

高品質ダイズ品種育成のための DNA マーカーの開発

農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター 平田香里

第 1 章 緒論

ダイズは世界的に主に油糧作物や飼料作物として栽培されているのに対し、日本では食品用として古くから利用されてきた。国産ダイズのほぼ全量は食品として加工・利用されているにも関わらず、食品用ダイズの自給率は 25%と低く、加工食品の多くは輸入ダイズを原料としている。近年では、量販店で販売される豆腐や納豆において「国産」表示商品の売上げが増加傾向にあり、今後も国産ダイズの需要は増加すると推定されている。そのため、国産ダイズの利用拡大に対応したダイズ品種の育成が重要と考えられる。国産ダイズは、供給量が安定しないことが以前から問題視されており、国内のダイズ育種現場では、安定多収性品種の育成が主体となっている。しかし、国産ダイズは品質面の良さが実需者から高い評価を受けているため、国産ダイズの利用拡大に対応するためには、安定多収性品種に実需者や消費者ニーズに応える高い品質を付与することが重要である。近年の「国産」表示商品の消費者ニーズ増加の背景には、食品安全性に対する関心の高まりがあると考えられる。したがって、国内のダイズ育種現場においても、安全性を考慮した品種育成が必要と考えられる。一方で、世界的な健康ブームにより、低カロリー食品や肉の代替食品としてダイズ加工食品は注目されているため、加工適性を考慮した品種育成も重要と考えられる。そこで、本研究では食品安全性に関わるダイズ種子のカドミウム(Cd)蓄積性および加工適性に関わる蒸煮大豆の硬さに着目し、各形質を制御する遺伝子に関して研究を進め、育成中の安定多収性ダイズ系統に高い品質を効率的に付与するために有用な DNA マーカーの開発を目指した。

第 2 章 *GmHMA3* 遺伝子に関する変異系統の解析

Cd は人体に有害な重金属元素である。国内で過去に Cd により農地が汚染された地域では、国による Cd 低減対策が実施されてきた。農作物の Cd 低減対策の中で、客土や土壌洗浄法、ファイトレメディエーション作物など様々な技術が開発されてきたが、コスト面から考えると低 Cd 蓄積性品種の育成が有効な技術の一つである。ダイズの Cd 蓄積性については、過去の研究で品種間差があることが報告され、ダイズ遺伝子 *GmHMA3* が高蓄積性品種と低蓄積性品種を分類すると示唆されてきた。*GmHMA3* はダイズの根から茎への Cd 移行に関与すると報告されているが、種子の Cd 蓄積性に与える効果は未確認であった。ダイズの可食部は種子であるため、低 Cd 蓄積性品種の効率的な育成には、種子の Cd 蓄積性を制御する遺伝子の情報が重要である。そこで、本研究では *GmHMA3* が種子の Cd 蓄積性に与える効果を検証するため、HRM 解析を用いてダイズ変異体集団より *GmHMA3* 変異系統を探索した。探索の結果、8 種類の

*GmHMA3*変異を得ることができた。そのうち3種類の変異系統を原品種と交配し、得られた交配後代の野生型と変異型個体を2014年作物研究所(現、次世代作物開発研究センター)試験圃場および2014年、2015年東北農業研究センター温室の3試験で栽培し、種子中Cd濃度を比較した。その結果、3種類のうち2種類の変異は種子中Cd濃度を有意に増加させると示唆された。また、残りの1種類の変異では種子中Cd濃度を減少させる可能性が示唆された。以上の結果より、*GmHMA3*はダイズ種子のCd蓄積性に関与することが明らかとなり、*GmHMA3*の遺伝子型情報が低Cd蓄積性品種の育成に有用であると考えられた。

