

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05604

研究課題名(和文) オオムギの高度耐雪性とフルクタン含有量及びフルクタン関連遺伝子多型の関係解明

研究課題名(英文) Relationships among wintering ability, fructan content, and allelic variation of fructan metabolic enzyme genes in Japanese barley cultivars

研究代表者

中田 克 (Nakata, Masaru)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・上級研究員

研究者番号：60649862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：国内オオムギ約100品種・系統の5つのフルクタン代謝酵素遺伝子には、それぞれ6から10の遺伝子型が存在しており、それらの遺伝子型の組み合わせによりフルクタン含量に差が見られた。フルクタン含量と耐雪性には高い相関があり、越冬前の茎葉のフルクタン含量が高いほど耐雪性に優れていた。特に耐雪性に優れる品種・系統群は特徴的な遺伝子型の6-SFT遺伝子を有しており、また、1-FEHの遺伝子型により耐雪性が高い・中程度・低い品種・系統群に分けられた。耐雪性が最も高い品種・系統群に特徴的な6-SFTの遺伝子型、および1-FEHの各遺伝子型を識別するdCAPSマーカーを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

積雪の多い我が国の寒冷地で栽培されるオオムギ品種は、長期積雪下でも生存できる高度な耐雪性を備えなければならない。しかし、近年は少雪傾向にあるため、品種育成過程における耐雪性の優劣による選抜効率が低下しており、また、温暖地品種等から有用形質を取り入れる過程で本来寒冷地品種が有していた高度耐雪性を失う可能性が高い。

本研究で開発したDNAマーカーを用いることにより、高度耐雪性を有する系統を効率的に選抜でき、極端な多雪年でも甚大な被害を受けにくいオオムギ品種の効率的な開発が可能になる。

研究成果の概要(英文)：The relationships among wintering ability, shoot fructan content, and the allelic variation of five fructan metabolic enzyme genes in 105 Japanese barley cultivars and breeding lines were analyzed. 6 to 10 genotypes were found in each of the five fructan metabolic enzyme genes in the tested barley cultivars and lines. A significant correlation was detected between fructan content and wintering ability, specifically, cultivars and lines with a higher fructan content prior to snow cover exhibited a superior wintering ability. The cultivars and lines with the highest wintering ability possessed a unique 6-SFT genotype. The cultivars and lines were classified into three groups with a high, medium, and low wintering ability based on the 1-FEH genotypes. We developed dCAPS markers that identify the 6-SFT and 1-FEH genotypes observed in the group with the highest wintering ability and in the groups with a high, medium, and low wintering ability, respectively.

研究分野：作物育種

キーワード：オオムギ フルクタン 越冬性 DNAマーカー 遺伝子型

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 積雪の多い我が国の寒冷地で古くから栽培されてきたオオムギ品種は、長期にわたる積雪下でも生存しうる高度な耐雪性を備えている。それは寒冷地向けオオムギの品種育成の過程で高度耐雪性を有する系統の選抜が十分になされていたためである。現在も寒冷地向けオオムギ品種の育成地では耐雪性を指標にした選抜を行っているが、近年の温暖化による少雪傾向のため、高度耐雪性系統の選抜効果が低下している。さらに、品質や耐病性などに関わる有用遺伝子を寒冷地品種に取り入れる目的で耐雪性が低い外国品種や温暖地向け品種等と交配した場合、有用形質に注目した選抜の過程で本来寒冷地品種が有していた高度耐雪性を失う可能性が高まる。

(2) コムギなどでは、根雪前に茎葉に蓄積する非構造性炭水化物 (NSC) の主要構成物であるフルクタンが多寡が、耐雪性の良否に関与することが知られている。フルクタンはスクロースにフルクトースが重合した糖類の総称である。オオムギではこれまでに葉身部の NSC 含有量と耐雪性の品種間差異に正の相関があることは報告されているが、フルクタンと耐雪性の関係は明確ではない。

(3) ムギ類のフルクタンは3種類の酵素 (1-SST、1-FFT、6-SFT) により合成され、2種類の酵素 (1-FEH、6-FEH) により分解される。これらの代謝酵素をコードする遺伝子はオオムギゲノムには各1遺伝子ずつ存在しており、1-SST、1-FFT、6-SFT はゲノム上でクラスター化している。

