

品種・遺伝資源

ダイズの *Ol* 遺伝子座に生じた多様なオレイン酸含量の突然変異系統からの子実収量に優れた高オレイン酸系統の選抜

高木 胖・有馬 進

(佐賀大学農学部)

要旨：ダイズの自然集団にはオレイン酸含量の高い遺伝資源がないことから、突然変異による新規遺伝子の獲得が期待されている。筆者らは、ダイズ品種 Bay の種子に対する X 線照射による突然変異誘発の結果、同一 *Ol* 座における複対立変異遺伝子をもつことで高オレイン酸含量となる M23, T2427, J38, KK21, M11, KK8, N1095 の 7 系統を作出してきた。本研究は、2007 年と 2008 年に行なった高オレイン酸含量の M23, T2427, J38, KK21 の 4 系統と原品種 Bay との子実収量の比較から、KK21 系統を、原品種 Bay の農業特性を保持しながら高オレイン酸含量となる優良系統として選抜した。

キーワード：遺伝資源, *Ol* 遺伝子座, KK21, 高オレイン酸, 子実収量, *GmFAD2-1a* 遺伝子, ダイズ, 突然変異。

ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) は、世界の植物油生産量の 26% 以上を占め、アブラヤシに次ぐ第 2 位の油料作物である (日本植物油協会 2010)。ダイズ油は食用あるいは工業用として様々な用途に使用されるが、その脂肪酸組成は物理的特性と化学的特性に関係しており、特に、食用油としての酸化安定性と栄養価に大きな影響を与えている。ダイズの脂肪酸組成に関わる成分育種では、オレイン酸含量を高め、リノール酸とリノレン酸の含量を減少させることが重要となっている。しかし、ダイズの自然集団には高オレイン酸含量の遺伝資源がないことから、人為突然変異による新規遺伝子の獲得が期待されている。

筆者らは、アメリカで育成されたダイズ品種 Bay (Buss ら 1979) の種子に対する X 線照射から、これまで多くの高オレイン酸含量となる突然変異体を作成してきた。最初に分離した M23 系統 (Rahman ら 1994) は、低オレイン酸含量の原因遺伝子 *Ol* 遺伝子と同座に *ol* 遺伝子をもつことでオレイン酸含量が増加している (Takagi and Rahman 1996)。この *ol* 遺伝子を導入した高オレイン酸ダイズの育種では、高オレイン酸でリノレン酸含量が 2% 程度の DHL 系統 (Rahman ら 2001)、同様に高オレイン酸で低リノレン酸含量 (1% 程度) の MO/LLN 系統 (Scherder ら 2008)、また、高オレイン酸で、高パルミチン酸あるいは高ステアリン酸となる複数個の突然変異遺伝子を持った MHPDHL 系統 (Rahman ら 2004) や HSO 系統 (高木・穴井 2006) が作出されてきた。

この M23 系統を始めとする高オレイン酸突然変異系統を使用したダイズの育種においては、育成された品種が高オレイン酸含量を示すのみならず、栽培特性ならびに子実収量を構成する農業特性が優れていなければならない。しかし、これらの高オレイン酸突然変異系統の農業特性に関

する調査は未だなされておらず、系統間の比較も行われていない。本研究は、高オレイン酸含量を示す M23, T2427, J38, KK21 の 4 系統を材料として、脂肪酸組成に加えて、開花期、成熟期、茎長、節数、莢数、粒数、粒重、百粒重などの農業形質について調査し、高オレイン酸含量であり子実収量の優れた系統の選抜を実施した。

材料と方法

本研究で供試した高オレイン酸含量の突然変異系統は、ダイズ品種 Bay に X 線を照射して M₂ 世代の脂肪酸の分析から得られた M23, T2427, J38, KK21, M11, KK8, N1095 の 7 系統のうち、これまでオレイン酸含量の遺伝的研究に多数回使用してきた M23 系統と予備試験で高い子実収量を示した T2427, J38, KK21 の 3 系統、および原品種 Bay を供試した。本研究では、2007 年と 2008 年の 2 年にわたってこの 4 系統・1 品種を栽培し、オレイン酸含量およびその他の脂肪酸含量と子実収量および栽培特性について調査した。栽培は、佐賀大学農学部の本庄圃場 (植壊土) で行い、播種は、2007 年では 6 月 20 日、2008 年では 6 月 10 日、株間×畦間は両年とも 21 cm × 70 cm として 1 株 1 本植えとした。供試した個体数は、両年とも各区・系統当たり 12 株とし、4 回反復の乱塊法に従い配置した。供試した個体数は、両年とも各区・系統当たり 12 株とし、4 回反復の乱塊法に従い配置した。栽培管理は地域の慣行に準じて行い、施肥は基肥として成分量で窒素 1.0 kg/10 a、リン酸およびカリは 5.0 kg/10 a を施用した。

