

ダイズの裂皮程度の品種間差解明と QTL 解析

大越三登志・松井 匠¹⁾・岩橋雅夫²⁾・岡本和之³⁾・岡野克紀⁴⁾

(茨城県農業総合センター生物工学研究所)

要約

納豆加工時に問題となる蒸煮後の裂皮が発生しにくいダイズを育成するために、国内の 56 品種・系統について、生豆における裂皮及び蒸煮後の裂皮を合わせた全裂皮の程度の品種間差を調査し、‘すずかれん’や‘小粒選抜系’等は裂皮しにくいことを明らかにした。また、‘すずかれん’と裂皮しやすい系統である‘ひたち 4 号’を親品種とした組換え自殖系統 153 系統による連鎖解析を行ったところ、全長 704cM をカバーする 30 連鎖群から構成される連鎖地図を得た。また、QTL 解析により、第 6、第 10 染色体に全裂皮程度に関連するそれぞれ 1 つの QTL を検出した。いずれの QTL とも‘すずかれん’型対立遺伝子が裂皮を軽減する効果を示し、これらの寄与率は 8.7%、12.0%であった。

キーワード：ダイズ、難裂皮性、QTL 解析

1. はじめに

茨城県では、納豆用小粒ダイズの‘納豆小粒’が奨励品種に指定され、食味が優れることから県内外の納豆加工業者に長期に渡り使用されている(窪田・鯉渕、1979；茨城県農林水産部産地振興課、2024a)。2023 年の県内産では 991ha で作付けされたと推定される(茨城県農林水産部産地振興課、2024b)。

一般的に納豆はダイズを水に浸漬し、十分に吸水させてから加圧蒸煮し、その後に納豆菌を加えて容器内で発酵させるという工程を経て製造される。商業ベースの大規模生産では、効率化のため、この一連の工程が製造ライン化されているが、納豆製造業者からの聞き取りによると、ダイズに裂皮が多く発生していると、粒が潰れて製造機械の目詰まりを起こし、ラインの停止につながることもあり問題となっている。裂皮は生豆の状態でも発生が確認されるが、生豆では裂皮を目視できず、吸水や加圧蒸煮の際に新たに確認されるものも多い。これまでに、吸水後の乾燥により誘発させた裂皮の品種間差や蒸煮後の皮うきの品種間差に関する報告(村田ら、1989；平、1982)、あるいは生豆の裂皮率の QTL を検出した報告(Saruta et al., 2019)はあるが、蒸煮の影響を考慮した裂皮程度について、DNA マーカーを用いた詳細な遺伝学的解析はほとんど行われていない。

そこで、本研究では、加工過程に影響する裂皮が発生しにくい品種の育成に資するために、生豆及び蒸煮後の裂皮発生程度の品種間差を調査し、関連する QTL を探索した。

2. 材料および方法

2. 1 裂皮程度の品種間差の解明

2019 年に 66、2020 年に 60 のダイズ品種・系統を栽培し(表 1)、子実を形質評価に供試した。各 10 株を収穫・乾燥後、機械脱粒時に衝撃で裂皮が発生するのを避けるため、手で脱粒した。得られた収穫物から被害粒(虫害、病害)、奇形粒および未熟粒を取り除き、残った子実から 300 粒を無作為に抽出し、裂皮粒(生豆裂皮)については計数した後に取り除き、以降の調査からは除外した。無傷の粒から 100 粒を無作為に抽出して蒸留水で 25℃、16 時間浸漬して吸水させ、裂皮が発生した粒(吸水裂皮)と吸水せず膨らまない粒(石豆)を取り除いてオートクレーブで 121℃、40 分間蒸煮した後、発生した裂皮(蒸煮時裂皮、図 1)の状態・程度を調査し、計数した。なお、吸水及び蒸煮の温度・時間は納豆製造業者の一般的な加工方法に準じるものである。各調査とも、わずかでも種皮が裂けて子葉が目視できるもの、目視で判別しづらい場合は指で触れて皮切れが認められたものを裂皮とした。吸水裂皮と蒸煮時裂皮を合わせた総称を「蒸煮裂皮」とし、生豆裂皮と蒸煮裂皮を合わせた

1) 現 茨城県西農林事務所坂東地域農業改良普及センター 2) 現 茨城県農林水産部農業技術課

3) 現 茨城県農業総合センター農業研究所 4) 現 茨城県南農林事務所稲敷地域農業改良普及センター

ものを「全裂皮」とした。生豆裂皮率、蒸煮裂皮率、石豆率は最初に無作為に抽出した 300 粒中に占める割合に換算して算出した。なお、2019 年の蒸煮時裂皮の調査では、種皮の裂け目の長さにより 5 段階に区分して算出した「裂皮価」として評価したが、単純な裂皮の有無による裂皮率と裂皮価との相関係数は 0.975***（相関係数の右肩に付した***は $p<0.001$ 、**は $p<0.01$ を示す。以降も同様。）と極めて高かったため、以後の調査手法には労力の少ない裂皮率を採用し、裂皮価の調査はとりやめた（データ略）。また、供試した品種・系統については開花期、成熟期、百粒重も調査し、各裂皮率との相関を確認した。

