

8つの収量関連遺伝子座を集積した
極多収ダイズ系統の開発と多収要因の解明

北海道立総合研究機構 十勝農業試験場

山口 直矢

ダイズの国内自給率向上が望まれているにもかかわらず、日本のダイズ収量は近年伸び悩んでいる。このため、日本では多収育種技術の開発が急務である。

これまでにダイズの収量性に関わる遺伝解析の事例は多いが、多収遺伝子座の集積による効果の検証については報告がない。筆者らはこれまでに北海道のダイズ品種「トヨハルカ」と「トヨムスメ」を親とする組換え自殖系統群 (RILs) を用いて、子実収量を向上させる量的形質遺伝子座 (QTL) を検出してきたが、これらの集積効果は未検証である。これらを集積させると、地上部が重くなり倒伏しやすい草型となることが推定される。生育途中で倒伏した場合、群落構造が崩れることにより光合成の効率が落ち、低収となる。したがって、多収遺伝子座を複数集積させるためには、耐倒伏性の改良も必要とされる。耐倒伏性の改良を行うため、同じ RILs を用いて耐倒伏性に関わる効果の大きい QTL である *qLS19-1* を検出した (Yamaguchi et al., 2014)。さらに *qLS19-1* は一次側根数を増やし、押し倒し抵抗性を向上させることを明らかにした (Kitabatake et al., 2019)。また、*qLS19-1* が子実収量や地上部草型に影響を与えないことが明らかとなっている (Yamaguchi et al., 2014)。このため、本研究では 7 つの多収遺伝子座と *qLS19-1* を集積し、既存の品種の収量を大幅に上回る極多収系統を開発する。さらに、集積系統の多収要因を解明し、多収を目的とした交配をデザインする上での資とする。

実験方法

1) 材料

用いた品種および系統はすべて十勝農業試験場 (以下十勝農試) で育成されたものである。QTL 解析には、品種「トヨハルカ」と「トヨムスメ」から育成した RILs192 系統を用いた (Ikeda et al., 2009; Ohnishi et al., 2011)。RILs の世代は 2009 年が F8 世代、2011 年が F9 世代、2012 年が F10 世代である。QTL 集積系統は RIL-57 と RIL-171 を交配し、7 つの多収 QTL と *qLS19-1* を集積した系統である。2019 年は F7 世代である。

2) 連鎖地図の再構築と QTL 解析

過去に報告した連鎖地図 (Yamaguchi et al., 2014) について、プログラム AntMap Ver. 1.2 (Iwata & Ninomiya, 2006) を用いて、再構築した。QTL 解析は過去 3 年分の RILs の子実収量および茎莢重データを用いて行った。茎莢重の算出方法は以下に記す。

$$\text{茎莢重}(\text{kg } 10\text{a}^{-1}) = \text{地上部全重}(\text{kg } 10\text{a}^{-1}) - \text{子実収量}(\text{kg } 10\text{a}^{-1})$$

QTL Cartographer version 2.5 を用いて、Composite interval mapping 法で行った。最小 LOD 値は 3.0 とし、5%水準の閾値は 500 回のパーミュテーションテストによって求めた。異なる年次で同領域に QTL が検出された場合 (10cM 以内)、その QTL は同一のものと判断した。

3) DNA マーカー選抜による QTL 集積系統の開発

RIL-57 と RIL-171 を交配し、F2-F4 世代まで無選抜で世代を進めた。F5 世代 43 系統について、3 枚の葉から DNA を抽出し、PCR で遺伝子型を調査した。DNA 抽出と PCR