第3章 *GmHMA3*遺伝子内多型を利用した低Cd蓄積性系統の育成

日本のダイズの平均単収は、北南米の主要ダイズ生産国のそれと比較すると大きく劣る。高い単収で知られる北米地域では、ほぼ全ての栽培品種が成熟後も裂莢しにくい(莢が弾けにくい)難裂莢性品種であるのに対し、日本の栽培品種のほとんどが易裂莢性であり、裂莢が収量損失の一因であると報告されている。そこで、本研究ではダイズの裂莢性を制御する量的形質遺伝子座(QTL)、*qPDH1*の多型を検出するDNAマーカーと戻し交配を利用して東北地域向けの難裂莢性系統の開発を目指した。戻し交配親に利用した品種は、栽培特性および病虫害抵抗性に優れた品種だが、第2章で報告した*GmHMA3*の遺伝子型が高Cd蓄積型であったため、*GmHMA3*の多型を検出するDNAマーカーを利用して、難裂莢性と同時に低Cd蓄積性の導入も試みた。*qPDH1*および*GmHMA3*の多型を検出するDNAマーカーで適宜選抜を行いながら戻し交配および世代促進を行い、東北地域向けダイズ系統「東北185号」を育成した。「東北185号」は、戻し交配親品種と同等の栽培特性を示すと予測されたため、育成過程では初、中期世代における固定化のための年2回の世代促進を行うだけとすることで、従来の育種法と比較して栽培面積および育成期間を縮小した。「東北185号」を東北農業研究センター試験圃場で2017年および2018年に栽培し、諸形質を調査したところ、戻し交配親品種と比較して裂莢率および種子中Cd濃度が低くなった。また、「東北185号」の栽培特性は戻し交配親品種とほぼ同等で、倒伏抵抗性および収量性が高く、東北地域で問題となっているダイズシストセンチュウレース3に抵抗性を示した。以上の結果より、*qPDH1*および*GmHMA3*の多型を検出するDNAマーカーの利用により、栽培特性および病虫害抵抗性が優良な品種に効率的に難裂莢性および低Cd蓄積性を導入することに成功した。

第4章 蒸煮大豆の硬さに関するQTL解析

ダイズ加工食品は、加工過程で種子を加熱して軟らかくする蒸煮を行う煮豆や納豆、味噌などと、蒸煮を行わない豆腐や豆乳などに大別される。蒸煮大豆が硬い場合、食感が悪くなる、加工時間が長くなるなどの問題が生じることがあるため、蒸煮が必要なダ

イズ加工食品では蒸煮大豆の硬さは重要視される。過去の研究では、蒸煮大豆の硬さに品種間差があることが報告されているが、その遺伝的要因は解明されていない。そこで、本研究では蒸煮大豆の硬さが異なる品種由来の組換え自殖系統群(RILs)を2010年および2011年に作物研究所試験圃場で栽培し、得られた種子を用いて蒸煮大豆の硬さに関するQTL解析を行った。解析の結果、効果が高いQTL、*qHbs3-1*および*qHbs6-1*が第3番および第6番染色体上にそれぞれ検出された。過去の研究では、粒大および吸水倍率と蒸煮大豆の硬さの間に負の相関関係が報告されていたため、同じRILsを用いて百粒重および吸水倍率についてもQTL解析を行ったが、*qHbs3-1*および*qHbs6-1*近傍に百粒重および吸水倍率に関して効果が高いQTLは検出されなかった。したがって、*qHbs3-1*および*qHbs6-1*は粒大や吸水倍率とは独立して蒸煮大豆の硬さを制御すると示唆された。効果が非常に高い*qHbs3-1*領域にヘテロ型を持つヘテロ残余系統(RHL)を2012年に作物研究所試験圃場で栽培し、QTL領域の絞り込み解析を行ったところ、*qHbs3-1*の原因遺伝子は、第3番染色体上のSSRマーカー、BARCSOYSSR_03_0165およびBARCSOYSSR_03_0185の間、約330kbに座乗すると示唆された。また、蒸煮大豆の硬さが異なる品種由来のF₂分離集団をRHLと同じ条件で栽培し、*qHbs3-1*の効果を検証したところ、*qHbs3-1*の遺伝子型が異なる系統間で蒸煮大豆の硬さに有意な差が認められた。以上の結果より、*qHbs3-1*の遺伝子型情報は、蒸煮大豆の硬さの改善を目的とした品種育成に有用であると示唆された。

