

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05889

研究課題名(和文)メタボロムQTL解析を用いたパンの膨らみにかかわるQTLの探索

研究課題名(英文)The metabolite QTL analysis of the bread loaf volume in wheat using doubled haploid population

研究代表者

寺沢 洋平(Terasawa, Yohei)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・北海道農業研究センター・主任研究員

研究者番号：10638373

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)：小麦粉中のベタインは100g中1%程度含まれており、品種によって含有量が異なる。本研究では、ベタインが多く含まれる「ゆめちから」と少ない「きたほなみ」のDH集団(194系統)を用いて3年間、栽培・収穫・製粉して小麦粉および全粒粉を作成し、高速液体クロマトグラフィーを用いて小麦粉および全粒粉に含まれるベタイン含有量の定量解析を行った。また、DH集団の連鎖地図を作成しQTL解析を行った。その結果、5Bと7Aの染色体に候補のQTLを同定することに成功した。また、製粉性と小麦粉中のベタイン含量が高い相関が見られることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

気候変動による小麦品質の不安定化は国産小麦の消費低下を招き自給率の低下に直接繋がってしまう。特に子実タンパク質含有率は気象変動に大きく左右され、品質の不安定化を招く最大の要因とされている。本研究で子実中のベタインがパンの膨らみに大きく関与することが明らかになったと同時に子実中のベタイン含有量を左右するQTLsを明らかにすることができた。この結果から、DNAマーカーでベタイン含有量で簡便に選抜できることにより、製粉・製パン試験をしなくてもパンが膨らむ系統の選抜可能になると考えている。また、子実タンパク質含有率のみでなく子実中のベタイン含有量でも小麦品質の安定化が図れる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Betaine is contained in about 1% in 100 g of wheat flour, and this compound content varies depending on the wheat varieties. In this study, wheat flour and whole grain flour were produced by cultivating, harvesting and milling for 3 years using the DH population (194 lines) of "Yumehikara", which contains a large amount of Betaine, and "Kitahonami", which contains a small amount of Betaine. We used high performance liquid chromatography to perform a quantitative analysis of the Betaine content in wheat flour and whole grains. At the same time, we created the linkage map of the DH population for QTL analysis. As a results of QTL analysis, we succeeded in identifying candidate QTLs on 5B and 7A chromosomes. In addition, it was also clarified that there is a high correlation between milling properties and Betaine content in wheat flour.

研究分野：小麦育種

キーワード：小麦 メタボローム 品質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

製パン業者などの実需者にとってパンの膨らみは非常に重要な要素であり、良く膨らむパン(比容積が大きくなるパン)になるための品種が求められている。栽培方法や製粉方法の違いによりパンの膨らみの良し悪しに影響があると考えられており、パンの比容積改善に向けて研究が行われてきている。また、子実タンパク含有率やグルテニン、グリアジンなどの子実タンパクの構成は、製パン適性改善や比容積への影響があると様々な研究結果が報告されてきたが、パンの膨らみに関しては完全には明らかにされていない。

研究代表者は、北海道においてパン用小麦の育種研究に従事しており、様々な材料を用いて子実タンパク含有率とパンの比容積に関し調べた結果、子実タンパク含有率が低く、比容積を大きくするタンパク構成を持たない系統でも、実際パンを焼いてみると比容積が大きくなる品種・系統が多数存在した。この事象は、現在までに報告されている研究成果では説明できない。