### 2. 研究の目的

高度耐雪性を備え、各種病害に抵抗性で高品質な寒冷地向けオオムギ品種の効率的な育成のために、耐雪性の優劣を容易に判定できる DNA マーカーを開発することを最終的な目的とする。そのために下記の3点について取り組む。

- (1) 国内の多様なオオムギ品種・系統を用いて、オオムギの耐雪性と茎葉におけるフルクタン含有量の関係を明らかにする。
- (2) 5つのフルクタン代謝酵素遺伝子の遺伝子型とフルクタン含有量の関係から、高度耐雪性の付与に関わる遺伝子型を特定し、その遺伝子型に特徴的な塩基配列多型を同定する。
- (3) 同定した塩基配列多型を判別する DNA マーカーを開発する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 耐雪性の品種間差異の解析

国内の遺伝的に多様なオオムギ (約100品種・系統) を材料として、融雪後の茎葉の枯死や春季の株の再生程度によって耐雪性を評価した。栽培は新潟県上越市高田地区 (標高10m、最大積雪量: 1.0-1.5m) で行った。

#### (2) フルクタン含有量の定量

フルクタンは低温馴化の過程で合成・蓄積されるため、十分に気温が低下した後の長期積雪前に茎葉をサンプリングし、葉身とそれ以外 (茎部) に分けて Megazyme 社「Fructan Assay Kit」を用いてフルクタン含有量を定量した。

#### (3) フルクタン合成酵素遺伝子群の塩基配列多型解析

5つのフルクタン関連酵素遺伝子のゲノム領域の一部の塩基配列を決定し、塩基置換や欠失・挿入のパターンから遺伝子型を決定した。

### 4. 研究成果

#### (1) 耐雪性と茎葉のフルクタン含有量の品種・系統間差

供試した約100品種・系統の2カ年の耐雪性調査の結果、寒冷地育成品種・系統は耐雪性が高く温暖地育成品種・系統は耐雪性が弱い傾向があった。

葉身と茎部の越冬前後のフルクタン含量の調査から、ほとんどの品種・系統において、葉身よりも茎部のフルクタン含量が高く、越冬前よりも越冬後のフルクタン含量が高かった。寒冷地育成品種・系統では越冬前のフルクタン含量が温暖地育成品種・系統よりも高い傾向があった。

#### (2) フルクタン代謝酵素遺伝子群の品種間多型解析

5つのフルクタン代謝酵素遺伝子の一部約800bpの領域の塩基配列を解析により、1-FEH、6-FEH、1-FFT、1-SST、6-SFT 遺伝子はそれぞれ5、9、10、9、10の遺伝子型に分類されることを明らかにした。1-FEH 遺伝子は5遺伝子の中で最も塩基配列多型が少なく、解析領域内のアミノ酸置換を伴う多型は1カ所のみであった。1-FEH 遺伝子は遺伝子型1, 3, 5に大きく分類され、それぞれ主に寒冷地育成六条オオムギ、二条オオムギ、渦性の関東育成六条オオムギ・はだか麦から構成された。

#### (3) 耐雪性とフルクタン含量および遺伝子型の関係

5つのフルクタン代謝酵素遺伝子の遺伝子型の組合せにより、供試品種・系統を1~39のグループに分類した。その中で、品種・系統数が3以上のグループについて、遺伝子型と耐雪性の平均値の関係を図1に示した。最も耐雪性が優れるのは寒冷地育成品種の中でも特に耐雪性に優れるミユキオオムギ、会津6号、東山皮1号を含むグループ7であった。また、同様に耐雪性に優れるグループ3のミノリムギ、グループ11の会津裸、会津裸3号は、6-FEHを除く4遺伝子の遺伝子型がグループ7と共通していた。これらの品種・系統には6-SFT遺伝子の遺伝子型9が特異的に見られ、他のグループの品種・系統にはこの遺伝子型は見られなかった。