は過去の報告に従い実施した(Hwang et al., 2009)。分離する4つのQTLの最近傍マーカーを使用した。すなわち、*qLS19-1*はSat_099(Kitabatake et al., 2019)、*qSY5-2*はSat_271、*qSY8-1*はIcマーカー、*qSY14-1*はBARCSOYSSR_14_0370を用いた。Sat_271のプライマー配列は5'-GCG TCA CTT TAA TCA TTA CAA TAA AAC AAC A-3'および5'-GCG ACT TAG GCA CAC TCT AAT ATA ACC A-3'である。Icマーカーのプライマー配列は「トヨハルカ」型を識別する5'-GAG TTT GAA AAA TGT ATT CTT TCT CTT CC-3'および5'-GTA TCG CAG ATT CCT CCT GC-3'、「トヨムスメ」型を識別する5'-GCA AAC CAA ATC AAG TAA GAG CG-3'および5'-CCC ATT CCT TGA TTG CCT TA-3'である(Ohnishi et al., 2011)。BARCSOYSSR_14_0370のプライマー配列は5'-TTT TTA ATG GAT TTT TAC GCC A-3'および5'-CAA GAG AGA TTG CCT GAG CC-3'である(Song et al., 2010)。6点のQTL集積系統は耐倒伏性かつ多収となる理想遺伝子型を選抜した。すなわち、*qLS19-1*は「トヨハルカ」型、*qSY5-1*、*qSY8-1*および*qSY14-1*は「トヨムスメ」型を選抜した。

4) QTL集積系統の収量試験

収量試験は2019年に十勝農試の育種における慣行法で行った。5月20日に播種した。一区3.5m×4畦で乱塊法3反復の試験を行った。畦幅60cm、株間20cmの2本立ちで栽植密度は16.7m⁻²とした。個体群生長速度の調査のために、生育途中に一区6~8個体をサンプリングし、3日間の熱風乾燥後、葉、茎、莢の乾物重を調査した。成熟期に一区8個体をサンプリングし、収量構成要素を調査した。収穫指数の算出方法は以下に記す。

$$\text{収穫指数(\%)} = \text{子実収量(kg 10a}^{-1}) / \text{地上部全重(kg 10a}^{-1}) \times 100$$

実験結果

1) 子実収量と莢重のQTL解析

149点の多型マーカー(全て共優性マーカー)を用いて、192のRILsから連鎖地図を再構築した。その結果、23連鎖群からなる全長1,335cMの連鎖地図を作製した(染色体8,12,19はつながらなかった)。この連鎖地図を用いて、3年間の収量データを用いて子実収量と莢重のQTLを行った。その結果、子実収量は8つ、莢重は5つのQTLを検出した(表1)。*qBY5-1*、*qBY8-1*、*qBY18-1*はそれぞれ*qSY5-1*、*qSY8-1*、*qSY18-1*の同領域に検出された。一般的に子実収量と莢重が重くなれば、倒伏が起きやすくなるため、耐倒伏性の向上も必要と考えられた。

2) 子実収量QTLと耐倒伏QTLを集積した系統の開発

QTL解析に用いたRILs集団の中から、RIL-57とRIL-171を選定した。RIL-57は多収型の*qSY5-1*、*qSY5-2*、*qSY8-1*、*qSY11-1*、*qSY13-2*、*qSY18-1*を持ち、RIL-171は多収型の*qSY5-1*、*qSY11-1*、*qSY13-2*、*qSY14-1*、*qSY18-1*と耐倒伏性QTLの*qLS19-1*を持つ。RIL-57とRIL-171を交配した分離集団では、*qSY8-1*、*qSY5-2*、*qSY14-1*、*qLS19-1*の4座が分離する。そこで、この集団の世代を進めた43系統の中から、これら4座をDNAマーカーによって選抜し、多収QTL7つと耐倒伏性QTLの合計8QTLを集

積した系統 6 点を選抜した(2555-11, -13, -17, -19, 20, -31)。なお、*qSY13-1* は RIL-57、RIL-171 とともに多収型ではなかったため、本研究では集積することができなかった。

3) QTL 集積系統の収量試験

6 点の QTL 集積系統について収量試験を行った(表 2)。以下、QTL 集積系統を標準品種「トヨムスメ」と比較する。成熟期は 6 系統ともに 4-6 日遅かった。子実収量は 108-120%と多収を示した。中でも「2555-31」は 422kg/10a で 120%と最多収であった。収量構成要素別に比較すると、莢数は 100-130%、一莢内粒数は 103-107%、百粒重は 96-108%であった。集積系統間でも傾向が異なったが、最多収系統「2555-31」では、莢数が多く、一莢内粒数はやや多く、百粒重が軽かった。収量の高い「2555-11」「2555-13」でも同じ傾向であり、QTL 集積系統の多収性は莢数の多さに起因していると考えられた。