表1 品種比較試験の耕種概要

試験年次	試験場所	供試品種・系統数	播種期 (月・日)	畦間 (cm)	株間 (cm)	基肥量 N:P ₂ O ₅ :K ₂ O (kg/10a)	試験区面積
2019	所内畑圃場	66	6.26、7.03	60	15	3:10:10	0.6m ² 、2区制
2020	(水戸市)	60	6.24				1.8m ² 、2区制

2. 2 裂皮程度に関する QTL 解析

2. 2. 1 解析集団の選定

解析集団の候補とするため、全裂皮率が低い品種・系統と納豆加工適性の高い品種・系統を用いて 6 組合せの交雑を実施し、単粒系統法により組換え自殖系統群 (RILs) の育成を開始した。また、両親から DNA を抽出し、全ゲノム SSR マーカーパネル (WGSP) ver.2 (Fujii et al., 2018) を構成する 352 個の DNA マーカーを用いて多型を調査した。なお、‘すずかれん’、‘ひたち 4 号’の間で多型率が最も高かったことから、これらの品種由来の RILs を解析集団として選定し、RILs 各系統の F₅ 世代 1 個体ずつを用いて連鎖地図を構築するとともに、その 1 個体に由来する F₆ 世代を用いて裂皮程度を調査した。

2. 2. 2 解析集団の裂皮程度の調査

RILs の F₆ 世代 152 系統を 2022 年に圃場で栽培した (表 2)。成熟期に達して概ね 3 日以内に各系統 5 個体 (1 系統のみ 3 個体) の地上部生育量 (主茎長、分枝数、主茎節数) を測定するとともに、子実を収穫し、収量、百粒重、タンパク質含量、油分含量、糖含量及び裂皮程度を調査した。各裂皮率等の算出方法は、概ね上記の方法に準じたが、吸水に供する粒数は省力化のため 50 粒に変更した。タンパク質含量、油分含量、糖含量は穀物用分析装置 Infratec1241 (フォス・ジャパン社) により測定した。

2. 2. 3 DNA 調製と DNA マーカーの検出

RILs の F₅ 世代 153 系統の DNA を調製するため、2022 年春に各系統 1 個体ずつ容器栽培した。DNA 溶液は、DNA すいすい-S (リーゾ社) のプロトコルに従い、RILs 各系統の未展開葉から 5mm 四方程度を採取して 400 μ L の DNA すいすい-S 中で磨砕し、上清に 100 μ L のイソプロパノールを加えて沈殿させ、70%エタノールで洗浄した後、0.1 $\times$ TE に溶解して調製した。PCR は、片側の 5' 末端に M13 配列 (CACGACGTTGTAACGAC) を付加したプライマー 6~8 対を 1 グループとし、蛍光標識した M13 配列プライマーを混合して (Oetting et al., 1995) Multiplex PCR Kit (QIAGEN 社) を用いて行った。蛍光標識プライマーは受託合成サービス (ThermoFisherScientific 社) を利用して 6-FAM、NED、PET、VIC を用いた 4 種を作成し、プライマーのグループごとにそのいずれかを使用した。サーマルサイクラーは ProFlex PCR System (ThermoFisherScientific 社) を使用した。反応条件は 95 $^{\circ}$ C15 分の後、95 $^{\circ}$ C30 秒、50 $^{\circ}$ C90 秒、60 $^{\circ}$ C90 秒を 35 サイクル、その後 60 $^{\circ}$ C30 分とした。反応後は、4 種の蛍光色の産物を混合し、断片長を 3500XL ジェネティックアナライザ (ThermoFisherScientific 社) を用いて確認した。

2. 2. 4 連鎖地図の構築と QTL 解析

RILs の F₅ 世代 153 系統に対して、WGSP ver.2 (Fujii et al., 2018) の DNA マーカーのうち多型が認められた 180 個から増幅断片長の差が小さく判別の困難な 12 個を除いた 168 個を用いて遺伝子型を判別した。このうち、良好に判別できた 141 個の多型のパターンから、統計ソフトウェア R ver.4.3.1 (R Core Team, 2023) の onemap パッケージ ver 3.0.0 (Margarido et al., 2007) を用いて連鎖地図を作成した。連鎖群は WGSP ver.2 (Fujii et al., 2018) を参考に染色体との対応を確認した。

得られた全裂皮率と連鎖地図データから、R ver.4.3.1 の qtl パッケージ ver 1.60 (Broman et al., 2003) を用いて EM アルゴリズムに基づく IM 法により QTL 解析を実施した。QTL 検出の閾値は、1000 回並べ替え、有意水準 5%での permutation test により算出した。

表2 ‘すずかれん’と‘ひたち4号’を親品種としたRILs (F₆) の耕種概要

試験年次	試験場所	供試品種 ・系統数	播種期 (月・日)	畦間 (cm)	株間 (cm)	基肥量 N:P ₂ O ₅ :K ₂ O (kg/10a)	試験区面積
2022	所内畑圃場 (水戸市)	152	6.28	60	15	3:10:10	1.8m ² 、1区制

