

学 位 論 文 題 名

高デンプンダイズの探索・同定および
その育種的利用に関する研究

学位論文内容の要旨

ダイズ(*Glycine max* (L.) Merr.)はタンパク質含量が約 40%、脂質含量が約 20%と高い。この両成分を多く含み、根粒菌との共生により窒素の供給が安易であるため、安価で生産できることがダイズの特徴であり、他の作物には認められない。このため、ダイズは食用、油脂用、タンパク用、飼料用からバイオディーゼル、ダイズインクなどの工業利用まで用途が非常に広く、他の作物より生産量の伸びが高い。一方、韓国や日本を含む東南アジア諸国において、ダイズは昔から「畑の肉」と呼ばれ、豆腐、納豆、枝豆、煮豆、味噌などの伝統的な食品として利用されることで良質なタンパク質供給を担ってきた。このため、日本ではこれらの用途別に優れた適性を持つ品種改良が行われてきた。また、ダイズは栄養性および食品加工特性に優れた作物であり、加えて機能性成分の宝庫といわれるほどに種々の生理機能性成分を含む。一方、ダイズ種子の貯蔵成分の 1 つであるデンプンに関しては、開花後約 40 日ごろ最大 20%ほど蓄積されるが以後急激に減少することが知られている。また、完熟したダイズ種子には 1%程のデンプン含量が含まれることが知られている以外その知見は乏しく、高デンプン含量ダイズに関する育種はまったく行われていない。本研究は、我々の食生活と密接な関係にあるダイズの種子成分の中で、煮豆や味噌など発酵食品の加工適性や食味に変化をもたらす可能性があるデンプン含量に着目し、ダイズ種子のデンプン含量を高められる可能性について遺伝育種学的な点から論究した。

第 1 章では、ダイズの起源や成分育種のこれまでの研究経緯および最近の進展を概説し、ダイズにおけるデンプン含量の育種改良の重要性および可能性について論じた。

第 2 章では、ダイズ遺伝資源 6,002 品種・系統を対象として、デンプン・ヨード反応を用いてスクリーニングした。呈色程度で 1 から 4(無反応から濃紫)にスコアリングし、3 および 4 と判定した 34 品種・系統を選抜した。しかし、デンプン・ヨード反応だけでは正確なデンプン含量を把握することが難しいため、一般的なデンプン含量定量法であるグルコオキシダーゼ(GOD)法に比べ、より簡便かつ迅速なデンプン含量定量法であるジニトロサリシリック酸(DNS)法を開発した。24 サンプルのデンプン含量を定量する場合、DNS 法は約 70 分を必要とするが GOD 法では約 120 分所要されることが判明し、所要時間が約半分に短縮

されることが確認された。この DNS 法を用いて選抜した 34 品種・系統のデンプン含量を定量した。その結果、デンプン・ヨード反応で 3 および 4 と判定した 34 品種・系統のすべてが高デンプン含量を示すのではなく、15 品種・系統のみが 4.28~6.86 % と一般的なデンプン含量と知られている 1 % よりも高い値を示した。

第 3 章では、高デンプン含量形質の遺伝的構造と栽培地域による影響を理解するために、札幌市とつくば市で育成した田螺ダイズ×T-106 の RIL (F_6 世代) 集団 (以後、Pop. 1 および Pop. 2 と表記) を用いてデンプン含量に関する QTL 解析を行った。第 2 章で開発した DNS 法を用いて Pop. 1 および Pop. 2 両集団のデンプン含量を定量した結果、Pop. 1 のデンプン含量は 1.11-5.32 % の範囲で平均値が 1.95 % であり、Pop. 2 は 1.04-1.93 % の範囲で平均値は 1.47 % であった。また、P2 である T-106 は札幌市およびつくば市と異なる地域で育成されたにも関わらず約 1 % と一定なデンプン含量を示したのに対して、P1 である田螺ダイズは札幌市の方がつくば市に比べて約 2 倍以上高い値を示した。この結果からツルマメである T-106 のデンプン含量は栽培環境の影響を受けにくく安定だが、田螺ダイズは T-106 に比べ栽培環境に敏感であることが示唆された。田螺ダイズのように栽培環境に敏感な品種・系統は他にも 3 品種が確認され、早生ダイズの 3 品種も高デンプン含量を示すことが明らかになった。高デンプンダイズを育種の目的とする場合、上述した早生の品種・系統を利用することで栽培地域の選択幅が拡大する可能性が考えられる。また、早生でも晩生でも高デンプン含量を示す品種・系統が認められた結果は、高デンプン含量形質に関わる要因が異なることを示唆している。これらの別種の要因に関する知見を積み重ねることで、デンプンの蓄積を支配する要因の主な役割を確認できると考えられる。

