

令和元年5月30日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07556

研究課題名(和文) オオムギ白穎変異体を利用した穂の光合成量の遺伝生理学的解析

研究課題名(英文) Photosynthetic activity of spikes measured by albino lemma mutants in barley

研究代表者

武田 真 (Taketa, Shin)

岡山大学・資源植物科学研究所・教授

研究者番号：40216891

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：オオムギ白穎albino lemma 1 (alm1)変異体は穂の内外穎がアルビノ化する特異な表現型を示し、単一の劣性核遺伝子に支配されることが知られている。穎以外に、節、果皮および株基部も白化するが、葉身や芒は正常な緑色で正常に生育する。本研究では白穎遺伝子の遺伝マッピングと自然および誘発alm1変異体の遺伝子解析を行い、白穎変異体の原因遺伝子を解明した。さらに、alm1変異体と正常型で、穂および葉身の光合成量および収量関連形質を調査し、穂での光合成が粒重に10-20%程度貢献することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オオムギは世界で4番目に重要なイネ科作物である。オオムギの安定・良質生産のために、穂での光合成の収量への貢献程度を、穂が特異的に白くなる白穎突然変異体を利用して調査した。白穎変異体を正常緑穂系統と比較すると、穂の光合成量が約30%低下し、粒重も約10-20%低下した。このことから、今後のオオムギ品種改良では穂での光合成活性の高い系統の選抜が重要になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The albino lemma (alm1) mutant in barley is characterized by chlorophyll-less hulls except for small green areas at the tips. By means of positional cloning and candidate gene sequencing, we revealed the causal gene of ALM1. Photosynthesis measurements using an isogenic pair of wild type and alm1 mutant revealed that leaf photosynthesis did not differ, but that spike photosynthesis was reduced 34% in alm1 mutant. Grain weight of alm1 mutant was reduced 10-21% compared to wild type. These results suggest significant contribution of hull photosynthesis to grain filling in barley.

研究分野：植物遺伝育種学

キーワード：光合成 オオムギ 遺伝子 穂

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

オオムギには穂の種子を包む器官である外穎と内穎の葉緑素が欠損する白色穎変異体が知られている。類似の表現型を示す変異体は他の作物には無い。この変異体はオオムギの穂表面での光合成が種子形成に貢献する程度を解明するための有用な材料と考えられる。研究開始当初は、白色穎形質は劣性 1 因子の核遺伝子支配であることは知られていたが、その原因遺伝子の分子実態は不明であった。オオムギのゲノム配列の解読は途上であったため、独自に分子マーカーを開発し、マップベースクローニングによる原因遺伝子の特定に取り組んだ。さらに、原品種と白穎変異体の同質遺伝子対を用い、穂での光合成が葉緑体の有無でどの程度異なるかを測定し、穂の光合成が収量形成に貢献する程度を解明することを試みた。

#### 2. 研究の目的

オオムギ白穎 *albino lemma 1* (*alm1*) 変異体は穂の内外穎がアルビノ化する特異な表現型を示し、単一の劣性核遺伝子に支配されることが知られている。穎以外に、節、果皮および株基部も白化するが、葉身や芒は正常な緑色で正常に生育する。この白穎変異体の原因遺伝子はまだ単離されていない。本研究では白穎遺伝子の遺伝マッピングと *alm1* 変異体の遺伝子解析を行い、原因遺伝子の単離を試みた。さらに、*alm1* 変異体の特性解析として、穂および葉身の光合成量および収量関連形質を調査した。

#### 3. 研究の方法

オオムギ白穎遺伝子保有系統 KL15 と緑色穎系統 KL17 の交雑 F<sub>2</sub> 集団 157 個体で既報のマーカーを用いて *alm1* 遺伝子のマッピングを行った。イネとのマイクロシンテニーを利用して *alm1* 候補領域内に新規マーカーを開発し、原因遺伝子の絞り込みを進めた。オオムギ *alm1* 変異体のコレクションを用い、原品種と *alm1* 変異体の間で、候補遺伝子のシーケンスを比較した。また、候補遺伝子の葉身、内・外穎および芒における遺伝子発現を比較した。

