

コムギの染色体欠失系統を用いた 5A 染色体長腕の 量的遺伝子座分析

秋山 雅世・三浦 秀穂・加藤 清明・沢田 壮兵

(受理：1998年11月30日)

Detecting QTL on the long arm of wheat chromosome 5A
using deletion stocks

Masayo AKIYAMA, Hideho MIURA, Kiyooki KATO and Souhei SAWADA

摘 要

コムギ染色体の短腕や長腕の一部が様々な大きさに欠失した染色体欠失系統は、詳細な物理的染色体地図の作成にとっても有効であるばかりでなく、一部の主働遺伝子のマッピングにも利用できる。生産性や適応性に関わる量的遺伝子座(QTL)の分析に染色体欠失系統が有効かを知るために、本実験では生産性や適応性に関わる QTL について情報のある 5A 染色体長腕を対象に、欠失系統を用いて圃場試験し、これまでの組換え系統を用いた QTL 分析の結果と比較、検討した。出穂日や草丈では組換え系統を用いた QTL 分析の結果と欠失系統の結果は、検出された QTL の数や染色体上での位置関係がよく対応しており、その有用性を指摘できた。しかし、5A 染色体のように受精能力に影響を及ぼす遺伝子をもつ染色体腕については、欠失系統はその遺伝子の欠落により種子稔性が著しく低下し、取量関連形質の解析は困難であることが分かった。欠失系統を用いた QTL 分析は、大きな集団を必要としないことや親間で多型を示すマーカーを必要としないなどの利点があるが、対象とする染色体や形質に制約のあることが推定された。

キーワード : 染色体欠失系統, 量的遺伝子座, RFLP, コムギ

緒 言

コムギ(*Triticum aestivum* L., $2n=6x=42$)は、AABBDD のゲノム構成を持つ異質 6 倍体作物で、この倍数性によって染色体の一部が欠失したり遺伝的に反復した同相部分がある程度失われても耐性を持つ。Dr. E. R. Sears によって品種 Chinese Spring

(CS)でモノソミック($2n=41$)、ナリソミック($2n=40$)、ナリソミック・テトラソミックおよびダイテロソミックといった異数体系統が育成され(Sears, 1954; Sears and Sears, 1978)、遺伝学的、育種学的研究に強力な手段として広範に活用されてきた。これら系統は多くの遺伝子や DNA マーカーを染色体に位置付ける研究では必須の材料である。

さらに、近年短腕あるいは長腕の一部が様々な大きさに欠失した新たなタイプの異数体系統が育成されている。それら系統はコムギの近縁野生種である *Aegilops* 属のもつ配偶子致死遺伝子 (*Gc*) の作用を利用している。コムギのゲノム背景に *Gc* 遺伝子もつ染色体を添加した系統とコムギの品種を交雑した後代で、配偶子致死作用が不完全な場合、致死にはいたらず高い頻度で染色体欠失や転座といった構造異常を引き起こし (Tsujimoto and Tsunewaki 1985; Endo 1990), 欠失染色体は後代に安定して伝達される (Werner et al., 1992)。染色体欠失系統は、詳細な物理的染色体地図の作成 (Kota et al., 1993; Gill et al., 1996) にとても有効であるばかりでなく、一部の主働遺伝子のマッピングにも利用できる (Endo and Mukai, 1988; Tsujimoto and Noda, 1990)。

コムギの生産性や適応性に関わる農業形質の多くは連続変異を示し、量的遺伝子座 (Quantitative Trait Loci, QTL) の支配を受ける。F₂ 集団や組換え自殖系統集団を用いる QTL 解析は、多数の DNA の制限酵素断片長多型 (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) マーカーが座乗した遺伝学的連鎖地図の構築が前提となるが、品種間の交雑による集団ではマーカーの多型頻度が低いことや集団サイズ、圃場試験の精度などに問題点を抱えている。欠失系統の農業形質を圃場試験で評価し、効率よく QTL 解析できれば、これらの問題点を軽減できよう。しかし、そうした試みは未だなされていない。