表 1. 子実収量と茎莢重の QTL 解析の結果

染色体	年次	位置(cM)	最近傍マーカー	LOD	寄与率(%)	多収遺伝子型	相加効果(g m ⁻²)	QTLの名前
子実収量(SY)								
5	2011	3.0	Sat_267	6.9	14.7	トヨムスメ	27.9	<i>qSY5-1</i>
	2012	19.5	Sat_271	3.3	6.4	トヨムスメ	15.2	<i>qSY5-2</i>
8	2009	44.2	Ic	9.0	17.7	トヨムスメ	26.9	<i>qSY8-1</i>
	2011	40.2	Ic	4.3	9.0	トヨムスメ	22.9	<i>qSY8-1</i>
11	2012	26.9	Satt519	7.0	15.2	トヨムスメ	23.3	<i>qSY11-1</i>
13	2009	43.8	Sct_033	3.5	7.5	トヨハルカ	19.4	<i>qSY13-1</i>
	2011	76.8	Sat_197	6.9	15.7	トヨハルカ	28.9	<i>qSY13-2</i>
14	2009	23.4	BARCSOYSSR_14_0370	4.0	7.3	トヨムスメ	18.9	<i>qSY14-1</i>
	2012	23.4	BARCSOYSSR_14_0370	3.4	6.4	トヨムスメ	15.2	<i>qSY14-1</i>
18	2009	6.7	Satt594	3.6	6.7	トヨムスメ	18.2	<i>qSY18-1</i>
茎莢重(BY)								
2	2011	97.9	Satt542	3.5	5.0	トヨハルカ	16.8	<i>qBY2-1</i>
5	2009	3.0	Sat_267	4.0	2.3	トヨムスメ	11.8	<i>qBY5-1</i>
8	2009	44.2	Ic	7.1	12.2	トヨムスメ	24.8	<i>qBY8-1</i>
18	2011	9.8	Satt594	3.6	7.7	トヨムスメ	17.4	<i>qBY18-1</i>
	2012	5.7	Sat_308	4.6	9.6	トヨムスメ	14.2	<i>qBY18-1</i>
	2011	67.3	Sat_064	4.0	7.8	トヨハルカ	17.3	<i>qBY18-2</i>

注)相加効果は多収遺伝子型の効果を指す

表 2. 8 つの収量関連 QTL を集積した 6 系統の収量試験結果

品種系統	開花期 (月/日)	成熟期 (月/日)	倒伏程度 (0-4)	主莖長 (cm)	主莖 節数	莢数 (/本)	一莢内 粒数	百粒重 (g)	子実収量 (kg/10a)	収穫指数 (%)
トヨムスメ	7/22	10/4	0.3	60.7	9.9	32.6	100	38.8	353	49.9
トヨハルカ	7/21	10/2	0.0	63.0	10.4	30.6	94	40.0	336	53.1
2555-11	7/22	10/9	0.2	64.3	10.5	36.5	112	38.4	406	52.2
2555-13	7/23	10/10	0.0	67.5	10.5	40.0	123	39.6	414	51.6
2555-17	7/21	10/8	0.0	62.1	10.2	36.2	111	41.1	381	52.2
2555-19	7/21	10/8	0.2	65.7	10.4	32.6	100	40.7	392	50.3
2555-20	7/21	10/9	0.2	62.6	10.5	33.7	103	41.9	390	51.3
2555-31	7/22	10/9	0.2	66.7	10.7	42.5	130	37.2	422	53.1

注)倒伏程度:0(無)-4(甚)

4) QTL 集積系統の多収要因の解明

QTL 集積系統の個体群生長速度を調査した。生育期間中の部位別(葉、茎、莢)の乾物重の推移を経時的に調査した結果、「2555-31」は R4 期(莢伸長期)以降、「トヨムスメ」よりも葉と茎の乾物重が重かった(図 1)。「2555-31」の収穫指数は「トヨムスメ」より高く、「トヨハルカ」並であった(表 2)。これらのことから、「2555-31」の多収は、開花以降に葉と茎を増大して光合成産物を増大し、多数の莢をつけ、光合成産物を効率的に転流していることが要因と推定された。

