensively. On the other hand, in the case of barley, almost all of the varieties show positive reaction to phenol, and inheritance study of the trait has not yet been reported.

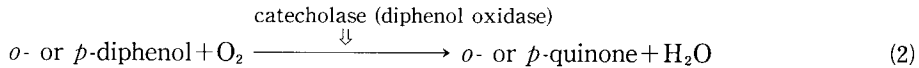
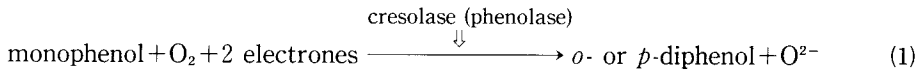
We investigated the phenol reaction of ca. 5,000 barley varieties preserved at the Barley Germplasm Center of Okayama University to find about 30 varieties which show a negative reaction to the phenol. These varieties are mainly from Southwest Asia. The reaction of awn was sharpest at all parts of the plant including seeds. The positive reaction must be the prototype of barley, because *Hordeum spontaneum*, a possible ancestor of the cultivated barley, shows positive reaction.

Inheritance and linkage studies were conducted using varieties with negative reaction and linkage testers with positive reaction. Phenol reaction was dominant and showed a clear 3:1 segregation ratio in the F₂ populations, indicating the trait was controlled by a single dominant gene *Ph* (phenol reaction). Linkage study revealed that *Ph* was linked with four marker genes (three loci) on the chromosome 2 and independent of 13 other marker genes located on the chromosomes except chromosome 2. *Ph* may be a useful marker gene and an interesting material for molecular-biological studies.

Key words : Barley, Phenol reaction, Linkage analysis

緒 言

植物にはフェノールを酸化する酵素が存在し、下記のような2段階の反応を経てフェノールが酸化されることが知られている (Harborne 1964).



一方、植物によっては種内にこのフェノール酸化酵素を欠く変異体が存在する。例えばイネでは玄米のフェノール着色反応の有無がインド型と日本型の判別形質として利用されており (岡1953, 栗山・工藤1967), その遺伝性も解析されていて、稔実した粒の粃殻が黒くなる黒色穎 (ripening black) を支配する三つの補足遺伝子 *Rb-1*, *Rb-2* および *Rb-3* のうちのひとつ *Rb-3* が同時にフェノール着色反応遺伝子 *Ph* であることが明らかにされている (栗山・工藤1967, Maekawa 1984). すなわち、イネにおいてフェノール着色反応遺伝子はフェノールを酸化すると共に粃殻に着色する色素の生成にも関与している。

一方、コムギやオオムギにおいても穀粒のフェノール着色反応の程度に品種間差異があり、これが品種鑑別の標識形質として利用されてきた (高杉1937, 近藤・高橋1938). しかし、その遺伝性については十分に解析されていない。著者らは数年にわたってオオムギのフェノール着色反応について研究してきた。その結果、植物体の各部分のうち、芒においてフェノール着色反応が最も明瞭で判定が容易であり、オオムギの近縁野生種 *Hordeum spontaneum* では芒がフェノールによって着色するので、着色型が祖先型であるとみられること、調査した栽培オオムギ約5,000品種のうち約30品種で芒のフェノール着色反応が認められず、これらのフェノール着色反応を欠く品種は西南アジアなどの限定された地域に分布し、従って比較的新しい突然変異か、適応性 (fitness) の低い突然変異と見られること、また、ふじ二条にガンマー線を3代にわたって合計90KR 累代照射した約16,000系統の中にはフェノール着色反応を欠く突然変異体は認められないことなどを明らかにしてきた (金谷ら1990).