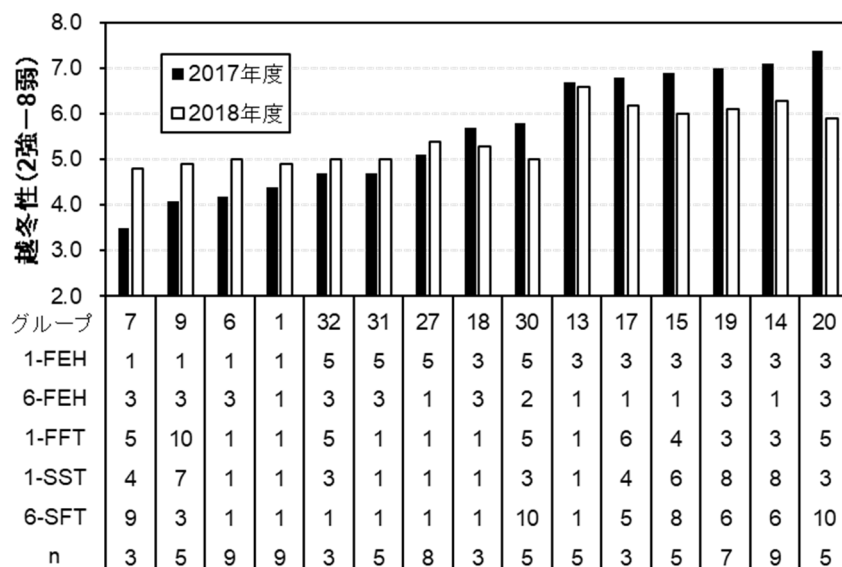


図1 フルクタン代謝酵素遺伝子の遺伝子型と耐雪性の関係  
3品種・系統以上を含む遺伝子型の組合せグループの越冬性の平均値。下部にグループ、各遺伝子の遺伝子型、品種・系統数(n)を示した。2017年度の耐雪性が優れるグループ順に左から並べた。

越冬前の茎葉のフルクタン含量と耐雪性の解析から、2カ年とも越冬前の茎葉のフルクタン含量と耐雪性に相関が見られ、特に茎部のフルクタン含量と耐雪性に高い相関が見られた(図2)。グループ7は2018年度においては最もフルクタン含有量が高かった(図2の矢印)。このことから越冬前の茎葉におけるフルクタン含有量がオオムギの耐雪性の品種間差異と相関があることが示された。

1-FEH遺伝子に注目すると、耐雪性が高いグループ群は遺伝子型1(図2の●・○)であり、主に寒冷地育成六条オオムギを含んでいた。耐雪性が中程度のグループ群は遺伝子型5(図2の▲・△)であり、主に関東育成六条オオムギ・はだか麦を含んでいた。耐雪性が低いグループ群は遺伝子型3(図2の●・○)であり、主に暖地・温暖地育成の二条オオムギを含んでいた。このことは1-FEHの遺伝子型がフルクタン含有量および耐雪性に影響していることを示唆している。

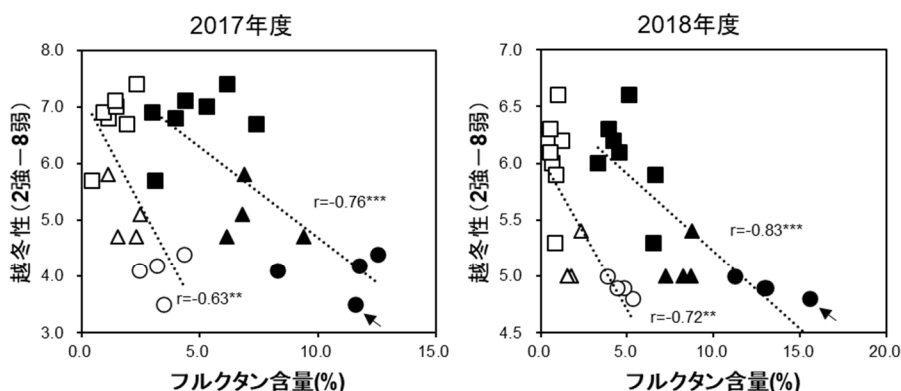


図2 越冬前の茎葉のフルクタン含量と耐雪性の関係  
図1に示した遺伝子型の組合せグループの越冬前の茎葉のフルクタン含量と耐雪性の関係を示した。  
●, ■, ▲は茎部, ○, □, △は葉のフルクタン含量。●・○は1-FEHが遺伝子型1, ■・□は遺伝子型3, ▲・△は遺伝子型5を表す。グループ7を矢印で示した。  
\*\*, \*\*\*はそれぞれ1%, 0.1%で有意であることを示す。