3. 結果

3. 1 裂皮程度の品種間差の解明

2019 年の生豆裂皮率の範囲は 1~75%、蒸煮裂皮率は 10~76%、全裂皮率は 13~95%、2020 年の生豆裂皮率は 0~94%、蒸煮裂皮率は 4~89%、全裂皮率は 12~99%であり、品種間で大きな差が認められた (表 3)。2 年とも供試できた 56 品種・系統について、生豆裂皮率、蒸煮裂皮率、全裂皮率の年次間の相関を確認したところ、全裂皮率の相関係数は 0.715***と高かった (図 2)。生豆裂皮率と蒸煮裂皮率についてはそれぞれ 0.404**、0.449***とそれより低かったことから、全裂皮率が難裂皮性の指標としてより適していると考え、QTL 解析に用いることとした。なお、年次ごとに、供試した全ての品種・系統の生豆裂皮率、全裂皮率と開花期、成熟期、百粒重との相関係数を確認したが、2019 年の全裂皮率と百粒重で 0.351**、2020 年の生豆裂皮率と百粒重で 0.425***であった他は $|r| > 0.3$ の相関は認められなかった (データ略)。

全裂皮率の 2 カ年平均が最も低かったのは‘すずかれん’の 12%であり、次いで低い順に‘生研 14 号’、‘小粒選抜系’、‘すずおとめ’、‘すずろまん’、‘すずこまち’であった。‘納豆小粒’は 60%、‘ひたち 4 号’は 74%であった。

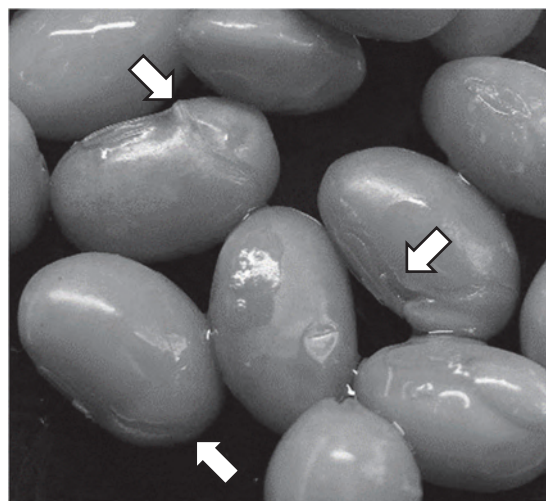


図1 蒸煮時裂皮 (矢印)

中心の粒にへこみが認められるが、これは蒸煮後の取扱い時についたものであり、種皮は切れていない。

表3 供試品種・系統の裂皮率

品種・系統名	2019				2020				2年平均 全 裂皮率 (A+B)
	生豆 裂皮率 (A)	石豆率 (B)	全 裂皮率 (A+B)	全 裂皮率 (A+B)	生豆 裂皮率 (A)	石豆率 (B)	全 裂皮率 (A+B)	全 裂皮率 (A+B)	
すずかれん	3	0	10	13	4	0	8	12	12
生研14号	6	0	20	26	3	0	21	24	25
小粒選抜系	2	2	23	25	1	0	25	26	25
くろこじろう	2	1	25	27	-	-	-	-	27
すずおとめ	17	2	22	39	3	0	15	17	28
すずろまん	6	0	32	38	2	0	24	26	32
すずこまち	18	0	16	34	10	0	22	31	32
エンレイ	2	2	43	45	11	2	13	25	35
すずかおり	3	0	28	31	22	0	20	41	36
鈴の音	1	4	36	36	9	2	37	47	41
スズマル	6	19	41	47	-	-	-	-	47
ひたち3号	10	0	38	48	-	-	-	-	48
目黒	26	1	51	77	4	2	16	20	49
花嫁茨城1号	23	0	37	60	7	0	33	41	50
生研17号	16	0	40	56	2	0	44	46	51
兄	7	1	53	60	23	3	19	43	51
水潜	13	8	56	69	15	2	21	37	53
生研4号	13	1	38	51	14	0	45	59	55
生娘茨城1号	12	0	54	66	9	0	39	48	57
タチスズナリ	2	3	57	59	22	2	34	57	58
タチナガハ	16	1	47	63	14	0	39	53	58
福井白	3	28	56	59	-	-	-	-	59
納豆小粒	31	0	31	61	10	0	50	60	60
タママサリ	22	0	52	74	1	0	46	47	60
里のほほえみ	7	0	65	72	3	0	50	52	62
生研2号	46	1	27	73	2	0	50	52	63
生研18号	2	0	56	58	3	0	65	68	63
ボンミノリ	40	0	33	73	22	0	31	53	63
四粒黄	8	0	56	64	4	0	59	64	64
極小外国・水戸市	48	0	21	69	13	0	46	59	64
ハタユタカ	12	0	47	59	47	1	24	71	65
Darc	37	0	38	75	8	0	50	58	66
KLS805-3	12	0	39	52	26	0	55	82	67