本研究ではオオムギの芒におけるフェノール着色反応を欠く変異体を供試してその遺伝性を解析した。

材料および方法

岡山大学資源生物科学研究所大麦系統保存施設が保有するオオムギ品種のうち、芒がフェノールによって着色しない OUC663, OUI677 および OUI750 の3品種と連鎖分析用のテスター8系統 (OUL001, OUL004, OUL017, OUL053, OUL056, OUL085, OUL095 および OUL131) との間で合計18組合せの交雑を行い、各 F_2 集団約100~390個体の標識形質と芒のフェノール着色反応を調査してその遺伝性と連鎖関係を解析した。各テスターの持つ標識遺伝子を Table 1 に示す。

各標識形質をそれぞれの適期に判定し、一方、フェノール着色反応は成熟直後に個別別に採取して乾燥した穂を直径18mm, 長さ180mm の試験管に芒を下にして差し入れ pH6 に調

製した1%フェノール水溶液3~5mlを分注し、室温で2日間反応させた後、芒の着色を+(着色)と-(無着色)で判定した。

Table 1. Parents used for the inheritance study of phenol reaction

Acc. No.	Phenol reaction	Maker genes
OUC663	-	
OUI 677	-	<i>s</i>
OUI 750	-	
OUL001	+	<i>n, V'</i>
OUL004	+	<i>br, n</i>
OUL017	+	<i>V, li, e</i>
OUL053	+	<i>o</i>
OUL056	+	<i>K, gl-3, Bl</i>
OUL085	+	<i>mt, e, V, e, li</i>
OUL095	+	<i>V, B, trd, n</i>
OUL131	+	<i>als, uz, al</i>

- : negative + : positive

s : short-haired rachilla
n : naked caryopsis
V' : deficiens
br : brachytic plant
V : two-rowed
li : ligule-less
e : wide outer glume
o : orange lemma
K : hooded lemma
gl-3 : glossy seedling-3
Bl : blue aleurone
mt, e : mottled
B : black lemma and pericarp
trd : third outer glume
als : absent lower laterals
uz : uzu or semi-brachytic growth
al : albino lemma

結果および考察

芒のフェノール着色反応を欠く OUC663, OUI677 および OUI750 を共通親とする18組合せの F₂集団における芒のフェノール着色反応の分離を Table 2 に示す。

なお、これらの18組合せの F₁個体の芒はいずれもフェノールによって着色し、フェノール着色反応は優性形質であることが示された。

Table 2 に示されるように、F₂集団におけるフェノール着色反応は優性1遺伝子に支配される3:1の期待分離比に全体として良く一致し、期待値2,778:926と観察値2,779:925との偏差はわずか1個体にすぎなかった。個々の集団について検討すると、着色型が過少の2組合せ(交雑番号1および7)と着色型が過多の2組合せ(交雑番号3と11)があるために、不均一性のカイ二乗値は有意性を示したが、特定の親品種を交雑した場合に着色型が過少あるいは過多になっているのではないので、これらは抽出誤差と見て良いと思われる。

このように、オオムギの芒におけるフェノール着色反応は優性1遺伝子に支配されることが明らかにされたので、以後この遺伝子を *Ph* (phenol reaction) と呼ぶ。フェノール着色型と非着色型の品種の反応を Fig. 1 に示す。

Table 2 に示される F₂集団の一部については芒のフェノール着色反応だけでなく、穀皮と

Table 2. Segregation of phenol reaction in F₂ populations

Cross No.	♀ × ♂	Phenol reaction			$\chi^2(3:1)$	χ_h^2
		+	-	Total		
1	C663×L001	85	43	128	5.04*	
2	C663×L053	94	23	117	1.78	
3	C663×L056	120	24	144	5.33*	
4	C663×L085	92	24	116	1.15	
5	C663×L095	76	27	103	0.08	
6	C663×L131	121	44	165	0.24	
Total		588	185	773	0.47	13.15*
7	I677×L004	265	122	387	8.79**	
8	I677×L017	283	111	394	2.12	
9	I677×L053	171	57	228	0.00	
10	I677×L056	226	77	303	0.03	
11	I677×L095	297	77	374	3.88*	
12	I677×L131	293	98	391	0.00	
Total		1,535	542	2,077	1.33	13.49*
13	I750×L004	108	34	142	0.08	
14	I750×L053	94	21	115	2.79	
15	I750×L056	114	37	151	0.02	
16	I750×L085	123	34	157	0.94	
17	I750×L095	107	38	145	0.11	
18	I750×L131	110	34	144	0.15	
Total		656	198	854	1.50	2.59
Grand total		2,779	925	3,704	0.00	32.53*