我々の研究室では、現在 5A 染色体の組換え系統を用いて遺伝学的連鎖地図を構築し、QTL 分析を進めている (Kato et al., 1998a, b)。それら地図と欠失系統の結果を統合することが出来れば、これまでの遺伝学的連鎖地図上のマーカーの粗な領域を埋め得るだけでなく、QTL についての有用な遺伝、育種学的情報が期待される。そこで、本実験では組換え自殖系統を用いた QTL 分析の結果と比較、検討するために、5A 染色体長腕の欠失系統を用いた圃場試験から QTL 分析を試みた。

材料と方法

遺伝材料

実験には Tsujimoto and Noda (1989) によって育成された 5A 染色体長腕の欠失系統のうちホモ接合な

8 系統と、CS の 5A 染色体短腕を欠失したダイテロソミック系統 (DT5AL) および対照品種の CS を用いた。これら系統の染色体欠失部位は、Ogihara et al. (1994) によって C-バンド分染法で細胞学的に明らかにされており、また RFLP マーカーによって特徴付けもされている。論文に記載された RFLP マーカーのうち特異的なものを抜粋し、各系統について欠失部位の相対的位置関係を図 1 の B に示した。また、同図 A の遺伝学的連鎖地図は、本研究室で CS (*T. spelta* 5A) × CS (Cappelle-Desprez 5A) の交雑による 120 組換え系統から作成したものである (Kato et al., 1998a)。図から明らかなように、8 欠失系統は春化反応遺伝子 *Vrn-A1* 座近傍から穂の形態を支配する Q 座間の約 50 cM にわたって異なる欠失部位をもっている。欠失系統 q23 は欠失領域が最も大きく、逆に q2 は最も小さい。8 系統は *Vrn-A1* 座近傍に欠失をもつ q23, q36, q14 の 3 系統と Q 座近傍の動原体側に欠失をもつ q19, q30, q3, q5, q2 の 5 系統に分けられるが、グループ内でもマーカー構成に違いがあり、

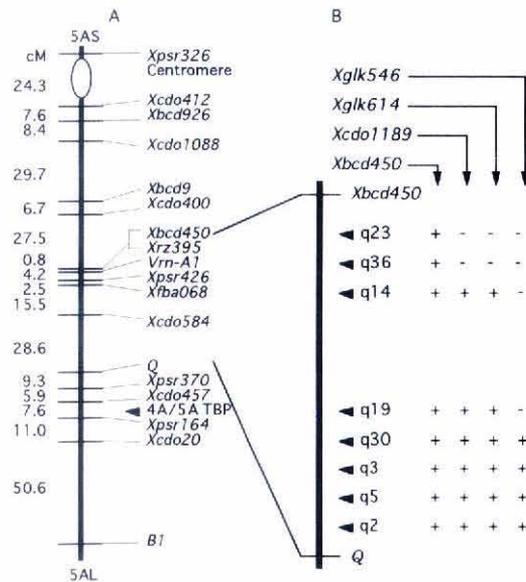


図 1. CS (*T. spelta* 5A/Cappelle-Desprez 5A) 組換え系統集団により構築された 5A 染色体の遺伝学的連鎖地図 (Kato et al., 1998a) (A) と、用いた欠失系統の欠失部位 (◀) および主な RFLP マーカーの有無 (Ogihara et al., 1994 から抜粋) (B)。 (+) は positive signal を示す。

q23とq36はq14のもつ2マーカー *Xcdo1189*, *Xglk614* を欠き, q19は他の4系統のもつ *Xglk546* を欠いている.

圃場試験

1997年4月28日に帯広畜産大学実験圃場に10系統を播種した. 試験区は5反復乱塊法で配置し, 30cm×10cmの栽植密度で各系統12個体を養成した. 肥培管理は本研究室の慣行法によった.

それぞれのプロットで出穂がそろった日を出穂日とし, 7月1日からの日数で表した. 8月26日から30日にかけて収穫した. 各プロットから主要な分けつ

を任意に5本抽出し, 草丈, 稈長, 穂長, 小穂数, 分けつ重, 1穂粒重, 50粒重を調査した. プロット全体の収穫から穂数/個体と個体収量を求めた. 各欠失系統のCSからの偏差をt検定で, また系統間変異を分散分析でF検定した.