品種・系統名	2019				2020				2年平均 全 裂皮率 (A+B)
	生豆 裂皮率 (A)	石豆率 (B)	全 裂皮率 (A+B)	全 裂皮率 (A+B)	生豆 裂皮率 (A)	石豆率 (B)	全 裂皮率 (A+B)	全 裂皮率 (A+B)	
サチユタカ	39	0	29	67	40	0	28	67	67
すずほのか	4	2	60	63	4	2	69	73	68
コスズ	32	0	32	64	35	0	40	75	70
極小金砂郷・水戸市	19	0	66	85	9	0	49	58	72
ROSS	75	-	-	-	36	1	37	73	73
晩越後8号	17	4	60	77	29	5	41	69	73
青豆	31	1	42	73	-	-	-	-	73
シンメジロ	32	0	52	84	28	0	35	63	73
ひたち4号	35	0	33	68	18	0	60	79	74
あやみどり	6	0	67	74	-	-	-	-	74
PI416937	3	0	76	79	0	1	70	70	74
生研15号	44	0	40	84	3	0	64	67	75
リュウホウ	26	9	50	76	-	-	-	-	76
小白	6	0	61	67	71	1	17	89	78
キヨミドリ	31	1	47	78	-	-	-	-	78
裸3号	26	0	40	66	64	0	27	91	78
本種赤茨37号	25	0	49	75	23	1	60	82	78
旭60号	7	7	61	68	63	3	27	90	79
ひたち1号	15	3	64	79	23	1	56	79	79
生研10号	12	0	68	80	1	0	77	78	79
フクユタカ	64	0	18	82	55	2	23	78	80
赤茨2号	42	1	28	71	74	0	16	90	80
Jackson	49	0	39	88	22	0	52	73	81
青柳	18	0	58	76	66	0	23	89	82
5002T	45	0	37	83	-	-	-	-	83
東秋	33	1	60	93	31	0	44	75	84
地塚茨城1号	16	0	70	86	56	0	29	85	85
生研6号	32	1	56	88	17	1	65	83	86
生研16号	49	0	36	85	16	0	71	87	86
金大豆	14	0	68	82	9	0	89	97	90
Essex	63	0	25	88	91	0	6	97	93
Stressland	22	0	71	93	45	0	48	93	93
花魁	57	0	38	95	94	0	4	99	97

全品種・系統平均^{a)} 21.9 0.8 44.4 66.2 23.3 0.5 39.1 62.3 64.3
標準偏差^{a)} 17.0 1.6 16.4 18.8 24.3 1.0 19.6 22.9 19.3

a)2カ年を通して測定できた56品種のみを用いて算出した。

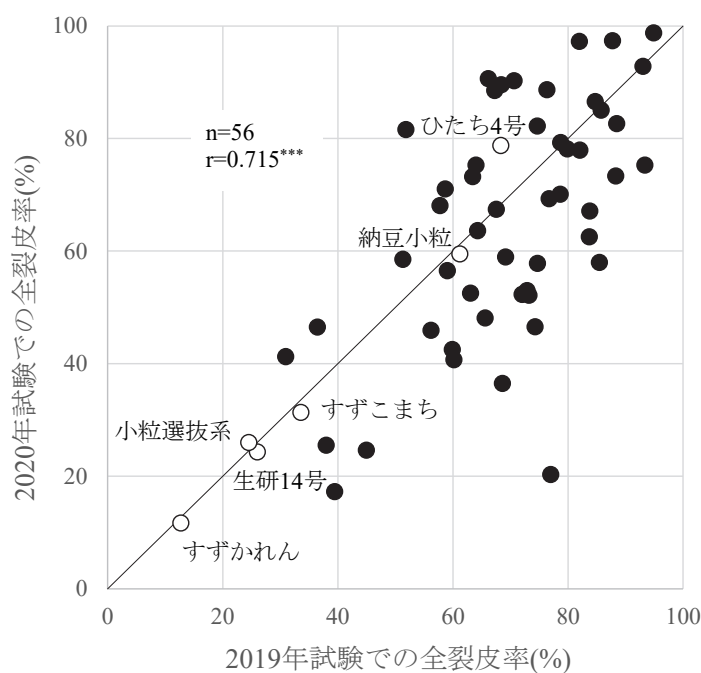


図2 2カ年の全裂皮率の相関
実線は $y=x$ を示す。

3. 2 裂皮程度に関する QTL 解析

3. 2. 1 解析集団の選定

全裂皮率が低かった‘すずかれん’、‘すずこまち’、‘生研 14 号’と納豆加工適性の高い‘納豆小粒’、‘ひたち 4 号’の間の多型率を比較した結果、‘すずかれん’と‘ひたち 4 号’の組合せにおいて最も多型率が高く、全裂皮率の差も大きかった（表 4）ことから、‘すずかれん’、‘ひたち 4 号’を両親とする RILs を QTL 解析に用いた。なお、‘ひたち 4 号’は戻し交雑により‘納豆小粒’にダイズシストセンチュウ抵抗性およびダイズモザイクウイルス抵抗性を導入した系統である。