χ_h^2 : χ^2 test for heterogeneity

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

果実（果皮）のフェノール着色反応を検定した。これらの材料については脱穀した粒を室温で24時間吸水させ、ピンセットでていねいに穀皮をはがした後に口紙を敷いたシャーレに置床し、pH6に調整した1%フェノール水溶液を3~5 ml分注して室温で2~3日反応させ、着色程度を判定した。

結果は Table 3 に示されるように、芒、穀皮および果実（果皮）の三つの部位が別々に着色するとして想定される++++, ++-, +-+, -+-, +--, -+-, --+および----の8タイプのうち5タイプが出現した。この結果には二つの解釈が可能である。その一つは三つの部位のそれぞれにフェノール着色反応を発現する遺伝子 (*Ph-1*, *Ph-2*, *Ph-3*) があると見る見方であり、この仮説に従うと、芒と穀皮の組合せでは++、+-、-+ならびに--が1,073 : 7 : 16 : 348に分離するので *Ph-1* と *Ph-2* は1.61±0.33%の組換え価を持ち、同様に芒と果実（果皮）の組合せでは1,069 : 11 : 16 : 348で *Ph-1* と *Ph-3* は1.89±0.36%、穀皮と果実（果皮）の組合せでは1,069 : 4 : 16 : 355で *Ph-2* と *Ph-3* は1.39±0.31%の組換え価を持つとみられる。すなわち、芒、穀皮ならびに果実（果皮）にそれぞれ別個のフェノール着色反応遺伝子が存在すると仮定すると、それらはいずれも優性で、かつ、相互に約2%以内の極

めて密接な連鎖ブロックを形成していることになる。ちなみに、イネでは籾殻と玄米のフェノール着色反応がそれぞれ別個の遺伝子に支配されているという報告がある (Takahashi and Hamza, 1983).

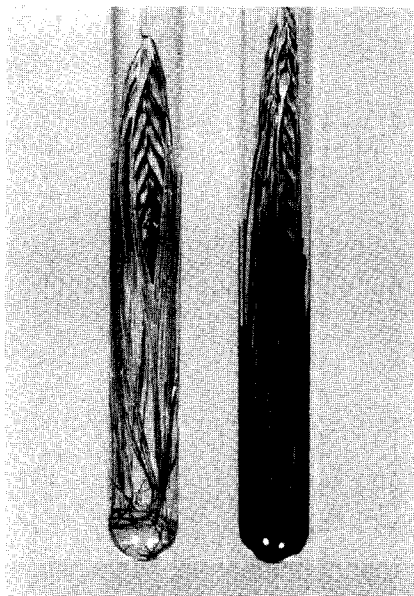


Fig. 1. Positive (right) and negative (left) phenol reaction in the awn of barley varieties.

Table 3. Phenol reaction of awn, hull and pericarp in F₂ populations

Crosses	Reaction of awn, hull and pericarp					Total
	+++	++-	-++	+--	---	
C663×L001	85				43	128
C663×L053	95				22	117
C663×L056	112	3	1	3	22	141
C663×L085	82				24	106
C663×L095	76		5		22	103
C663×L131	121		4		40	165
I677×L017	283		5		106	394
I750×L004	108				34	142
I750×L056	107	1	1	4	35	148
Total	1,069	4	16	7	348	1,444

+ : positive - : negative

Reaction of C663, I677 and I750 : ---

Reaction of other parents : +++

もう一つの解釈は、これらの三つの部位はいずれも同一のフェノール着色反応遺伝子 *Ph* に支配されており、+++と---以外のタイプは登熟程度や材料の採取時期、乾燥の良否な