結 果

調査した9形質について各系統の表現型を表1に示す. 系統間変異は小穂数を除くすべての形質で有意であった. そこで, 染色体欠失の効果のみをみるために分散分析の誤差分散から最小有意差を推定し, CS

表1 9形質における欠失系統の表現型およびCSとの比較

系 統	出穂日 (日)	草 丈 (cm)	稈 長 (cm)	穂 長 (cm)	穂数 / 個体	小穂数 / 穂	1穂粒重 (g)	50粒重 (g)	個体収量 (g)
q23	16.0*	91.4	82.1	9.3**	12.9	13.6	0.50***	0.92***	3.10***
q30	15.6*	91.9	82.2	9.8***	11.0*	14.3	0.65***	0.98***	3.63***
q14	12.2	92.0	81.9	10.1***	10.7*	13.8	0.70**	1.22**	3.86***
q19	11.8	78.5***	69.4***	9.1***	5.7***	13.1	0.52***	1.01***	1.71***
q30	13.2	85.0**	75.8**	8.8**	8.0***	14.8	0.66***	0.90***	3.40***
q3	10.2*	88.2**	77.6**	10.6***	6.7***	13.5	0.83***	1.19***	3.38***
q5	11.2	88.7*	78.1*	10.6***	7.9***	16.1	0.91***	1.09***	5.20***
q2	13.0	88.6**	78.4**	10.3***	7.3***	15.1	0.76***	1.06***	4.05***
DT5AL	11.8	85.6**	78.7*	6.9**	10.3**	13.4	1.42	1.58	8.56
CS	12.6	96.3	87.5	7.9	14.9	14.0	1.54	1.64	12.00

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

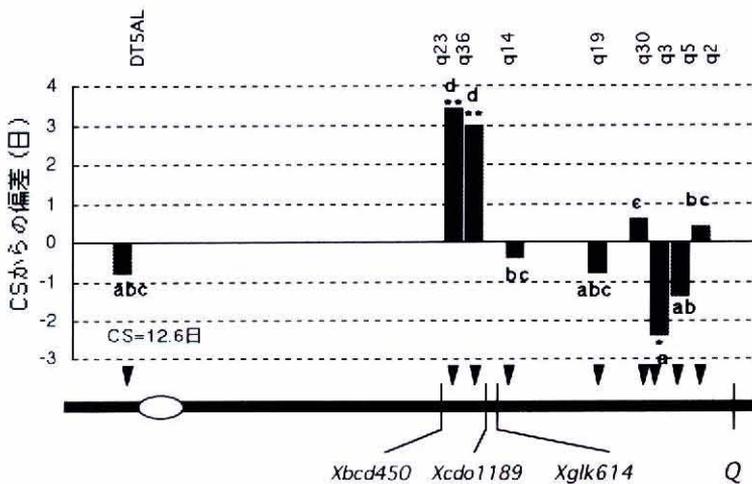


図2. 出穂日における各系統のCSからの偏差 (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001). 系統間変異は異文字間で有意 (p<0.05).

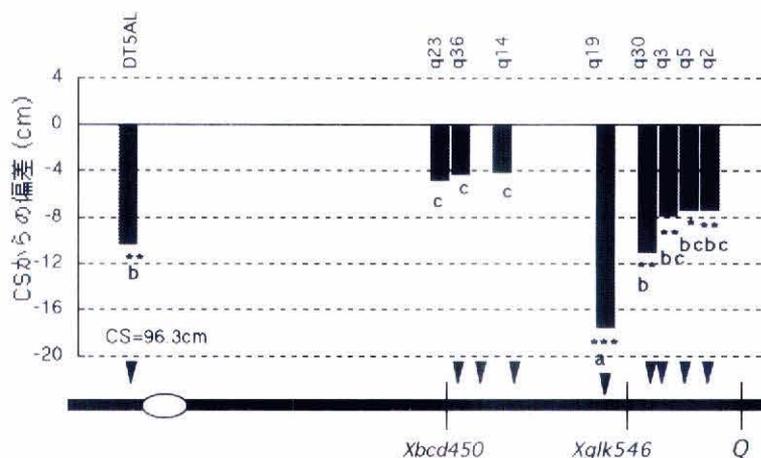


図3. 草丈における各系統のCSからの偏差 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). 系統間変異は異文字間で有意 ($p < 0.05$).