そこで、近年分析装置の性能向上により明らかにすることが可能となった代謝化合物に着目した。その理由として、研究代表者は、現在までに植物や食品のメタボローム解析を行ってきており、代謝化合物が食品の品質に大きな影響を与えている事を明らかにしてきた。そのため、パンの比容積を高める効果をもつ代謝化合物が存在するのではないかと考え、北海道で主に栽培されているパン用品種「ゆめちから」、うどん用小麦「きたほなみ」、パン用小麦粉として市販されているブランド「カメリヤ」、パン用品種「みのりのちから」、パン用品種「キタノカオリ」の小麦粉を用いてメタボローム解析をキャピラリー電気泳動質量分析装置(CE/TOF-MS)で行った。その結果、小麦粉中の214代謝化合物を同定し、定量に成功した。その中で、量的に多く含まれている代謝化合物に着目し、小麦粉に添加し製パン試験を実施した結果、元来小麦粉に多く含まれており、陽イオン性化合物の中で最も多く含まれているトリメチルグリシン(ベタイン)の添加により、パンの比容積が増加することを見いだした。研究代表者は、品種毎の小麦粉中のベタイン含有量に着目した結果、パン用小麦品種、パン用銘柄の「カメリヤ」の小麦粉100g当たりベタインが約0.6g以上含まれていたのに対し、うどん用小麦「きたほなみ」は約0.2gしか含まれていなかった。また、同一品種の年次が異なる粉を用いてメタボローム解析を行った結果、ベタイン含有量は年次間差より品種間差の方が大きい事が明らかとなった。パン用品種よりベタイン含有量が少ない「きたほなみ」の小麦粉100gに対しベタイン2.0gを添加し製パン試験を行ったところ、「カメリヤ」のパンより比容積が大きくなった。以上の結果から、品種によりベタイン含有量が大きく異なること、ベタインを多く含む品種の粉を用いてパンを焼いた方がパンの比容積が大きくなることを明らかにした。しかし、現在までの報告で小麦子実に含まれるベタイン含有量をコントロールする遺伝子の存在は明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究は、子実中のベタイン含有量をコントロールする量的形質遺伝子座(QTL)を同定することを目的に研究を進め、DNAマーカーを用いたパンの比容積に関する簡便な系統選抜手法の開発を目指す。効率的かつ簡便に選抜ができ省力的に品種開発が行えるメリットがある。

3. 研究の方法

材料「ゆめちから」×「きたほなみ」の倍加半数体(DH)集団(194系統+親2品種、2反復)を用いる。両親品種とも北海道で主に栽培されている品種であり、過去のQTL解析で多くの結果を残してきた組み合わせである。

【1年目】北海道農業研究センター芽室研究拠点圃場で栽培試験を行う。前年9月に播種、翌年7月に収穫する子実200gをブラベンダー製粉機(ブラベンダー社)により製粉を行い灰分比率が低い小麦粉(A粉)にすると同時に、収穫した子実2.5gをマルチピーズショッカー(安井精機)により粉碎し全粒粉にする。小麦粉、全粒粉から水溶性化合物を抽出、限外濾過で除タンパクを行った後、真空遠心機を用いて乾燥させ-80℃で冷蔵保存する。保存していたサンプルに200μlの蒸留水を加えた後、超高速液体クロマトグラフィー(UHPLC 島津製作所)-蒸発光散乱検出システム(ELSD-LT 島津製作所)を用いてベタインのピークを検出、分析データシステム(Labsolutions 島津製作所)を用いて定量解析を行いA粉、全粒粉中に含まれるベタイン含有量を明らかにする。

【2年目】1年目と同様に前年9月に播種、翌年7月に収穫した子実を1年目と同様に製粉し、小麦粉、全粒粉を作成する。その後前年と同様にUHPLC-ELSD、分析データシステムを用いて定量解析を行い小麦粉、全粒粉中に含まれるベタイン含有量を明らかにする。

【3年目】2年目と同様に前年9月に播種、翌年7月に収穫した子実を2年目と同様に製粉し、小麦粉、全粒粉を作成する。その後、前年と同様にUHPLC-ELSD、分析データシステムを用いて定量解析を行い小麦粉、全粒粉中に含まれるベタイン含有量を明らかにする。

本研究で用いた「ゆめちから」×「きたほなみ」集団の連鎖地図と3か年のベタイン含有量のデータを用いてQTL解析(QTL cartographer 2.5)を行い、ベタイン含有量をコントロールするQTLを同定する。