オオムギのフェノール反応の遺伝

Table 4. Segregation and linkage relation of *Ph* with 17 marker genes in F₂ populations

Crosses	Marker genes(<i>M/m</i>)	Linkage group	F ₂ segregation					χ^2		
			<i>Ph-M</i>	<i>Ph-mm</i>	<i>phphM</i>	<i>phphmm</i>	Total	<i>Ph/ph(3:1)</i>	<i>M/m(3:1)</i>	Link.
C663×L001	<i>n</i>	1	72	13	30	13	128	5.04*	1.50	3.12
C663×L001	<i>V^t</i>	2	73	12	17	26	128	5.04*	1.50	42.01**
C663×L085	<i>mt,,e</i>	2	60	32	24	0	116	1.15	0.41	11.17**
C663×L085	<i>V</i>	2	77	15	12	12	116	1.15	0.18	10.36**
C663×L085	<i>li</i>	2	63	29	24	0	116	1.15	0.00	8.83**
C663×L085	<i>e</i>	2	68	24	20	4	116	1.15	0.05	0.75
C663×L095	<i>V</i>	2	60	16	10	17	103	0.08	2.72	19.66**
C663×L131	<i>als</i>	3	90	31	24	20	165	0.24	3.07	7.42**
C663×L131	<i>uz</i>	3	99	22	34	10	165	0.24	2.77	0.30
C663×L131	<i>al</i>	3	102	19	34	10	165	0.24	4.85*	0.73
C663×L056	<i>K</i>	4	95	25	19	5	144	5.33*	1.33	0.05
C663×L056	<i>gl-3</i>	4	85	35	19	5	144	5.33*	0.59	0.79
C663×L056	<i>Bl</i>	4	92	26	18	5	141	5.68*	0.68	0.02
C663×L095	<i>trd</i>	5	57	19	21	6	103	0.08	0.03	0.09
C663×L095	<i>B</i>	5	64	12	22	5	103	0.08	3.96*	0.05
C663×L053	<i>o</i>	6	77	17	18	5	117	1.78	2.40	0.27

I677×L004	<i>n</i>	1	200	65	94	28	387	8.79**	0.19	0.18
I677×L004	<i>br</i>	1	187	78	95	27	387	8.79**	0.94	2.27
I677×L095	<i>n</i>	1	226	71	59	18	374	3.88**	0.29	0.00
I677×L017	<i>V</i>	2	242	41	48	63	394	2.12	0.41	82.84**
I677×L017	<i>li</i>	2	197	86	106	5	394	2.12	0.76	31.46**
I677×L017	<i>e</i>	2	205	78	94	17	394	2.12	0.17	7.04**
I677×L095	<i>V</i>	2	244	53	34	43	374	3.88*	0.09	40.67**
I677×L131	<i>als</i>	3	224	69	74	24	391	0.00	0.31	0.03
I677×L131	<i>uz</i>	3	220	73	72	26	391	0.00	0.02	0.10
I677×L056	<i>K</i>	4	172	54	57	20	303	0.03	0.05	0.13
I677×L056	<i>Bl</i>	4	178	48	57	20	303	0.03	1.06	0.68
I677×L095	<i>B</i>	5	237	60	44	33	374	3.88*	0.00	14.64**
I677×L095	<i>trd</i>	5	211	86	61	16	374	3.88*	1.03	2.20
I677×L053	<i>o</i>	6	135	36	40	17	228	0.00	0.37	1.75
I677×L017	<i>s</i>	7	204	79	83	28	394	2.12	0.98	0.25
I677×L056	<i>s</i>	7	174	52	55	22	303	0.03	0.05	0.95