からの偏差を調べた。以下に形質別に結果を示す。

出穂日

CSの出穂日は7月12.6日であった。図2に示すように、*Vm-A1*近傍に切断点をもつq23とq36はCSや同じグループq14よりも3日以上遅く出穂した。q23とq36は、q14を含む他の欠失系統に共通の*Xcdo1189*と*Xglk614*を欠くことから、これらのマーカー近傍に出穂に関与するQTLが存在することが示唆された。一方、Q座側の欠失系統のうち、q3のみがCSよりも2.4日出穂が早まったが、マーカーとの対応関係は認められなかった。

草丈

図3にCSの草丈96.3cmに対する欠失系統の偏差を示す。欠失領域が小さなグループのq19, q30, q3, q5, q2はCSより8~18cm有意に草丈が減少し、一方欠失領域の大きなグループの3系統では約4cmの減少に止まった。この結果は欠失領域の大きさと草丈の減少程度が関係せず、草丈の変異は染色体切断による物理的影響を受けたものではことを示している。さらに、78.5cmと最も短秆だったq19は、グループ内の他の4系統からも有意に変異した。この系統は唯一*Xglk546*を欠失しており、草丈に効果をもつQTLがこのマーカー近傍にあると考えられた。またDT5ALでも10cmの有意な減少がみられ、短秆上にも草丈に関与するQTLの存在が示唆された。

稈長と穂長

5 A染色体長腕上には穂の形態を支配する遺伝子Qが座乗している。全ての欠失系統はQ座の動原体側から欠失しており、CSのもつQ遺伝子を欠いている。そのため、欠失系統はすべてspeltoid型の表現型を示し、square型のCSの7.9cmから有意に約1~3cm長くなった(表1)。この結果はほぼQ座の効果によるもので、他のマーカーとは運動していなかった。

稈長は草丈と同様に、欠失領域の大きな3系統の約4cmの減少に対し、Q座近傍の5系統は約9~18cmの大きな減少を示した(表1)。DT5ALもCSより約10cm有意に減少した。欠失系統では、穂長が約1~2cm長かったため、稈長の偏差は草丈に比べて拡大した。

個体収量とその関連形質

個体収量、分げつ重、1穂粒重、50粒重では、いずれの欠失系統もCSより有意に減少した(表1)。欠失領域と減少程度の間には明確な関連はなかった。一方短秆を欠くDT5ALでは有意な減少はみられなかった。穂数/個体は、Q座近傍での欠失系統が約7~9穂有意に減少し、*Vm-A1*近傍での欠失系統は、q23が2穂、q36およびq14の2系統は約4穂減少した。欠失領域が小さい系統ほど欠失領域が大きな系統よりも穂数の減少程度が大きく、草丈の結果と同じ傾向を示した。DT5ALでも約5穂の減少がみら

れた。

考 察

粒重や粒数といった受精能力に依存する収量形質は、欠失系統で著しい不稔が認められ、CSと比較して大きな減少を示した。5A染色体長腕上には花粉稔性に重大な影響を与える遺伝子が存在することが知られている(Sears and Sears 1978; Tsujimoto and Noda, 1989; Endo and Gill, 1996)。欠失系統では染色体の切断によって稔性遺伝子が欠落し、受精と種子形成に関わる形質は大きな影響を受けたものと考えられた。したがって、5A染色体のように生殖生長に影響を及ぼす遺伝子が座乗する染色体腕については、欠失系統による収量形質のQTL検出は困難といえる。