表 4 解析集団候補の両親間の多型率および蒸煮裂皮率の差

種子親	花粉親	供試 マーカー数	多型 マーカー数	多型率 (%)	全裂皮率 (%)の差 ^{a)}
すずかれん	納豆小粒	352	176	50	48
すずこまち	納豆小粒	352	105	30	28
生研 14 号	納豆小粒	352	85	24	35
すずかれん	ひたち 4 号	352	180	51	61
すずこまち	ひたち 4 号	352	118	34	41
小粒選抜系	ひたち 4 号	352	140	40	48

a)2019, 2020 年調査結果の平均

3. 2. 2 解析集団の裂皮程度の調査

RILs の各系統の全裂皮率は 0～99%と大きな差が認められ、解析に適した集団であることが確認された（図 3）。また、生豆裂皮率、全裂皮率と地上部生育量、開花期、成熟期、収量、百粒重、タンパク質含量、油分含量、糖含量との相関係数を確認したところ、生豆裂皮率と百粒重で 0.392***、全裂皮率と開花期で -0.367***であった他は $|r| > 0.3$ の相関は認められなかった（データ略）。

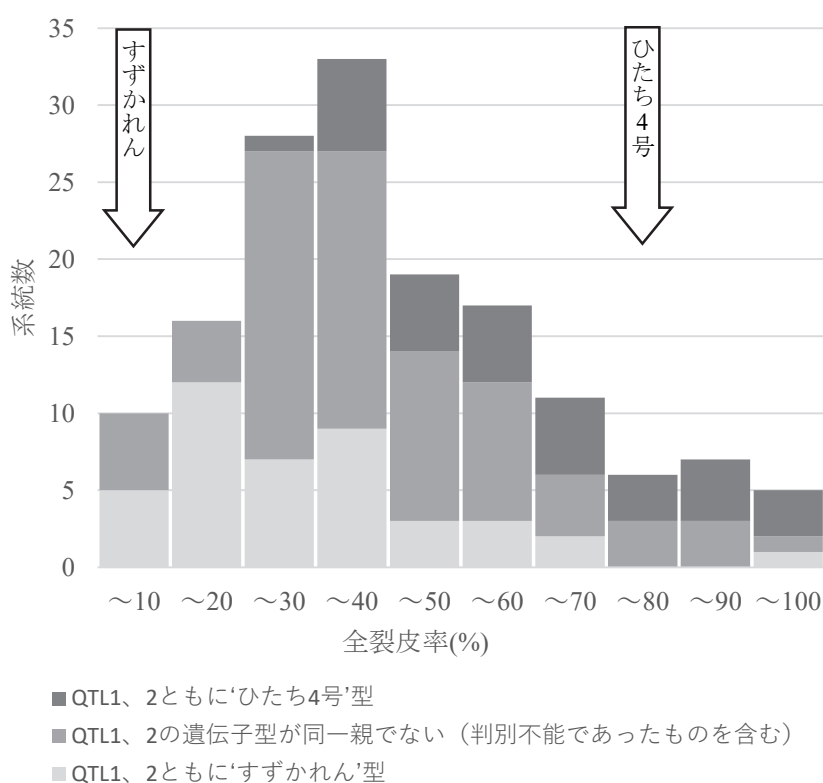


図 3 RILs における全裂皮率の分布

3. 2. 3 連鎖地図の構築

‘すずかれん’と‘ひたち4号’との組合せのRILsについて141個のマーカーの連鎖解析を行った結果、連鎖しなかった20個を除いた121個のマーカーが30の連鎖群に位置付けられた。また、これらの連鎖群はFujii et al. (2018)を参考に染色体番号順に配列した。得られた連鎖地図の全長は704cMとなり、Fujii et al. (2018)の連鎖地図を参考とした場合、全ゲノムの約25%に対応した。さらに、マーカー間の平均遺伝距離は7.7cMであった。

3. 2. 4 QTL解析

QTL解析の結果、第6染色体及び第10染色体に位置付けられたDNAマーカーSatt100、GMES4019の近傍にQTLが検出され、それぞれQTL1、QTL2とした(図4)。これら2つのQTLの遺伝子型がともに‘すずかれん’型であった系統の全裂皮率は0%から91%まで分布し、平均値は27%、‘ひたち4号’型であった系統は24%から99%まで分布し、平均値は57%であった(図3)。QTL1および2の寄与率はそれぞれ8.7%、12.0%であり、‘ひたち4号’型に対する‘すずかれん’型の相加効果は、正の値の時に裂皮を低減すると定義した場合、それぞれ7.4、8.0であった(表5)。