4. 研究成果

(1) 小麦粉中のベタイン定量解析

図1はHPLCで解析したA粉・図1は全粒粉に含まれるベタイン含有量の3か年分を平均化したヒストグラムで示した図になる。集団の親品種である「きたほなみ」はA粉および全粒粉においてベタイン含有量が少なく、「ゆめちから」はベタイン含有量が多いことが明らかとなった。

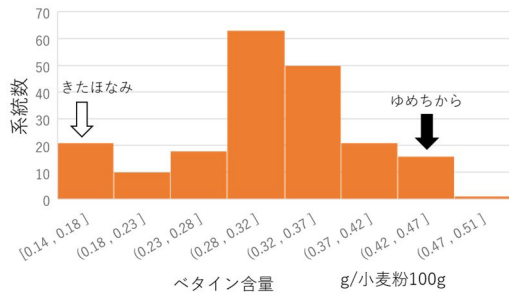


図1 A粉中のベタイン含有量

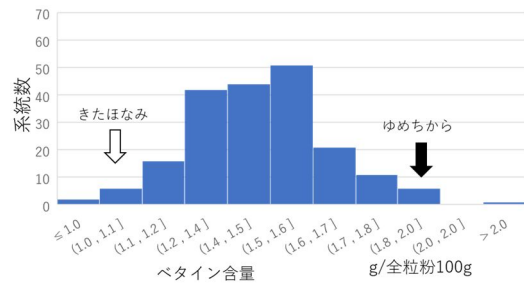


図1 全粒粉中のベタイン含有量

(2) A粉とベタイン含有量と関連性

A粉のベタイン含有量(3か年平均)と19の農業形質(3か年平均)・製粉特性(3か年平均)の相関係数を算出した結果を表1に示す。 $r > 0.2$ のベタインと正の相関がみられた形質は千粒重・子実硬度・製粉歩留まりの3形質であった。一方、 $r < -0.2$ のベタインと負の相関がみられた形質は子実タンパク質含有率・粒径・粉タンパク質含有率の3形質であった。

表1 A粉のベタイン含有量と農業形質の相関係数

農業形質	相関係数	R ²
稈長	-0.04	0.001
穂長	0.01	0.001
穂数	0.13	0.023
子実重	-0.05	0.003
製品収量	-0.10	0.009
容積重	0.15	0.023
千粒重	0.21	0.044
子実タンパク質含有率	-0.22	0.050
子実硬度	0.33	0.109
粒径	-0.21	0.046
子実窒素吸収率	0.17	0.029

表1 A粉のベタイン含有量と製粉特性の相関係数

製粉特性	相関係数	R ²
粉タンパク含有率	-0.22	0.050
粉水分含有率	0.09	0.008
加水量	-0.09	0.009
製粉歩留まり	0.23	0.054
RVA 最高粘度	-0.12	0.015
RVA ブレークダウン	0.07	0.004
RVA セットバック	0.16	0.024
SDSセディメンテーションテスト	0.18	0.032

(3) 全粒粉とベタイン含有量との関連性

全粒粉のベタイン含有量と(3か年平均)と製粉特性(3か年平均)の相関係数を算出した結果を表2に示す。 $r > 0.1$ のベタインと正の相関がみられた形質は、子実重・製品収量・千粒重・粒径・子実窒素吸収率・RVA セットバック・SDS セディメンテーションテストのPSMVの7形質であったが $r > 0.2$ を超える形質はなかった。また、 $r < -0.1$ のベタインと負の相関がみられた形質はなかった。

以上の結果から、製粉して得られるA粉のベタイン含有量は千粒重・子実硬度・タンパク含有率との相関が明らかになった。これらの形質は製粉歩留まりと大きく関係してくることから、A粉のベタイン含有量と製粉歩留まりの間に正の相関が見られたと考えられる。一方、全粒粉のベタイン含有量と農業形質および製粉特性はすべての形質において相関があるとは言えない結果となった。以上の結果から、製粉後の小麦粉中のベタイン含有量は製粉性と密接に関係してくることが明らかとなった。このことから、子実中のベタイン含有量に関する遺伝子を同定するには製粉性に影響を受けない全粒粉のベタイン含有量で解析する必要があることが分かった。