一方、出穂日や草丈では欠失系統を用いたQTL解析の有用性が示唆された。*Vm-A1*近傍から欠失しているq23とq36はCSよりも有意に出穂が遅れたが、これには2つの可能性が考えられた。第一に、CSの5A染色体のモノソミック系統やナリソミック系統では遺伝子量効果によって出穂が遅れることが知られていることから、q23とq36は*Xbcd150*と*Vm-A1*座の間に切断点をもつと仮定すれば、この2系統の結果を説明できる。事実、図1の我々の遺伝学的連鎖地図では*Vm-A1*座は*Xbcd150*よりも0.8cM末端側にマッピングされ、また別の集団でも*Vm-A1*座は*Xbcd150*の極く近傍にマッピングされている(Nelson et al., 1995)。第二の可能性は、q23とq36の2系統が*Xcdo1189*と*Xgk614*を欠くことから、このマーカー領域に出穂を促進するQTLが存在することである。さらに、q3はCSよりも早く出穂した。この系統に特異的なマーカーがないため明確にはできなかったが、この欠失領域近傍に出穂に関与するQTLの存在が示唆された。

したがって、本実験から少なくとも2つの出穂日QTLが*Vm-A1*と*Q*の間の50cM領域に存在する可能性を指摘できる。本研究室での120系統からなる5A染色体組換え自殖系統集団を用いた3ヶ年の圃場試験では、出穂日QTLが*Vm-A1*座に1つと*Q*座から6.1cMの近傍に1つ検出され(加藤ら, 1997)、本実験結果とよく一致する。

草丈については、*Xgk516*近傍に草丈を高くする

QTL(+)が、q14とq19の切断点の間に低くするQTL(-)の存在を指摘できた。この仮説によって*Q*座側のq19, q30, q3, q5, q2はQTL(+)を欠失したために大きく草丈が減少し、*Vm-A1*座のq23, q36, q14は両方のQTLを欠失したためにその効果が相殺されたと解釈出来る。Snape et al.(1985)とKato et al.(1998a)も用いた組換え系統集団は異なるが、*Q*座近傍と*Vm-A1*座近傍に草丈に関与する2つのQTLを報告しており、本実験でのQTLと同一の可能性はある。ただし、*Q*座近傍に見出されたQTLは、Kato et al.(1998a)の分析では、穂長を増加させる*q*遺伝子そのものの効果として現れ、稈長には影響を及ぼしていない。一方、本実験では稈長に対して負の効果を発現し、一致した結果とはならなかった。また、穂数/個体でも、*Q*座近傍の欠失領域が小さなグループの方が*Vm-A1*座近傍の欠失領域が大きなグループに比べて大きく減少し、草丈とよく似た結果になった。したがって、草丈、稈長および穂数/個体に多面的に関与するQTLは植物体のバイオマスに関与しているのかもしれない。

先に述べたように、本実験では染色体欠失系統のQTL解析への利用についてその有効性を検証することを目的とした。5A染色体のみの検討結果であったが、出穂日や草丈では組換え系統の結果と対比して検討することができた。欠失系統を用いた分析では、 F_2 や組換え系統を用いた分析に比べ、多数の個体からなる大きな集団を必要としないことや、親間で多型を示すマーカーを必要としない、といった大きな利点がある。その一方で、5A染色体のように受精能力に影響を及ぼす遺伝子をもつ染色体腕については収量関連形質の解析に制約のあることも分かった。また本研究では欠失系統の欠失部位を一カ所という前提に基づいて解析を進めたが、DNAマーカーでのハイブリダイゼーションの結果より*Ge*遺伝子の作用に感受性の高いDNA領域があり、複数の部位で欠失が起きている系統もある(Ogihara et al., 1994; Endo and Gill, 1996)。そのため、今後より多くのDNAマーカーで欠失系統の特徴付けを行うことで、より正確なQTLの解析が可能となろう。