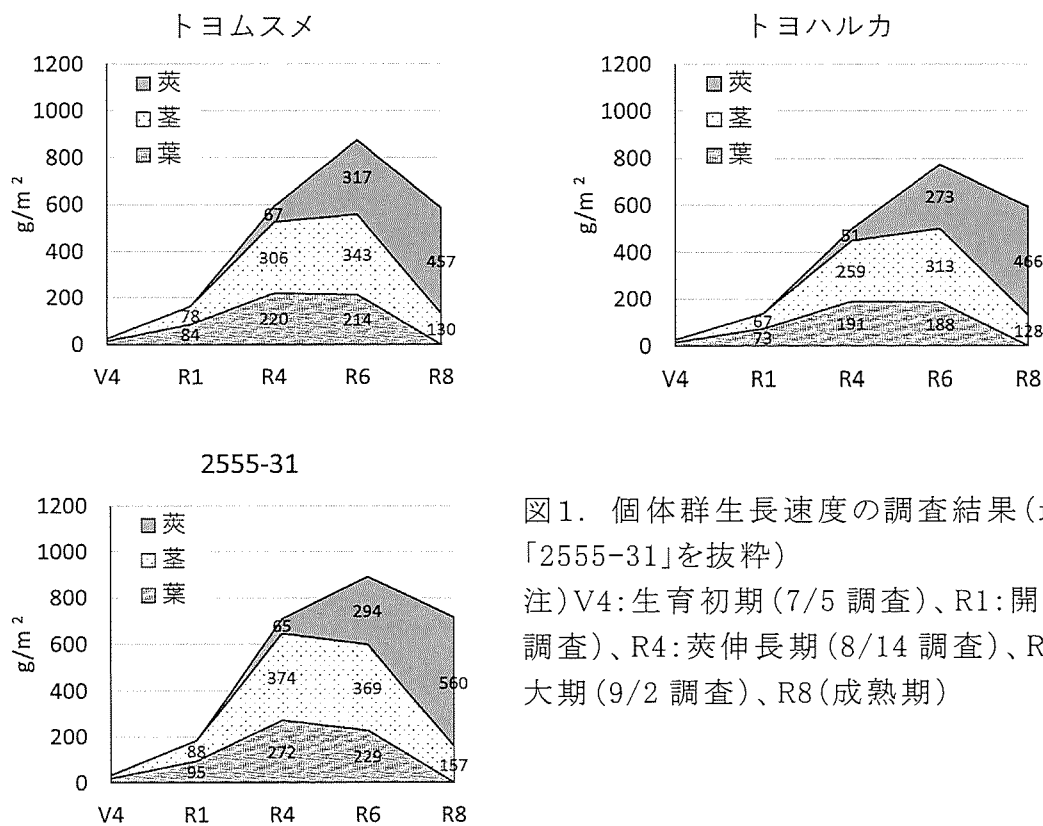


図 1. 個体群生長速度の調査結果(最多収系統「2555-31」を抜粋)

注) V4: 生育初期(7/5 調査)、R1: 開花始(7/25 調査)、R4: 莢伸長期(8/14 調査)、R6: 粒肥大最大期(9/2 調査)、R8(成熟期)

考察

近年、アメリカや日本のダイズ育成場において、遺伝的多様性が低くなっていることが指摘されている(Gizlice et al., 1994; Abe et al., 2003; Harada & Kaga, 2019; Kaga et al., 2012)。遺伝的多様性は収量を改善するために重要と考えられ、外来の遺伝資源が新規の多収遺伝子を持つことが報告されている(Kim et al., 2012; Li et al., 2008; Nelson & Johnson, 2012)。一般的に外来遺伝資源の多収遺伝子を近代品種に導入するには多大な時間と労力がかかる。これは、外来遺伝資源と近代品種の交配により、近代品種が持つ品質、加工適性、病害虫抵抗性等に関わる優良遺伝子の集積を一度崩壊させるためである。本研究では、7つの多収 QTL と耐倒伏性 QTL の計 8 つの QTL を集積させることにより、標準品種「トヨムスメ」比 120% の極多収系統「2555-31」を開発した。QTL 集積系統は「トヨハルカ」と「トヨムスメ」に由来するが、この 2 品種は遺伝的に極めて近縁である(Hwang et al., 2008)。そのため、近縁品種同士の組み合わせにおいても、集団内で交配を繰り返し、多収 QTL を集積すれば、多収系統の選抜が可能である