各系統の農業形質は、成熟期に各区・系統当たり両端となる個体を除いた 10 株を収穫して、主茎長、主茎節数、分枝数、莢数、粒数、粒重、百粒重を調査した。種子のパルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸およ

第1表 2年にわたる高オレイン酸突然変異系統および原品種 Bay の脂肪酸組成に関する分散分析.

変動因	自由度	平均平方				
		パルミチン酸 含量 (%)	ステアリン酸 含量 (%)	オレイン酸 含量 (%)	リノール酸 含量 (%)	リノレン酸 含量 (%)
栽培年	1	0.19 ^{ns}	15.10 ^{**}	809.83 ^{**}	531.43 ^{**}	94.52 ^{**}
系統・品種	4	3.43 [*]	0.07 ^{ns}	547.92 ^{**}	458.42 ^{**}	0.02 ^{ns}
交互作用	4	0.27 [*]	0.04 ^{ns}	2.81 ^{ns}	2.86 ^{ns}	0.04 ^{ns}
誤差	30	0.07	0.02	3.11	2.00	0.12

各変動因について, **, *, ^{ns} はそれぞれ1%水準で有意, 5%水準で有意, 有意でないことを示す.

第2表 高オレイン酸突然変異系統および原品種 Bay の脂肪酸組成.

系統・品種	パルミチン酸含量 (%) ¹⁾	ステアリン酸含量 (%)	オレイン酸含量 (%)	リノール酸含量 (%)	リノレン酸含量 (%)
M23	11.0 b	1.7 a	50.1 a	30.2 d	7.1 a
T2427	11.4 b	1.8 a	39.6 c	40.1 b	7.0 a
J38	11.2 b	1.7 a	44.7 b	35.2 c	7.2 a
KK21	10.6 b	1.6 a	46.7 b	34.0 c	7.1 a
Bay	12.3 a	1.9 a	28.8 d	49.8 a	7.1 a
LSD (0.05) ²⁾	0.7	0.3	2.3	2.4	0.3

¹⁾ 系統間において同一英文字は5%水準で有意差がないことを示す.

²⁾ 系統間の最小有意差 (5%水準).

びリノレン酸の含量はガスクロマトグラフによる分析 (Anai ら 2008) から測定した. これら農業形質について, 栽培年と系統を母数効果とする二元配置による分散分析を行い, 最少有意差 (LSD 0.05) を算出して系統間の差を検定した.

結 果

1. オレイン酸含量の系統間差

第1表に, 高オレイン酸含量となる4系統と原品種 Bay の2年間の栽培による脂肪酸組成の分散分析表を示した. 表に示すように, パルミチン酸を除く4種の脂肪酸含量は栽培年によって有意に異なったが, パルミチン酸, オレイン酸, リノール酸の各含量では系統・品種間でも有意差が認められている. しかしながら, 栽培年と脂肪酸との間の交互作用についてこれら形質では系統・品種に関するものよりも小さく, パルミチン酸含量以外の脂肪酸では有意とならなかった. そこで, 4系統と原品種 Bay の2年間の各脂肪酸含量の平均値について LSD (0.05) による比較を, 第2表に示した.

第2表に見られるように, オレイン酸含量は, 2年間の平均値で M23 が 50.1% と最も高く, 次いで KK21 が 46.9%, J38 が 44.7%, T2427 が 39.6% となり, 原品種 Bay の 28.8% に比べていずれの系統も 11%~21% と高く, また, 系統間では 10% 以上のオレイン酸含量の差が認められた. 他方, 各系統ではオレイン酸含量の増加に対応してリノール酸含量が減少しており, オレイン酸含量とリノール酸含量の間に強い負の相関関係 ($r = -0.999^{**}$) が

認められた. オレイン酸とリノール酸を除く他の脂肪酸組成では, Bay と比較してパルミチン酸含量が高オレイン酸系統で 1% 程度の含量の低下が認められ, ステアリン酸含量とリノレン酸含量では Bay との間に差は認められなかった.