MQM 法を用いて QTL 解析した結果、Pop. 1 では 3 つの QTL を、Pop. 2 では 5 つの QTL を同定することができた。Pop. 2 で同定した QTLs はいずれも効果が小さかったが、Pop. 1 では寄与率が 39.2 % と非常に効果の大きい QTL を同定することができた。両集団で共通に検出された QTL は Chromosome7 (LG M) に座乗しており、開花期に関する QTL 解析の結果の一部と一致する部分でもあった。デンプン含量と開花期の両形質で同じ Chromosome7 (LG M) に同定した QTL の寄与率は非常に低い、QTL の位置が比較的近いことから、デンプン含量と開花期との間で何らかの関連性がある可能性が示唆された。Pop. 1 のタンパク質含量 23.90-49.28 % の範囲で平均値は 39.70 %、脂質含量は 5.46-19.99 % の範囲で平均値は 12.70 % であり、Pop. 2 のタンパク質含量は 24.49-52.32 % の範囲で平均値は 37.98 %、脂質含量は 8.28-23.95 % の範囲で平均値は 15.07 % であった。デンプン含量とタンパク質含量では相関関係が認められなかったが、脂質含量とでは弱い正の相関関係が認められた。加えて、デンプン含量における登熟期の温度の影響を調べるため、高デンプンダイズ品種である田螺ダイズと対照個体のいちひめを人工気象室にて高温区 (28℃) および低温区 (22℃) で育成した。デンプン含量定量の結果、両品種共に低温区が高温区に比べ約 1.7 倍高いことが確認された。この結果は、デンプン含量は開花後の温度による影響を受け、ダイズの栽培に適

切な温度よりも若干低い温度で増加することを示唆している。

第 4 章では、本研究の成果から示されたダイズの高デンプン化育種の可能性を総合的に考察し、今後の研究の進展について見解を述べた。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	喜多村 啓 介
副 査	教 授	三 上 哲 夫
副 査	准教授	阿 部 純
副 査	助 教	山 田 哲 也

学 位 論 文 題 名

高デンプンダイズの探索・同定および その育種的利用に関する研究

本論文は 4 章 84 頁からなる和文論文であり、図 6、表 8 を含む。

韓国や日本を含む東南アジア諸国において、ダイズは昔から「畑の肉」と呼ばれ、豆腐、納豆、枝豆、煮豆、味噌などの伝統的な食品として利用されることで良質なタンパク質供給を担ってきた。本研究は、我々の食生活と密接な関係にあるダイズの種子成分の中で、煮豆や味噌など発酵食品の加工適性や食味に変化をもたらす可能性があるデンプン含量に着目し、ダイズ種子のデンプン含量を高められる可能性について遺伝育種学的な点から論究した。

1. 簡便かつ迅速なデンプン含量定量法の確立および高デンプンダイズの探索・同定

ダイズ遺伝資源 6,002 品種・系統を対象にデンプン・ヨード反応を用いてスクリーニングした結果、高デンプン含量を示すと予測される 34 品種・系統を選抜した。また、既存の一般的なデンプン含量定量法である GOD 法に比べ、より簡便かつ迅速なデンプン含量定量が可能な DNS 法の開発に成功した。この DNS 法を用いて 34 品種・系統のデンプン含量を定量した結果、2～6 % と一般的なダイズ種子のデンプン含量である 1 % に比べ、2 から 6 倍高い品種・系統を同定した。