と考えられた。この多収育種法は今後育種事業でも活用できる。

ダイズではこれまでに 11 の熟性遺伝子座 *E1-E11* が報告されている。本研究において、QTL 集積系統の開花期はほぼ同日であったが、成熟期は遅かった(表 2)。*E1-E11* とは異なる成熟期に関与する QTL が *qSY11-1*, *qSY13-2* および *qSY18-1* の近傍にも報告されている(Komatsu et al., 2012; Li et al., 2008; Wang et al., 2015; Yao et al., 2015)。本研究では、成熟期に関する QTL 解析は実施していないが、Ikeda et al. (2009) は本研究と同じ RILs を用いて、*qSY11-1* 近傍に成熟期に関する QTL を検出している。したがって、*qSY11-1* が QTL 集積系統の成熟期の遅さに寄与している可能性が高い。

2019 年の収量試験において、倒伏は発生しなかった(表 2)。このため、*qLS19-1* の効果は判然としなかった。しかしながら、QTL 集積系統は子実収量が高いため、それに伴い地上部が重くなり、倒伏のリスクは高い。*qLS19-1* の QTL 集積系統における効果を検証するためには、倒伏が多発する年次や環境での更なる収量試験が必要である。

QTL 集積系統間では、莢数や百粒重などの農業形質が若干異なっていた(表 2)。これは、各 QTL の近傍マーカーと責任遺伝子間で乗換えが生じている、もしくは「トヨハルカ」と「トヨムスメ」には更に多くの多収 QTL が存在していることを示唆している。より多くの多収 QTL を検出するためには、更なる高密度連鎖地図の作成および多くの環境下での RILs の収量性評価が必要である。

個体群生長速度の解析から、最多収系統である「2555-31」は、開花以降に葉と茎を増大して光合成産物を増大すると考えられた(図 1)。このため、「2555-31」は個葉の光合成能が高い、もしくは群落としての光合成能が高いと考えられる。これらの要因を明らかにするため、将来的に個葉の光合成能の評価や群落での光の利用効率を調査する必要がある。

要約

これまでにダイズの収量性に関わる遺伝解析の事例は多いが、多収遺伝子座の集積による効果の検証については報告がなかった。本研究では北海道のダイズ品種「トヨハルカ」と「トヨムスメ」を親とする RILs を用いて、子実収量の QTL を 8 つ、莢重の QTL を 5 つ検出した。QTL 解析に用いた RILs 間で交雑を行い、DNA マーカー選抜によって、子実収量の QTL 7 つと耐倒伏性 QTL の合計 8QTL を集積した 6 系統を開発した。これらの QTL 集積系統の収量試験を行った結果、子実収量は標準品種の 108-120%と多収を示した。収量構成要素別に比較すると、特に多収の系統では、莢数が多く、一莢内粒数はやや多く、百粒重が軽い傾向があり、QTL 集積系統の多収性は莢数の多さに起因していると考えられた。最多収系統においては、開花以降に葉と茎を増大し、多数の莢をつけ、光合成産物を効率的に転流していることが多収要因と推定された。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました財団法人タカノ農芸化学研究助成財団に感謝申し上げます。圃場試験においては、十勝農試の研究職員、研究支援職員、契約職員の皆様に多大なご協力を賜りました。感謝の意を申し上げます。