2. 子実収量の系統間差

第3表に, M23, T2427, J38, KK21 の各系統および原品種 Bay の2年間の子実収量, 主茎長, 主茎節数, 分枝数, 莢数, 一株粒数, 一莢粒数および百粒重の各農業形質の分散分析表を示した. 表に示すように, 全ての形質で栽培年によって有意 (1%水準) となったが, 系統・品種間差も子実収量, 分枝数, 一株粒数, 一莢粒数の各形質で有意となった. また栽培年との間の交互作用では子実収量, 主茎長, 主茎節数, 一莢粒数, 百粒重について有意差が認められたものの, その平均平方は系統・品種間差のそれよりも小さかった. そこで, 4系統と原品種 Bay の2年間の各農業形質の平均値について LSD (0.05) による比較を, 第4表に示した.

第4表に見られるように, 子実収量は, Bay (331 kg) に対し, J38 (299 kg) と KK21 (331 kg) では有意差が認められなかったが, M23 (230 kg) と T2427 (269 kg) では有意に低い収量となった. これら M23 と T2427 の2系統の収量の低下は, 両系統とも Bay との間に莢数と百粒重に差はなかったことから一株粒数の減少であり, 特に一莢粒数の減少に起因していた. すなわち, M23, T2427 の一莢当りの粒数は, Bay の 1.93 粒に対して, それぞれ 1.60 粒,

第3表 2年にわたる高オレイン酸突然変異系統および原品種 Bay の収量構成要素に関する分散分析.

変動因	自由度	平均平方							
		子実収量 (kg/10 a)	主茎長 (cm)	主茎節数 (/ 個体)	分枝数 (/ 個体)	莢 数 (/ 個体)	一株粒数 (/ 個体)	一莢粒数 (/ 莢)	百粒重 (g)
栽培年	1	186166**	3485.81**	45.36**	69.05**	17620**	85873**	0.1675*	92.12**
系統・品種	4	15000*	172.53 ^{ns}	1.14 ^{ns}	1.38**	127 ^{ns}	4026**	0.1408*	8.65 ^{ns}
交互作用	4	1614*	59.29**	0.42*	0.05 ^{ns}	70 ^{ns}	389 ^{ns}	0.0118**	2.12**
誤 差	30	404	11.04	0.11	0.22	68	280	0.0014	0.43

各変動因について, **, *, ^{ns} はそれぞれ 1%水準で有意, 5%水準で有意, 有意でないことを示す.

第4表 高オレイン酸突然変異系統および原品種 Bay の子実収量と収量構成要素.

系統・品種	子実収量 ¹⁾ (kg/10 a)	主茎長 (cm)	主茎節数 (/ 個体)	分枝数 (/ 個体)	莢 数 (/ 個体)	一株粒数 (/ 個体)	一莢粒数 (/ 莢)	百粒重 (g)
M23	230 b	40.7 a	13.0 a	8.6 b	139 a	226 c	1.60 c	19.2 a
T2427	269 b	52.1 a	13.9 a	8.6 b	134 a	239 bc	1.78 b	19.9 a
J38	299 a	47.6 a	13.6 a	8.9 a	137 a	259 a	1.88 a	20.2 a
KK21	331 a	50.8 a	13.8 a	9.5 a	139 a	265 a	1.89 a	22.0 a
Bay	331 a	51.2 a	13.9 a	9.3 a	145 a	282 a	1.93 a	20.7 a
LSD (0.05) ²⁾	56	10.7	0.9	0.3	12	27	0.15	2.0

¹⁾ 系統間において同一英文字は 5%水準で有意差が無いことを示す.

²⁾ 系統間の最小有意差 (5%水準).