第5章 蒸煮大豆の硬さを制御する *Glyma03g03360*

*qHbs3-1*領域のRHLを2013年に作物研究所試験圃場で栽培し、詳細なマッピング解析を行ったところ、候補遺伝がメチオニンアミノペプチダーゼ様タンパクをコードすると推定される *Glyma03g03350* とペクチンメチルエステラーゼ(PME)をコードすると推定される *Glyma03g03360* の2つの遺伝子に絞り込まれた。RHLの両親品種の各遺伝子のエキソンのDNAシーケンス解析を行ったところ、*Glyma03g03360*の第3エキソン上に両親品種間で一塩基の多型が検出され、*Glyma03g03350*では多型が検出されなかった。*Glyma03g03360*の効果を検証するため、遺伝背景が異なる24品種の*Glyma03g03360*のエキソンのDNAシーケンス解析を行ったところ、*Glyma03g03360*には4種類の遺伝子型が存在し、2種類は機能型で、2種類はストップコドン挿入による機能欠損型であると示唆された。シーケンス解析に用いた24品種を2013年に作物研究所(茨城県)、九州沖縄農業研究センター(熊本県)、東北農業研究センター(秋田県)の試験圃場で、*Glyma03g03360*の遺伝子型が異なる品種由来のF₂分離集団を2013年に作物研究所試験圃場で栽培し、得られた種子の蒸煮大豆の硬さを調査したところ、*Glyma03g03360*が機能型と機能欠損型の品種、系統間で蒸煮大豆の硬さに有意な差が認められた。PMEは細胞壁でペクチンの脱エステル化に関与し、それにより隣接するペクチン間にCa架橋構造が構築されると考えられている。供試した品種群のCa含量

を調査したところ、*Glyma03g03360* が機能型の品種群の Ca 含量と蒸煮大豆の硬さに高い相関関係が認められ、ペクチン間の Ca 架橋構造が蒸煮大豆の硬さに重要な役割を果たす可能性が示唆された。以上の結果より、*Glyma03g03360* は蒸煮大豆の硬さを制御する遺伝子であると結論付けられた。

第 6 章 総合考察

食品安全性に関わる種子成分の分析や、加工適性評価のための食品試作には、高額な分析機器や加工設備、多大な時間と労力が必要である。設備が整っていない国内のダイズ育種現場では、その評価を外部に委託することが多く、委託できる点数が限られているため、選抜過程で多数系統を評価することは難しい。したがって、食品安全性や加工適性を判別する DNA マーカーの開発は、育種現場で多数系統を評価する簡易的手法の開発に直結する。本研究では、食品安全性に関わるダイズ種子の Cd 蓄積性および加工適性に関わる蒸煮大豆の硬さを判別する DNA マーカーの開発を目的として各形質に関する遺伝解析を進めた。第 2 章ではダイズ遺伝子 *GmHMA3* が種子の Cd 蓄積性に関与することを明らかにし、第 3 章では *GmHMA3* の多型を検出する DNA マーカーを用いて効率的に低 Cd 蓄積性ダイズ系統「東北 185 号」を育成した。また、第 4 章および第 5 章ではダイズ遺伝子 *Glyma03g03360* が蒸煮大豆の硬さを制御することを明らかにした。*Glyma03g03360* の多型を検出する DNA マーカーを用いて解析したところ、「東北 185 号」の戻し交配親品種は蒸煮大豆が「硬い」遺伝子型であったことから、「東北 185 号」も同じ遺伝子型をもつと推定された。実際に、「東北 185 号」の蒸煮大豆は標準品と比較して硬かった。したがって、*Glyma03g03360* の多型を検出する DNA マーカーを利用することで、「東北 185 号」の蒸煮大豆の硬さを比較的短時間で改良できると考えられた。国内のダイズ育種現場では、安定多収性品種の育成が主体的に行われているため、収量性に関わる病虫害抵抗性や機械化適性などの形質については DNA マーカーの開発、活用が盛んであるが、品質に関わる形質についてはそれが遅れていた。本研究で開発した DNA マーカーを既に活用されている収量性に関わる DNA マーカーと併用することで、優良な栽培特性を持つダイズ品種、系統への低 Cd 蓄積性および蒸煮大豆の軟らかさの効率的な付与が可能となり、国産ダイズの利用拡大に対応した品種開発への貢献が期待できる。