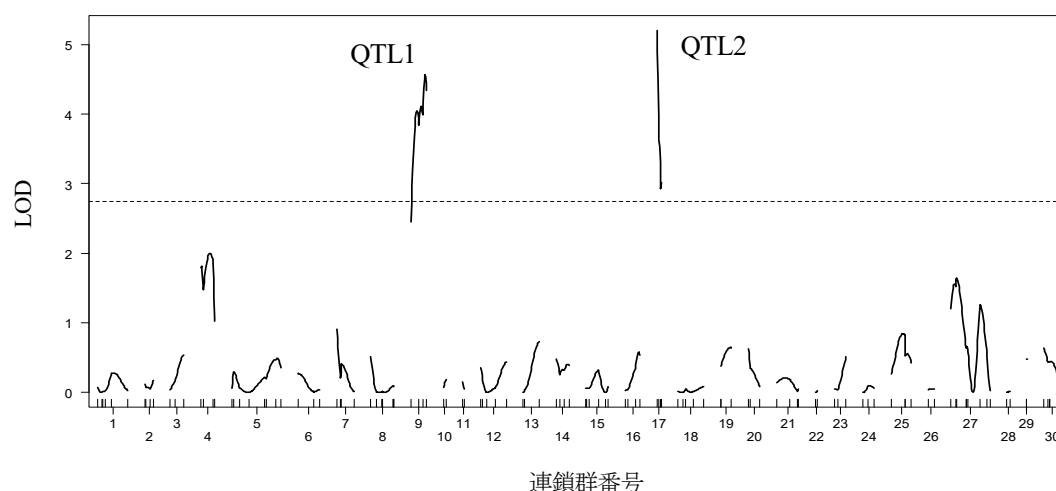


図4 QTL解析の結果

点線はLODの閾値を示す。

横軸から上側に伸びた目盛は各連鎖群に割り当てられたマーカーの位置を示す。

目盛の間隔は推定されたマーカー間距離を表す。

連鎖群はWGSP ver.2 (Fujii et al., 2018)を参考に染色体番号順に配置した。

表5 蒸煮裂皮に関連するQTL

QTL	連鎖群(染色体 ^{a)})	近傍マーカー	LOD	寄与率 ^{b)} (%)	相加効果 ^{c)}
1	9(6)	Satt100	4.6	8.7	7.4
2	17(10)	GMES4019	5.2	12.0	8.0

a)WGSP ver.2 (Fujii et al., 2018) から推測される、連鎖群が座する染色体番号。

b)QTLがどの程度表現型分散を説明できるかを示す指標。QTL分散/全分散。

c)‘ひたち4号’型に対する‘すずかれん’型の効果で、正の値のときに蒸煮裂皮率(%)を低減すると定義した。

4. 考察

4. 1 裂皮程度の品種間差の解明

ダイズの裂皮の検出方法について、本研究では、ダイズ加工製造業者の一般的な加工方法に準じて行った。村田ら(1989)は吸水後に乾燥させて裂皮を誘発する評価方法により‘エンレイ’の裂皮発生が少ないことを報告しており、今回の結果でも‘すずこまち’に次いで裂皮率が低くなっていることから、概ね共通の傾向が認められた。

ダイズの裂皮については遺伝率が高いとされており(岡部・異儀田、1987)、本研究においても全裂皮率は2カ年の相関が高かったことから、遺伝的要因の影響を受けていることが示唆された。また、生豆裂皮率と蒸煮裂皮率については2カ年の相関が低かったことから、全裂皮率が裂皮の指標としてより適していると考えられた。全裂皮率の2カ年の相関が比較的高かった要因としては、生豆裂皮調査時に目視では確認できなかった微細な裂皮や潜在的な種皮の損傷・脆弱性が、吸水・蒸煮により顕在化し、品種・系統の本来の裂皮しやすさが把握できたことによる可能性がある。一方、‘目黒’、‘水潜’など、全裂皮率の方が2カ年のばらつきが大きい品種もあり、これらは、例えば栽培環境や収穫・調製・保管等の外部要因の変動の影響を受けやすい品種特性があり、そのために他の品種と異なる傾向を示した可能性がある。環境条件による裂皮の発生については、開花期の低温処理により誘発される裂皮粒に品種間差があることについて報告されている(原ら、1993)。

今回の試験で安定して生豆裂皮率及び全裂皮率が低かった‘すずかれん’、‘小粒選抜系’、‘すずこまち’はそれぞれの育成地でも生豆の裂皮が少ないとされており(高橋ら、2013; 樫村ら、1994; 坂元ら、2002)、本研究と評価が一致した。しかし、それらの報告では、‘すずかれん’、‘小粒選抜系’は納豆加工後の硬度がそれぞれの標準品種の‘スズマル’、‘納豆小粒’より硬いと評価されている(高橋ら、2013; 樫村ら、1994)。また、‘すずこまち’は煮豆の硬さは‘納豆小粒’よりやや硬いが、納豆は軟らかかった(坂元ら、2002)。加工適性は品種の普及に大きな影響があり、実際に‘小粒選抜系’は硬さが原因で広く普及しなかったため、裂皮の難易と加工適性の関連については今後、詳細に確認していく必要がある。