光合成ならびに農業特性の調査には、ミサトゴールドンおよび *alm1* ミサトゴールドンの同質遺伝子系統対を用いた。幼苗葉身の光合成測定には携帯型光合成測定装置を使用した。また、出穂期における穂(芒を除く)の光合成を調査した。鉢植え栽培した材料を用い、農業特性を調査した。

#### 4. 研究成果

遺伝マッピングにより、*alm1* 遺伝子は 3.2 cM の範囲にマップされ、基部側マーカーから 1.0 cM、末端側マーカーから 2.2 cM に位置した。*alm1* と共分離するマーカーが 2 個みつかった。

マーカー M1 と M2 が *alm1* 遺伝子と共分離を示した。これら 2 遺伝子について両親間でダイレクトシーケンスを行い、推定アミノ酸配列の変化を調査した結果、M2 が *alm1* 遺伝子の有力な候補とみられた。さらに、この候補遺伝子の塩基配列を 11 系統の *alm1* 変異体とその原品種間で比較した結果、すべての変異体において非同義置換が確認された。以上のことから、*alm1* 遺伝子の分子実体が明らかになった。

幼苗の葉身の光合成量は、原品種と *alm1* 変異体間で差異がなかった。穂でのクロロフィル蛍光測定では、白穎変異体の穂の白化部分は検出限界以下であった。出穂期における芒を含まない穂部分の光合成量では *alm1* 変異体が原品種に比べ約 30% 減少していた。また、*alm1* 変異体は原品種に比べ、千粒重が 10%~20% 小さかった。*alm1* 変異体における粒重の有意な減少は穂での光合成量が白穎化で低下したためとみられる。以上をまとめると、オオムギの穂での光合成は種子登熟に有意に貢献していることが実証された。今後、オオムギの良質・多収育種では、穂の光合成が重要な選抜指標になるとみられる。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

1. Milner, S.G., M. Jost, S. Taketa, E.R. Mazón, A. Himmelbach, M. Oppermann, S. Weise, H. Knüpfner, M. Basterrechea, P. König, D. Schüler, R. Sharma, R.K. Pasam, T. Rutten, G. Guo, D. Xu, J. Zhang, G. Herren, T. Müller, S.G. Krattinger, B. Keller, .Y. Jiang, M.Y. Gonzalez, Y. Zhao, A. Habekuß, S. Färber, F. Ordon, M. Lange, A. Börner, A. Graner, J.C. Reif, U. Scholz, M. Mascher, and N. Stein (2019): Genebank genomics highlights the diversity of a global barley collection Nature Genetics 51: 319-329. (査読有り)
2. Ube, N., Nishizaka, M., Ichiyanaagi, T., Ueno, K. Taketa, S. and Ishihara, A. (2017) Evolutionary changes in defensive specialized metabolism in the genus *Hordeum*. Phytochemistry 141: 1-10. PUBMED 28535420 (査読有り)
3. Kokubo, Y., Nishizaka, M., Ube, N., Yabuta, Y., Tebayashi, S., Ueno, K., Taketa, S. and Ishihara, A. (2017) Distribution of the tryptophan-pathway-derived defensive secondary metabolites gramine and benzoxazinones in Poaceae. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 81: 431-440. PMID: 27854190 (査読有り)
4. Jost, M.,\* Taketa, S.,\* (\*co-first authors), Mascher, M., Himmelbach, A., Yuo, T., Shahinnia, F., Rutten, T., Druka, A., Schmutzer, T., Steuernagel, B., Beier, S., Taudien, S.,

- Scholz, U., Morgante, M., Waugh, R. and Stein, N. (2016) A homolog of *Blade-On-Petiole 1* and 2 (*BOPI/2*) controls internode length and homeotic changes of the barley inflorescence. *Plant Physiology* **171**: 1113-1127 (2016) (査読有り)
5. Yoshikawa, T., S. Tanaka, Y. Matsumoto, N. Nobori, H. Ishii, K. Hibara, J. Itoh, T. Tanisaka, and S. Taketa (2016) Barley NARROW LEAFED DWARF1 encoding a WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 3 (WOX3) regulates the marginal development of lateral organs. *Breeding Science* 66: 416-424. (査読有り)