1.78 粒と少なかった. なお, この M23 と T2427 の花粉稔性についても調査したが Bay と同様に正常な花粉稔性であった (データ省略). 他方, J38 と KK21 は, 主茎長, 主茎節数, 分枝数, 莢数, 一株粒数, 一莢粒数, 百粒重の各形質について, Bay との間に差が認められず同等の子実収量を示した. また, 高オレイン酸含量となる 4 系統と原品種 Bay との間の開花期と成熟期について差は認められなかった (データ省略).

考 察

ダイズ種子に蓄積される脂肪酸の生合成経路には, パルミチン酸 (C16:0)→ステアリン酸 (C18:0) の炭素鎖伸長反応と, ステアリン酸 (C18:0)→オレイン酸 (C18:1)→リノール酸 (C18:2)→リノレン酸 (C18:3) の不飽和反応があり, それぞれの脂肪酸の生合成を触媒する複数の酵素の活性があつて, これらの経路に沿って順次, 各脂肪酸が生合成されている (高木・穴井 2006).

ダイズのオレイン酸の生合成では, オレイン酸からリノール酸への不飽和化を触媒する複数の小胞体型 ω -6 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 (*GmFAD2* 遺伝子) が関与している. Anai ら (2008) によると, ダイズ個体中で発現している ω -6 不飽和化酵素遺伝子には, 少なくとも *GmFAD2-1a*, *GmFAD2-1b*, *GmFAD2-2a* の 3 種類があり, これまでに作出した高オレイン酸系統の変異遺伝子を分析したところ, M23 系統では *GmFAD2-1a* 遺伝子の ORF 全体を含む大きな欠失があり, KK21 系統では同じ *GmFAD2-1a* 遺伝子の ORF 上の 232 番目の塩基のみを欠く突然変異を生じてい

た. さらに, Anai ら (2008) によると, この M23 系統と KK21 系統では, 原品種 Bay が持つ *GmFAD2-1a* 遺伝子産物の酵素活性を完全に消失したものであったことを明らかにしている.

本研究は, M23, T2427, J38, KK21 の 4 系統について, 同じ *Ol* 遺伝子座に生じた突然変異であっても, そのオレイン酸含量に大きな差のあることを示していた. これら供試系統中, M23 と KK21 では *GmFAD2-1a* 遺伝子の機能が完全に失われているが, T2427 と J38 ではまだ酵素遺伝子の機能は存続している. このように, 両系統群の酵素遺伝子には形質発現に差があり, これがオレイン酸含量の差となって表れたものと考えている. 他方, M23 と KK21 との間には, 何れも *GmFAD2-1a* 遺伝子の機能を失っていたにもかかわらずオレイン酸含量に 3.4% の差が認められた. これについては, ダイズ種子のオレイン酸含量が登熟時の外気温によって影響を受けやすいことから (高木ら 1982, Dornbos and Mullen 1992, Rahman ら 1994), M23 の KK21 よりやや小さな草型 (主茎長, 主茎節数と分枝数, 第 4 表) は, 透過する太陽光が繁茂する植物体の大きさに関係して, 登熟する種子の温度環境に影響したものと考えられ, そのことが, 他の酵素遺伝子 (*GmFAD2-1b* と *GmFAD2-2a*) の発現に関係して, M23 と KK21 のオレイン酸含量の差になって表れたものと推察される. このように, 高オレイン酸となる突然変異系統の選抜では, 同じ *Ol* 遺伝子座に生じた高オレイン酸含量となる突然変異であっても多様な変異があることから, 複数の突然変異の中からの選抜が極めて重要であることが示唆された.

実際の突然変異育種では、目的形質を有する突然変異系統をまず誘発し、次いで、目的形質を保有する系統の中から優良な形質を保持しながら他の農業形質には悪い影響のない原品種の特性を保持する系統の選抜を行う。本研究は、高オレイン酸含量となる M23, T2724, J38, KK21, M11, KK8, N1095 の 7 系統の中から、先ず子実収量に優れた M23, T2724, J38, KK21 の 4 系統を選抜しており、次に、これら 4 系統の農業形質について精査してきた。その結果、同じ *Ol* 遺伝子座に生じた突然変異系統であるにもかかわらず、子実収量には大きな系統間差が認められた。原品種 Bay との比較では、M23 は一株粒数の減少によって子実収量の大幅な低下が生じていた。同様に、T2427 では、M23 ほどではないが原品種 Bay と比較して有意に低い子実収量を示した。J38 では有意とはならないもののやや低い子実収量となった。