2. 高デンプン含量形質に関する QTL 解析

ダイズ品種田螺ダイズとツルマメ系統 T-106 由来の RIL F_5 種子を札幌市とつくば市でそれぞれ播種し、後代の F_6 種子を得た。札幌市で生産された集団を Pop. 1、つくば市で生産された集団を Pop. 2 とし、DNS 法を用いて集団別のデンプン含量を定量した。この実測値

と、共同研究として農業生物資源研究所の原田久也博士および渡辺啓史博士から提供された遺伝子型に関する情報を基に連鎖地図を作製し、MQM 法を用いて QTL 解析を行った。その結果、Pop. 1 では LG M、A2 および F にデンプン含量に関する QTL を同定した。Pop. 2 では LG N、M、O、E および I に同定した。また、共同研究としてつくば市で生産された Pop. 2 集団の開花期における QTL 解析が行われた結果、LG C1、M、O、H、J および L に計 7 つ (LG J は 2 つ) の QTL を同定した。デンプン含量に関する QTL と開花期に関する QTL は LG M で共通的に検出された。共通的に検出されたデンプン含量および開花期に関する QTL は 8.5 cM 離れており、比較的近いことからデンプン含量は小さいながらも開花期による影響を受けていることが示唆された。

3. デンプン含量における開花後の温度の影響

QTL 解析のため、Pop. 1 および Pop. 2 のデンプン含量を DNS 法により定量した結果、両集団の平均デンプン含量に差異が認められた。この原因の 1 つとして登熟期における温度の影響を調査するため、北海道農業研究センターの人工気象室にて高デンプンダイズ品種である田螺ダイズと対照個体として用いたいちひめを育成し、それぞれのデンプン含量を定量した。その結果、両品種共に高温処理区に比べ低温処理区の方が約 1.7 倍高いデンプン含量を示した。この結果は、ダイズの登熟期の温度が若干低い方が、ダイズ種子により多くのデンプンが蓄積されることを示唆している。

4. デンプン含量とタンパク質含量および脂質含量との関係

Pop. 1 および Pop. 2 両集団のデンプン含量とタンパク質含量および脂質含量との関係を調査した。Pop. 1 のタンパク質含量は 23.90-49.28 % の範囲で平均値は 39.70 %、脂質含量は 5.46-19.99 % の範囲で平均値は 12.70 % であった。一方、Pop. 2 のタンパク質含量は 24.49-52.32 % の範囲で平均値は 37.98 %、脂質含量は 8.28-23.95 % の範囲で平均値は 15.07 % であった。タンパク質含量は両集団の間でほとんど差はなく、脂質含量は Pop. 2 が Pop. 1 よりもわずかに高いことが示された。デンプン含量とタンパク質含量の関係は Pop. 1 と Pop. 2 でそれぞれ相関係数が $r=0.038$ と $r=0.022$ で両成分の間で相関関係が全く認められなかった。一方、デンプン含量と脂質含量では Pop. 1 が $r=0.239$ 、Pop. 2 が $r=0.117$ と弱い正の相関関係 (5%水準で有意) が認められた。ダイズ種子においてデンプン含量と脂質含量の間に正の相関関係を認めた例は本研究が初めてである。

本研究は、高デンプンダイズの探索・同定、簡便かつ迅速なデンプン含量定量法の開発、ダイズ種子のデンプン含量に関する QTL 解析、デンプン含量における開花後の温度の影響、および他成分との関係を明らかにするなど、成分育種への応用に重要な道筋を立てるもの

であり、学術的に高く評価できる。

よって、審査員一同は、Wo Hyeun Jeong が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。