〔学会発表〕(計 14 件)

1. 武田 真・高橋秀和・持田恵一・石毛太一郎・矢嶋俊介 (2019) 醸造特性の異なるビール大麦 2 品種の未熟種子における転写産物の RNA-seq 解析. 東京農業大学 生物資源ゲノム解析拠点 研究報告会 2019 年 2 月 15 日
2. 武田 真(2018) イネとオオムギの形態の違い 日本育種学会 2018 年秋期ワークショップ イネとオオムギのポタニカルトーク(作物対話): 形態篇、岡山大学 2018 年 9 月 22 日
3. Matthias Jost, M., Milner, S., Taketa, S., Mascher, M. and Stein, N. (2018) *HvRaw1* – a major gene controlling trichome formation on barley awns. Second International Barley Mutant Workshop, Scotland UK, June 2018.
4. 宇部尚樹、上野琴巳、武田真、石原亨. オオムギ属植物 *Hordeum murinum* から単離されたムリナミド類の立体化学と抗菌活性 2017 年農芸化学会
5. 武田 真・大久保 和男. オオムギ 14 条自然突然変異体の遺伝解析. 日本育種学会, 名古屋, 3 月 29 日. 育種学研究 19(別 1) 103, 2017.
6. N. Ube, Y. Ishikawa, M. Nishizaka, K. Ueno, T. Tonooka, S. Taketa, and A. Ishihara. 2017 Evolutionary changes of defensive secondary metabolism in the genus *Hordeum*. Meeting of International Society of Chemical Ecology, August 2017 Kyoto.
7. 塔野岡卓司・武田 真 2017 大麦における機能性多糖  $\beta$ -グルカンの遺伝的制御技術の開発。農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業。研究紹介 2017 p.1-2.
8. S. Taketa, T. Tonooka, E. Himi, and T. Kato. Molecular Genetic Characterization of Key Genes for Utilization of Barley as Human Food and Animal Feed. The 12<sup>th</sup> International Barley Genetics Symposium. Minneapolis, USA, 29 June, 2016.
9. 武田 真. オオムギの機能性細胞壁多糖(1:3;1:4)- $\beta$ -D-グルカン. 日本応用糖質学会平成 28 年度大会(第 65 回)応用糖質科学シンポジウム 特別シンポジウム「機能性糖質の科学」福山、2016 年 9 月 15 日。
10. 武田 真. オオムギの突然変異体: 遺伝子単離の強い味方。第 8 回中国地域育種談話会・第 11 回ムギ類研究会共催。岡山大学資源植物科学研究所 2016 年 12 月 10 - 11 日 倉敷。
11. 服部桃子・高見常明・坂本 亘・武田 真. オオムギ白穎変異体の遺伝子解析と穂の光合成測定。第 8 回中国地域育種談話会。岡山大学資源植物科学研究所 2016 年 12 月 10 日 倉敷。
12. 武田 真, M. Jost, 湯尾 崇央, N. Stein. 鱗被が葯にホメオティック転換するオオムギ疎穂突然変異体 *lax-a* の分子遺伝学的解析. 日本育種学会 2016 年 9 月 24 日鳥取大学
13. 最相 大輔, 松島 良, 本庄 三恵, 八杉 公基, 永野 惇, 高萩 航太郎, 持田 恵一, 武田 真, 坂本 亘. 野生オオムギと栽培オオムギにおける胚乳細胞壁の厚さに関する解析. 日本育種学会 2016 年 9 月 25 日 鳥取大学.
14. 田中慎也, 吉川貴徳, 武田 真, 谷坂隆俊. オオムギ細葉変異体 *narrow leafed dwarf1* の解析. 近畿作物・育種研究会第 181 回例会, 2016 年 5 月 28 日, 滋賀県立大学.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 無し

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。