4. 2 裂皮程度に関する QTL 解析

4. 2. 1 解析集団の選定

‘すずかれん’の種子親は‘納豆小粒’を種子親として育成されており、また、‘すずこまち’は‘納豆小粒’を種子親にして、‘ひたち4号’は‘納豆小粒’と‘スズヒメ’との交雑後代に‘納豆小粒’を3回戻し交雑した系統と、‘納豆小粒’と‘すずろまん’との交雑後代に‘納豆小粒’を6回戻し交雑した系統を両親として育成されている。‘小粒選抜系’は茨城県北部の在来種から選抜された品種であるが、同様に在来種から選抜された‘納豆小粒’と産地が至近であることから、遺伝的にも近似である可能性がある。‘生研14号’は‘小粒選抜系’を種子親にした後代であり、供試した品種・系統の遺伝的背景が近かったことが、多型率の低さに影響したと考えられた。

4. 2. 2 解析系統の裂皮程度の調査

先行の研究では、開花期前後の温度が生豆の裂皮に影響するとの報告があり(原ら、1993)、全裂皮率と開花期に低いながらも相関がみられた今回の結果(生豆裂皮率と開花期の相関係数は -0.277^{***})と傾向は一致した。百粒重については先行の研究で裂皮との相関が認められたとする報告(朝日ら、1981)がある一方、認められなかったとする報告(中山ら、2018)もあるが、今回は生豆裂皮率と百粒重に低い相関が認められた。

今回は煮豆や納豆製品の硬度は調査しなかったが、今後、これらと裂皮の関係性を確認する必要がある。

4. 2. 3 連鎖地図の構築

今回の解析で得られた連鎖群数は30であり、ダイズの染色体数20に収束しなかった。また、先行のダイズ連鎖地図の例として、Fujii et al.(2018)は181系統の‘納豆小粒’と‘タチナガバ’の組合せによるRILsに対して多型を示した221のDNAマーカーを用いて2,824.3cMの連鎖地図を作成しているが、それと比較して今回得られた連鎖地図は704cMとかなり短かった。今回、解析に用いたRILsの両親の遺伝的背景に‘納豆小粒’由来の領域が多いことにより、多型を示すマーカーが少なくなったことが、詳細な連鎖地図の作成に至らなかった主要因と考えられた。

4. 2. 4 QTL 解析

2つのQTLが検出され、DNAマーカーによる難裂皮性系統選抜の可能性が示された。ただし、どちらのQTLも連鎖群の末端に位置付けられたDNAマーカーの近傍に位置していたために明瞭なLODのピークを得ることはできなかった。これらのことから、より詳細な解析のためには、今回多型が認められなかった領域や、より染色体末端部に近い領域において有効なDNAマーカーを探索する必要がある。また、QTL2は、Saruta et al. (2019) による裂皮率に関する解析で検出されたQTLの一つと同じく、DNAマーカーGMES4019の近傍に位置しており、これらは同じ遺伝子座の可能性もあるが、Saruta et al. (2019) はこのQTLについて、2カ年の調査のうち1年でのみ検出されたことから、裂皮に関連するQTLとは位置付けていない。今回検出されたQTLについても複数年の解析による確認が必要と考える。

生豆裂皮や蒸煮裂皮の発生については、種皮の厚み・強度や成分、粒形など多くの要因が関与していることが示唆されており、例えば種皮の厚さや引張り強度には品種間差が認められている(伊藤ら、1993; 林ら、1996b)。このうち引張り強度に関しては、裂皮性との関連が示唆されている。また、低温により誘発される裂皮と高温により誘発される裂皮の発生様式が異なる可能性が大きいとの報告もある(林ら、1996a) 他、裂皮の形状によっても発生機構が異なるという報告もあり(平井ら、2011)、裂皮の発生機構は非常に複雑であると考えられる。今回検出したQTLは寄与率、効果とも大きくなかったが、今後、これらの知見を参考に裂皮の検出方法を改めて検討することにより、より効果的なQTLを同定できる可能性があると考えられた。