文献

- Abe, J., D.H. Xu, Y. Suzuki, A. Kanazawa, and Y. Shimamoto. 2003. Soybean germplasm pools in Asia revealed by SSR. *Theor. Appl. Genet.* 106:445-453.
- Gizlice, Z., T.E. Carter, and J.W. Burton. 1994. Genetic base for North American public soybean cultivars released between 1947 and 1988. *Crop Sci.* 34:1143-1151.
- Harada, K., and A. Kaga. 2019. Recent genetic research on Japanese soybeans in response to the escalation of food use worldwide. *Euphytica* 215:70.
- Hwang, T.Y., Y. Nakamoto, I. Kono, H. Enoki, H. Funatsuki, K. Kitamura, and M. Ishimoto. 2008. Genetic diversity of cultivated and wild soybeans including Japanese elite cultivars as revealed by length polymorphism of SSR markers. *Breed. Sci.* 58:315-323.
- Hwang, T.Y., T. Sayama, M. Takahashi, Y. Takada, Y. Nakamoto, H. Funatsuki, H. Hisano, S. Sasamoto, S. Sato, S. Tabata, I. Kono, M. Hoshi, M. Hanawa, C. Yano, Z. Xia, K. Harada, K. Kitamura, and M. Ishimoto. 2009. High-density integrated linkage map based on SSR markers in soybean. *DNA Res.* 16:213-215.
- Ikeda, T., S. Onishi, M. Senda, T. Miyoshi, M. Ishimoto, K. Kitamura, and H. Funatsuki. 2009. A novel major quantitative trait locus controlling seed development at low temperature in soybean (*Glycine max*). *Theor. Appl. Genet.* 118:1477-1488.
- Iwata, H, and S. Ninomiya. 2006 AntMap: constructing genetic linkage maps using an ant colony optimization algorithm. *Breed. Sci.* 56:371-377.
- Kaga, A, T. Shimizu, S. Watanabe, Y. Tsubokura, Y. Katayose, K. Harada, D.A. Vaughan, and K. Tomooka. 2012. Evaluation of soybean germplasm conserved in NIAS Genebank and development of mini core collections. *Breed. Sci.* 61:566-592.
- Kim, K.S., B.W. Diers, D.L. Hyten, M.A. Rouf Mian, J.G. Shannon, and R.L. Nelson. 2012. Identification of positive yield QTL alleles from exotic soybean germplasm in two backcross populations. *Theor. Appl. Genet.* 125:1353-1369.
- Kitabatake, T., N. Yamaguchi, T. Sayama, F. Taguchi-Shiobara, H. Suzuki, M. Ishimoto, and T. Yoshihira. 2019 Morphological traits associated with the quantitative trait locus for lodging tolerance in soybean. *Crop Sci.* 59:565-572.
- Komatsu, K., T.Y. Hwang, M. Takahashi, T. Sayama, H. Funatsuki, N. Oki, and M. Ishimoto. 2012. Identification of QTL controlling post-flowering period in soybean. *Breed. Sci.* 61:646-652.
- Li, D., T.W. Pfeiffer, and L. Cornelius. 2008. Soybean QTL for yield and yield components associate with *Glycine soja* alleles. *Crop Sci.* 48:571-581.
- Nelson, R.L., and E.O.C. Johnson. 2012. Registration of the high-yielding soybean germplasm line LG04-6000. *J. Plant Reg.* 6:212-215.
- Ohnishi, S., H. Funatsuki, A. Kasai, T. Kurauchi, N. Yamaguchi, T. Takeuchi, H. Yamazaki, H. Kurosaki, S. Shirai, T. Miyoshi, H. Horita, and M. Senda. 2011. Variation of *GmIRCHS* (*Glycine max* inverted-repeat *CHS* pseudogene) is related

- to tolerance of low temperature-induced seed coat discoloration in yellow soybean. *Theor. Appl. Genet.* 122:633-642.
- Song, Q., G. Jia, Y. Zhu, D. Grant, R.T. Nelson, E.Y. Hwang, D.L. Hyten, and P.B. Cregan. 2010. Abundance of SSR motifs and development of candidate polymorphic SSR markers (BARCSOYSSR_1.0) in soybean. *Crop Sci.* 50:1950-1960.
- Wang, Y., L. Cheng, J. Leng, C. Wu, G. Shao, W. Hou, and T. Han. 2015. Genetic analysis and quantitative trait locus identification of the reproductive to vegetative growth period ratio in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Euphytica* 201:275-284.
- Yamaguchi, N., T. Sayama, H. Yamazaki, T. Miyoshi, M. Ishimoto, and H. Funatsuki. 2014. Quantitative trait loci associated with lodging tolerance in soybean cultivar 'Toyoharuka'. *Breed. Sci.* 64:300-308.
- Yao, D., Z. Liu, J. Zhang, S. Liu, J. Qu, S. Guan, L. Pan, D. Wang, J. Liu, and P. Wang. 2015. Analysis of quantitative trait loci for main plant traits in soybean. *Genet. Mol. Res.* 14:6101-6109.