謝 辞

欠失系統を分譲していただいた横浜市立大学木原

生物学研究所の辻本壽博士に心から感謝する。

引用文献

- Endo TR (1990) Gametocidal chromosomes and their induction of chromosome mutations in common wheat. *Jpn J Genet* **65**: 135–152
- Endo TR, Gill BS (1996) The deletion stocks of common wheat. *J Hered* **87**: 295–307
- Endo TR, Mukai Y (1988) Chromosome mapping of a speltoid suppression gene of *Triticum aestivum* L. based on partial deletions in the long arm of chromosome 5A. *Jpn J Genet* **63**: 501–505
- Gill KS, Gill BS, Endo TR, Boyko EV (1996) Identification of high-density mapping of gene-rich regions in chromosome group 5 of wheat. *Genetics* **143**: 1001–1012
- 加藤清明・三浦秀穂・沢田壮兵 (1997) 出穂日に関するコムギ 5A 染色体の遺伝子分析. 育種・作物学会北海道談話会会報 **38**: 74–75
- Kato K, Miura H, Sawada S (1998a) RFLP mapping of genes controlling ear emergence time and plant height on chromosome 5A of wheat. *Theor Appl Genet* (submitted to)
- Kato K, Miura H, Akiyama M, Kuroshima M, Sawada S (1998b) RFLP mapping of the three major genes, *Vrn1*, *Q* and *Bl*, on the long arm of chromosome 5A of wheat. *Euphytica* (**101**: 91–95 press)
- Kota RS, Gill KS, Gill BS, Endo TR (1993) A cytogenetically based physical map of chromosome 1B in common wheat. *Genome* **36**: 548–554
- Nelson JC, Sorrells ME, Deynze AEV, Lu YH, Atkinson M, Bernard M, Leroy P, Faris JD, Anderson JA (1995) Molecular mapping of wheat: major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7. *Genetics* **141**: 721–731
- Ogihara Y, Hasegawa K, Tsujimoto H (1994) High-resolution cytological mapping of the long arm of chromosome 5A in common wheat using a series of deletion lines induced by gametocidal (*Gc*) genes of *Aegilops speltoides*. *Mol Gen Genet* **244**: 253–259
- Sears ER (1954) The aneuploids of common wheat. *Bull Mo Agric Exp Sta* **572**: 1–59
- Sears ER, Sears LMS (1978) The telocentric chromosomes of common wheat. *Proc 5th Int Wheat Genet Symp, New Delhi, India* pp 389–407
- Snape JW, Law CN, Parker BB, Worland AJ (1985) Genetical analysis of chromosome 5A of wheat and its influence on important agronomic characters. *Theor Appl Genet* **71**: 518–526
- Tsujimoto H, Noda K (1989) Structure of chromosome 5A of wheat speltoid mutants induced by the gametocidal genes of *Aegilops speltoides*. *Genome* **32**: 1085–1090
- Tsujimoto H, Noda K (1990) Deletion mapping by gametocidal genes in common wheat: position of speltoid suppression (*Q*) and β -amylase (*β -Amy-A2*) genes on chromosome 5A. *Genome* **33**: 850–853
- Tsujimoto H, Tsunewaki K (1985) Hybrid dysgenesis in common wheat caused by gametocidal genes. *Jpn J Genet* **60**: 565–578
- Werner JE, Endo TR, Gill BS (1992) Toward a cyto-genetically based physical map of the wheat genome. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**: 11307–11311

Abstract

Gametocidal (*Gc*) genes in *Aegilops* species are known to cause gamete abortion and chromosome breakage when they are introduced into the wheat (*Triticum aestivum*) genetic background. Many series of chromosome deletion stocks were produced by the action of *Gc* genes in wheat that have been used effectively for constructing cytogenetically based physical maps with RFLP markers and mapping certain major genes. To know whether the deletion stocks are profitable

for analysis of quantitative trait loci (QTL) affecting important agronomic traits, we conducted a field experiment using deletion stocks for the long arm of chromosome 5A. For ear emergence time and plant height, estimated QTL from the experiment had a good correspondence to those from QTL analysis of the recombinant lines. On the other hand, for plant yield and its related traits, most of the deletion stocks showed very low performance compared to the euploid control. This is probably due to lack of critical genes for male fertility on the long arm.

Key words: Chromosome deletion stock, QTL, RFLP, Wheat