引用文献

- 朝日幸光・井口武夫・財津昌幸(1981) ダイズ品種の種皮の亀裂について. 九州農業研究 43 : 41.
- Broman, K. W., Wu, H., Sen, S. and Churchill, G.A. (2003) R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* 19 : 889-890.
- Fujii, K., Sayama, T., Takagi, K., Kosuge, K., Okano, K., Kaga, A. and Ishimoto, M. (2018) Identification and dissection of single seed weight QTLs by analysis of seed yield components in soybean. *Breeding Science* 68 : 177-187.
- 原 正紀・林 高見・鈴木健策(1993) 開花期の低温処理による大豆裂皮粒の多発とその品種間差異. 東北農業研究 46 : 135-136.
- 林 高見・鈴木健策・村田吉平・原 正紀(1996a) 異なる温度条件で発生した大豆裂皮粒の粒重の分布. 東北農業研究 49 : 85-86.
- 林 高見・鈴木健策・佐々木 陽・原 正紀(1996b) 裂皮性の異なる大豆品種の種子最大期における種皮の引張り強度. 東北農業研究 49 : 87-88.
- 平井儀彦・津島 洋・津田 誠(2011) 開花期の追肥と登熟期の環境条件が異なる形状のダイズ裂皮粒発生に及ぼす影響. 日本作物学会紀事 80 : 183-189.
- 茨城県農林水産部産地振興課 (2024a) 奨励品種一覧.
https://www.pref.ibaraki.jp/nourinsuisan/sansin/nosan/documents/hinshu_ichiran.pdf (2024年11月2日アクセス).
- 茨城県農林水産部産地振興課 (2024b) 令和6年産大豆生産振興方針.
https://www.pref.ibaraki.jp/soshiki/nourinsuisan/sansin/documents/2_r6_daizu.pdf (2024年11月2日アクセス).
- 伊藤美環子・中村茂樹・高橋浩司(1993) 大豆品種の種皮の厚さ. 日本作物学会東北支部会報 36 : 75-77.
- 檜村英一・窪田 満・中川悦男・石原正敏(1994) 大豆準奨励品種「小粒選抜系」(仮称) について. 茨城県農業総合センター農業研究所研究報告 1 : 35-44.
- 窪田 満・鯉淵 登(1979) 極小粒ダイズ「納豆小粒」について. 茨城県農業試験場研究報告 19 : 19-24.
- Margarido, G. R. A., Souza, A. P. and Garcia, A. A. F. (2007) OneMap: software for genetic mapping in outcrossing species. *Hereditas* 144 (3) : 78-79.
- 村田吉平・菊池彰夫・酒井真次(1989) ダイズの裂皮粒発生機作に関する一考察. 日本作物学会東北支部会報 32 : 89-90.
- 中山則和・山本 亮・細野達夫(2018) ダイズ品種「里のほほえみ」における裂皮粒の発生に及ぼす播種時期の影響. 日本作物学会紀事 87 : 183-191.

- Oetting, W. S., Lee, H. K., Flanders, D. J., Wiesner, G. L., Sellers, T. A. and King, R. A. (1995) Linkage analysis with multiplexed short tandem repeat polymorphisms using infrared fluorescence and M13 tailed primers. *Genomics* 30 : 450-458
- 岡部昭典・異儀田和典 (1987) ダイズの裂皮性に関する研究 第2報 選抜効果について. 日本作物学会東北支部会報 30 : 73-75.
- R Core Team (2023) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- 坂元秀彦・高松光生・山田直弘・矢ヶ崎和弘 (2002) ダイズ新品種「すずこまち」の育成. 北陸作物学会報 37 : 82-84.
- Saruta, M., Takada, Y., Yamashita, K., Sayama, T. and Komatsu, K. (2019) A QTL associated with high seed coat cracking rate of a leading Japanese soybean variety. *Breeding Science* 69 : 665-671.
- 平 春枝 (1982) 国産大豆の品質 (1). 食品総合研究所研究報告 40 : 35-54.
- 高橋将一・高橋 幹・大木信彦・小松邦彦・中澤芳則・松永亮一・羽鹿牧太 (2013) ダイズ新品種「すずかれん」の育成とその特性. 九州沖縄農業研究センター報告 59 : 1-22.

付記

‘すずかおり’は(国研)農研機構東北農業研究センターより、‘すずおとめ’、‘すずかれん’は(国研)農研機構九州沖縄農業研究センターより提供いただいた。

本研究は文部科学省特別電源所在県科学技術振興事業補助金試験研究課題「病虫害抵抗性を付与した難裂皮性「納豆小粒」の育成」(H31～R5)の中で実施した。

Clarification of Varietal Differences in the Degree of Soybean Seed Coat Cracking and QTL Analysis

Satoshi OKOSHI¹, Takumi MATSUI, Masao IWAHASHI,
Kazuyuki OKAMOTO and Katsunori OKANO

Summary

In order to breed soybeans that are less susceptible to seed coat cracking caused by steaming, which is a problem that occurs during natto processing, we investigated the varietal differences in the degree of seed coat cracking, including in raw and steamed states, for 56 domestic soybean cultivars and lines, and revealed that some cultivars such as ‘Suzukaren’ or ‘Shoryusenbatsukei’ are less susceptible to seed coat cracking. In addition, a linkage map was constructed using a population of 153 recombinant inbred lines derived from a cross between ‘Suzukaren’ and ‘Hitachi4’, a line which is highly prone to seed coat cracking; the resulting linkage map consisted of 30 linkage groups and covered 704cM in genetic distance. Furthermore, QTL analysis was performed and we detected two QTLs that are presumed to be related to the degree of total seed coat cracking. For both QTLs, the ‘Suzukaren’ genotype reduced seed coat cracking, with contribution rates of 8.7% and 12.0%, and they were estimated to be located on chromosomes 6 and 10, respectively.

Keywords: soybean, tolerance to seed coat cracking, QTL analysis

¹ Address: Agricultural Research Institute, Ibaraki Agricultural Center, 3402 Kamikuniichou, Mito, Ibaraki 311-4203, Japan