#### (4) DNA マーカーの開発

耐雪性が最も優れる品種・系統群のみがもつ 6-SFT 遺伝子の遺伝子型 9 は、塩基多型 (EnsemblPlants, chr7H: 2,258,738) により 201 番目のアミノ酸がイソロイシンとなる (他の遺伝子型ではトレオニン) ため、その塩基多型を判別する dCAPS マーカー (6-SFT\_8738) を設計した。6-SFT\_8738 マーカーでは遺伝子型 9 以外の遺伝子型の場合 SalI により PCR 産物が切断されるが、遺伝子型 9 であれば切断されない。

1-FEH 遺伝子については遺伝子型 1、3、5 を判別するために 2 カ所の塩基多型 (EnsemblPlants, chr6H: 20,287,902 および 20,287,981) にそれぞれ dCAPS マーカーを設計した (1-FEH\_7902 および 1-FEH\_7981)。1-FEH\_7902 マーカーでは遺伝子型 3 であれば PCR 産物が SacI により切断され、遺伝子型 1 および 5 では切断されない。1-FEH\_7981 マーカーでは遺伝子型 5 であれば PCR 産物が EcoRV により切断され、遺伝子型 1 および 3 では切断されない。

上記の dCAPS マーカーを用いて本研究に供試した品種・系統のタイピングを行い、6-SFT 遺伝子の遺伝子型 9、1-FEH 遺伝子の遺伝子型 1、3、5 が判別できることを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 中田 克, 池田 達哉, 一ノ瀬 靖則, 野方 洋一, 関 昌子, 青木 秀之, 加藤 常夫, 小前 幸三, 長嶺 敬	4. 巻 20
2. 論文標題 ADP-グルコーストランスポーター遺伝子の新規アレルの同定と複数の機能性成分を高含有するオオムギ品種育成への利用	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 育種学研究	6. 最初と最後の頁 124 ~ 132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbr.18J06	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 中田克, 関昌子, 青木秀之, 長嶺敬	4. 巻 23
2. 論文標題 国内オオムギ品種・系統の越冬性とフルクタン含量およびフルクタン代謝酵素遺伝子多型の関係	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 育種学研究	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1270/jsbbr.20J11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中田克, 関昌子, 青木秀之, 長嶺敬, 池田達哉, 野方洋一, 一ノ瀬靖則
2. 発表標題 複数の機能性成分を増加させるlys5変異のオオムギ育種への利用
3. 学会等名 第15回 ムギ類研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中田克, 関昌子, 青木秀之, 長嶺敬
2. 発表標題 オオムギのフルクタン代謝が耐雪性に与える影響
3. 学会等名 第61回 日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中田克, 関昌子, 青木秀之, 長嶺敬
2. 発表標題 オオムギのフルクタン関連酵素遺伝子群の品種間多型と耐雪性の関係
3. 学会等名 日本育種学会 第135回講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>農研機構成果情報「大麦の複数の機能性成分を増加させるADP-グルコーストランスポーター遺伝子」  <a href="http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/4th_laboratory/carc/2018/carc18_s07.html">http://www.naro.affrc.go.jp/project/results/4th_laboratory/carc/2018/carc18_s07.html</a></p>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	長嶺 敬  (Nagamine Takashi)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・グループ長  (82111)	
研究協力者	関 昌子  (Seki Masako)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・上級研究員  (82111)	
研究協力者	青木 秀之  (Aoki Hideyuki)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・中央農業研究センター・上級研究員  (82111)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	中村 和弘  (Nakamura Kazuhiro)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・グループ長  (82111)	
研究協力者	平 将人  (Taira Masato)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・上級研究員  (82111)	
研究協力者	谷中 美貴子  (Yanaka Mikiko)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・上級研究員  (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関