以上のように、本供試系統の中では KK21 系統が、高オレイン酸含量を示しつつ高い子実収量となった。Anai ら (2008) は、70% 以上の高オレイン酸含量となるダイズの獲得には、*GmFAD2-1a* 遺伝子の突然変異 (M23 と KK21 系統) に加えて相加的に働く他種の酵素遺伝子の突然変異が必要であるとしており、*GmFAD2-1b* 遺伝子の突然変異の誘発が有効であると指摘している。従って、*GmFAD2-1a* 遺伝子に変異した高オレイン酸含量の KK21 系統は、次のステップである *GmFAD2-1b* 遺伝子を改変させたさらに高いオレイン酸含量のダイズの育成には極めて有用な遺伝資源であると考えられる。

謝辞：本稿をまとめるに当り、穴井豊昭博士 (佐賀大学) には貴重なご助言をいただきました。ここに記してお礼申し上げます。

引用文献

- Anai, T., T. Yamada, R. Hideshima, T. Kinoshita, S.M. Rahman and Y. Takagi 2008. Two high-oleic-acid soybean mutants, M23 and KK21, have disrupted microsomal omega-6 fatty acid desaturase, encoded by *GmFAD2-1a*. *Breed. Sci.* 58 : 447–492.
- Buss, G.R., T.J. Smith and H.M. Camper, Jr. 1979. Registration of Bay soybean. *Crop Sci.* 19 : 564.
- Dornbos, D.L. and R.E. Mullen 1992. Soybean seed protein and oil contents and fatty acid composition adjustments by drought and temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69 : 228–231.
- 日本植物油協会 2010. 植物油に関する基礎知識. 2 世界の植物油生産と貿易. <http://www.oil.or.jp/seisan/index.html> (2010/06/26 閲覧).
- Rahman, S.M., Y. Takagi, K. Kubota, K. Miyamoto and K. Kawakita 1994. High oleic acid mutant in soybean induced by X-ray mutation. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58 : 1070–1072.
- Rahman, S.M., T. Kinoshita, T. Anai and Y. Takagi 2001. Combining ability for high oleic and low linolenic acids in soybean. *Crop Sci.* 41 : 26–29.
- Rahman, S.M., T. Anai, T. Kinoshita, S. Arima and Y. Takagi 2004. Three novel soybean germplasms with unique fatty acid composition using multiple mutant alleles. *Breed. Sci.* 54 : 225–229.
- Scherder, C.W., W.R. Fehr and J. G. Shannon 2008. Stability of oleate content in soybean lines derived from M23. *Crop Sci.* 48 : 1749–1754.
- Takagi, Y. and S.M. Rahman 1996. Inheritance of high oleic acid content in the seed oil soybean mutant M23. *Theor. Appl. Genet.* 95 : 179–182.
- 高木 胖・岸川英利・江頭正義 1982. ダイズの着粒位置による脂質含量, タンパク質, オレイン酸含量の変異. 佐賀大農彙 53 : 47–54.
- 高木 胖・穴井豊昭 2006. 新規の脂肪酸組成を持つダイズ油の突然変異による改良. オレオサイエンス 6 : 195–203.

Selection of High Seed-yielding Strains from High Oleic Acid Mutants of Soybean having Multiple Alleles of *ol* at the *Ol* Locus :

Yutaka TAKAGI and Susumu ARIMA (*Fac. of Agr., Saga Univ., Saga 840-8502, Japan*)

Abstract : In natural soybean populations, there is no gene resource with high oleic acid content. Induced mutations for this trait are needed to acquire a new gene in mutation breeding. By X-ray irradiation of the seeds, seven high oleic acid mutant lines of soybean var. Bay, M23, T2427, J38, KK21, M11, KK8 and N1095 having multiple alleles of *ol* at *Ol* gene locus were produced. The seed yield in M23, T2427, J38 and KK21 lines were compared with that of the original var. Bay in 2007 and 2008, and KK21 line was selected as a novel genetic resource having a high oleic acid content and high seed yield.

Key words : Genetic resource, *GmFAD2-1a* gene, High oleic acid, KK21 line, Mutation, *Ol* gene locus, Seed yield performance, Soybean.