I750×L004	<i>br</i>	1	83	25	26	8	142	0.08	0.23	0.00
I750×L004	<i>n</i>	1	81	27	23	11	142	0.08	0.23	0.70
I750×L085	<i>mt,,e</i>	2	95	28	34	0	157	0.94	4.30	5.86*
I750×L085	<i>V</i>	2	108	15	19	15	157	0.94	2.91	14.07**
I750×L085	<i>li</i>	2	90	33	34	0	157	0.94	1.33	8.72**
I750×L085	<i>e</i>	2	86	37	30	4	157	0.94	0.10	4.42*
I750×L095	<i>V</i>	2	92	15	18	20	145	0.11	0.06	22.93**
I750×L131	<i>als</i>	3	85	25	29	5	144	0.15	1.33	0.79
I750×L131	<i>uz</i>	3	88	22	28	6	144	0.15	2.37	0.05
I750×L131	<i>al</i>	3	90	20	25	9	144	0.15	1.81	1.00
I750×L056	<i>K</i>	4	81	33	31	6	151	0.02	0.06	2.39
I750×L056	<i>gl-3</i>	4	87	27	27	10	151	0.02	0.02	0.17
I750×L056	<i>Bl</i>	4	79	32	29	8	148	0.00	0.32	0.77
I750×L095	<i>trd</i>	5	88	19	30	8	145	0.11	3.15	0.13
I750×L095	<i>B</i>	5	75	32	26	12	145	0.11	2.21	0.06
I750×L053	<i>o</i>	6	65	29	14	7	115	2.79	2.43	0.00

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

どによって、いずれかの部位の酵素活性が失われたか著しく低下したという見方である。この仮説によれば Table 3 に示される $++-$, $+--$ および $-++$ の 3 タイプ合計 27 個体は本来 $+++$ だったものがいずれかの部位でフェノール着色反応が失われたかあるいは著しく低下したものとみられ、供試材料の約 2% (27/1,444) がこのようなオフタイプだったということになる。これらの解釈のいずれが妥当であるかは現在解析を進めている。

次に、オオムギの 7 本の染色体に座乗する標識遺伝子と *Ph* との連鎖分析の結果を Table 4 に示す。

OUC633×OUL131 においては *Ph* と第 3 染色体に座乗する *als* (absent lower laterals, 穂基部側列欠落) との間の独立性が否定されたが、詳細にみると、この有意なカイ二乗値は無着色型における標識形質の分離の乱れによるものであり、着色型においては標識形質が 3 : 1 に分離していて *Ph* と *als* が連鎖しているのではないことが理解される。

OUI677×OUL095 では第 5 染色体に座乗する *B* (black lemma and pericarp, 黒粒) との間で独立性が否定されたが、これは二重優性型の過剰と無着色型における標識形質の分離の乱れに基づいている。

一方、第 2 染色体に所属する遺伝子群とは唯一の例外 (OUC633×OUL085 における *e*, wide outer glume, 幅広護穎) を除いていずれも独立性が否定され、*Ph* が第 2 染色体に座乗することが強く示唆された。そこで第 2 染色体に所属する遺伝子を持ち、供試個体数の多い OUI677×OUL017 について遺伝子相互の組換え価を算出し (Table 5), 遺伝子の相対的な位置関係を図示した (Fig. 2)。これによると *Ph* は *V* と *li* の間に位置し、*e* とは組換え価で 40% ほど離れており、このために前述の OUC633×OUL085 では *Ph* と *e* が独立と判断されたものと思われる。

Table 4 に示されるように、OUC633×OUL085 および OUI750×OUL085 では第 2 染色体

Table 5. Linkage analysis among *Ph* and three marker genes on chromosome 2 in OUI677×OUL017 F₂ population

Genes(A : B)	A-B-	A-bb	aaB-	aabb	Total	χ^2	RCV(%)
<i>Ph</i> : <i>e</i>	205	78	94	17	394	7.04**	39.5 ± 4.2
<i>Ph</i> : <i>li</i>	197	86	106	5	394	31.46**	21.8 ± 4.8
<i>Ph</i> : <i>V</i>	242	41	48	63	394	82.84**	24.7 ± 2.6
<i>li</i> : <i>V</i>	209	94	81	10	394	14.40**	32.3 ± 4.4
<i>li</i> : <i>e</i>	235	68	64	27	394	1.90	44.7 ± 3.5
<i>e</i> : <i>V</i>	200	99	90	5	394	29.24**	22.2 ± 4.7