表2 全粒粉のベタイン含有量と農業形質の相関係数

農業形質	相関係数	R ²
稈長	-0.04	0.001
穂長	0.07	0.004
穂数	-0.10	0.023
子実重	0.13	0.014
製品収量	0.15	0.002
容積重	-0.08	0.006
千粒重	0.13	0.016
子実タンパク質含有率	-0.05	0.001
子実硬度	0.07	0.005
粒径	0.11	0.008
子実窒素吸収率	0.14	0.019

表2 全粒粉のベタイン含有量と製粉特性の相関係数

製粉特性	相関係数	R ²
粉タンパク含有率	-0.05	0.002
粉水分含有率	0.01	0.001
加水量	0.01	0.001
製粉歩留まり	0.08	0.006
RVA 最高粘度	-0.03	0.001
RVA ブレークダウン	0.01	0.001
RVA セットバック	0.16	0.003
SDSセディメンテーションテスト	0.12	0.014

(4) 全粒粉とベタイン含有量の QTL 解析

「ゆめちから」×「きたほなみ」DH 集団から 760DNA マーカー (SSR マーカー: 121 SNIPs マーカー: 589) を開発し連鎖地図を作成した。本研究ではこの連鎖地図を用いてベタイン含有量に関する QTL 解析を行った結果を表 3 に示す。すべての年次で確認された QTL は 5B および 7A QTL で確認できた。しかし、これらの以外にも効果が高い QTL が検出されたが、5B および 7A QTL 以外はすべての年次において確認できなかった。以上の結果から 5B および 7A QTL に子実中のベタイン含有量をコントロールする遺伝子が座している可能性が高いことが示唆された。本研究結果から 5B および 7A QTL 近傍 DNA マーカーを開発し、他の育成品種でこの DNA マーカーの有効性を確認する予定である。また、製粉性に関わる形質と小麦粉中のベタイン含有量との間で相関関係を見出された。そのため、様々な品種を用いて製粉性とベタイン含有量との関連性を明確化するつもりである。

表3 全粒粉中のベタイン含有量に関する QTL 解析の結果

year	Chromosome	Flanking markers of peak		LOD	Addictive effect	Donor of allele
		Left marker of peak	ght marker of peak			
1st year	1B	tarc0836	snp270	2.6	0.02	yumechikara
	2A	gwm312	GNI-A1	6.7	0.04	kitahonami
	2D	tarc1533	tarc0103	2.7	0.03	yumechikara
	5A	snp2802	wmc524	6.5	0.03	yumechilara
	5B	tarc2217	tarc2590	9.1	0.02	kitahonami
	7A	tarc0794	wmc9	4.2	0.02	yumechikara
2nd year	5B	snp2947	tarc2811	4.2	0.02	kitahonami
	7A	gwm635	gwm350	6.1	0.02	yumechikara
3rd year	2A	tarc0480	tarc1622	6.3	0.13	yumechikara
	2A, 4D	tarc2763	tarc2760	2.8	0.22	yumechikara
	2D	tarc0106	gpw0100	4.7	0.03	yumechikara
	3A	tarc2745	snp2870	2.6	0.02	kitahonami
	3B	tarc2112	snp4841	4.2	0.03	kitahonami
	4D	tarc2433	tarc0029	6.3	0.13	yumechikara
	5A	snp3530	tarc0669	2.5	0.01	kitahonami
	5B	snp2947	tarc2811	8.2	0.02	kitahonami
5D	tarc2850	tarc1478	5.9	0.04	yumechikara	
7A	tarc0794	wmc9	5.9	0.03	yumechikara	

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	八田 浩一 (Hatta Koichi) (80414811)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・作物研究部門・グループ長補佐 (82111)	
研究分担者	川口 謙二 (Kawaguchi Kenji) (40829561)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・北海道農業研究センター・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