** : Significant at the 1% level

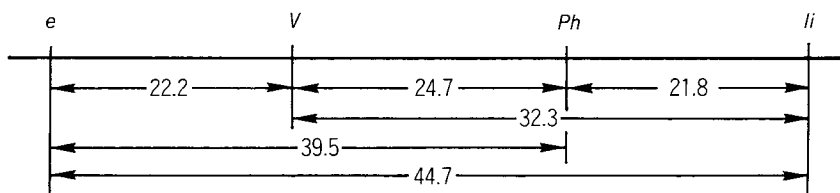


Fig. 2. Linkage relation of *Ph* on chromosome 2.

に所属することが明らかにされている *mt,e* (mottled, 汚れ葉) と *Ph* の間に密接な連鎖が示されたが、供試個体数が少ないために二重劣性型が分離せず、組換え価が算出できなかった。今後、供試個体数を増して *mt,e* と *Ph* の連鎖関係を確認する予定である。

一方、Doney and Woodward (1963) は葉耳にアントシアンを着色する *Pau* (purple auricle, 紫葉耳) が *V* 座と28-30%の組換え価で連鎖していることを報告している。*Pau* が *V* からみて *li* の方向にあるとすれば、*Pau* は *Ph* のかなり近傍にあることになるので、両者の関係を確認することが必要である。また、フェノール遺伝子を欠く品種が見出されたので今後両者を対比することによって *Ph* 遺伝子の生理・生化学的な作用の解明が進展することが期待される。

摘 要

オオムギの芒ではフェノールを酸化する酵素の活性が強いが、極めて少数の品種では芒のフェノール着色が見られない。本研究では芒のフェノール着色反応の遺伝性を解析した。結果は次の通り。

- 1) 芒のフェノール着色反応は優性遺伝子 *Ph* (phenol reaction) によって支配されている。
- 2) *Ph* は第2染色体に *e-V-Ph-li* の順で配列している。
- 3) 芒、穀皮および果実(果皮)の反応が一致しない場合があるが、これが実験誤差か、それぞれの組織で別個の遺伝子が作用していることによるのかは確認を要する。

キーワード：オオムギ，フェノール反応，連鎖分析

引 用 文 献

- Doney, D. L. and Woodward, R. W. 1963. Purple auricle inheritance and linkage in barley. *Crop Sci.* 3: 181-182.
- Harborne, J. B. 1964. *Biochemistry of phenolic compounds*. pp618. Academic Press. London.
- 金谷良市・松浦誠司・小山内英一・柴田雅人・武田和義. 1990. オオムギ品種のフェノール反応, その地理的分布と遺伝. *育種学雑誌* 40(別1): 252-253.
- 近藤萬太郎・高橋隆平. 1938. フェノール着色法によるコムギの品種鑑識(第1報). *農学研究* 30: 39-68.
- 栗山英雄・工藤政明. 1967. 稲の成熟顕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(1): 13-19.
- Maekawa, M. 1984. Geographical distribution of the genes for black hull coloration. *Rice Genet. Newsl.* 1: 104-106.
- 岡 彦一. 1953. 稲品種の各種形質の変異とその組合せ. 第1報. 栽培稲の系統発生的分化. *育種学雑誌* 3: 33-43.
- Takahashi, N. and Hamza, A. H. A. 1983. Differentiation of ecotypes in *Oryza sativa* L. I. Re-examination for color reaction with phenol. *Japn. J. Breed.* 33: 243-250.
- 高杉成道. 1937. 本邦大麦種子の石炭酸, 硫酸及び苛性加里溶液処理による呈色反応の品種間差異. *農業及び園芸* 12: 1101-1105.