

ゲノミック予測で実現する
納豆用ダイズの粒大デザイン育種

北海道立総合研究機構 中央農業試験場

山口 直矢

日本の納豆用ダイズの自給率は低く、増産が必要な状況である。国内における納豆用ダイズの主産地は北海道であるが、北海道の主要品種「ユキシズカ」「スズマル R」の粒大区分はいずれも小粒であり、極小粒の優良品種はない状況である。このため、極小粒品種は輸入に頼っている状況が続いており、実需や流通からは極小粒品種の育成が強く求められている。

通常の育種法で極小粒品種を開発するためには、小粒品種「ユキシズカ」よりも粒の小さい品種系統を選定した後に交配して分離集団を養成し、その中から極小粒の個体・系統を選抜する必要がある。しかし、北海道で育種利用している極小粒系統は 2 点と少なく、それらの交配後代は収量性が低いことから、極小粒の品種育成は未だ達成できていない。また、北海道の気象条件に合う新たな極小粒の遺伝資源を見つけるのは難しい。これらの理由から、北海道用の極小粒品種を早期に開発するためには、技術的なブレイクスルーが必要である。

これまでに著者らは納豆用、煮豆・豆腐用を含む幅広い用途のダイズを用いて、ダイズの百粒重を予測するゲノミック予測モデル(GS モデル)を開発してきた。この百粒重の GS モデルの予測精度は高く、遺伝子型情報だけで目的とする粒大を選抜できる技術が確立されつつある。しかしながら、この GS モデルは幅広い用途のダイズで作成したものであり、納豆用に適用させるためには、納豆用の品種系統だけを使った解析が必要とされる。そのため、本研究では、納豆用ダイズだけで百粒重の GS モデルを作成し、その予測精度を検証することを目的とした。百粒重に加えて、納豆用品種に重要とされる成分である全糖含量の GS モデル作成も試みる。更に、既存の百粒重 GS モデルに基づく交配シミュレーションを実施し、交配シミュレーションが極小粒の選抜に有効か検証する。

実験方法

1) 供試材料

用いた材料は品種が 4 点、育成系統が 89 点の全 93 点である。「ユキシズカ」「スズマル R」「スズヒメ」の 3 品種は道総研育成品種であり、「OAC Dorado」はカナダのグエルフ大学育成品種である(Beversdorf et al., 1991)。「OAC Dorado」は北海道でも多収を示す(Yamaguchi et al., 2019)。系統については、全て道総研育成系統であり、世代は F5～F8 である。標準品種は納豆用の基幹品種である「ユキシズカ」とした。

2) 遺伝子型解析および圃場試験

各系統 3 個体の葉から DNA を抽出し、Shirasawa et al. (2016) の方法に準じた ddRAD-seq で一塩基多型(SNP)を検出した。リファレンス配列は Glycine_max_v2.1 を用い、精度の高い 13,418 SNP を検出した。

2024 年に中央農試圃場で各系統 10 個体を栽培し、開花期、成熟期を調査した。ボーダーを除く 6 個体をバルクで収穫し、百粒重、子実収量等を調査した。子実成分は近赤外分光装置 Inframatic 9500(PerkinElmer)を用いて測定した。

3) ゲノミック予測モデルの作成

形質値は百粒重、開花期、成熟期、子実収量、タンパク含量、全糖含量、脂肪含量、

イソフラボン含量の 8 つを用いた。ゲノミック予測は R の rrBLUP パッケージを用いて行った (Endelman 2011)。年次内予測精度は一つ抜き交差検証法 (LOOCV) で算出した。年次間予測精度は 2024 年をトレーニング集団とし、十勝農試での表現型データがある 2021～2023 年をテスト集団として算出した。交配シミュレーションは rrBLUP を用いて、交配後代の各 SNP が分離する場合は理想型を 0.8 の期待値で選抜できると仮定し、総当たり交配によって実施した。

実験結果

1) 納豆用系統を用いた GS モデルの作成と年次内予測精度の評価

93 点の供試材料について、百粒重の平均は $15.8 \pm 3.9\text{g}$ であった。最小値が 7.7g であり、最大値が 27.7g であり、「ユキシズカ」の 14.0g と比較すると材料間での変異が見られた。このため、百粒重の GS モデルは 93 点全て ($n=93$)、7～20g ($n=82$)、7～18g ($n=72$)、7～16g ($n=52$) の 4 つを用いて作成した。各形質の年次間予測精度を表 1 に記す。百粒重は全ての材料を使った場合、0.88 と高い予測精度となった。7～20g の場合は 0.85、7～18g の場合は 0.86 となり、概ね 0.85 以上となることが明らかとなった。7～16g に絞った場合は 0.67 と予測精度がやや劣ったが、これはトレーニング集団とするデータが 52 点と少なくなったことが原因の可能性もある。

その他、開花期、成熟期の予測精度は 0.6～0.7、子実成分は 0.4～0.5 となった。このため、これらの形質についても、ある程度育種選抜に利用できる GS モデルと考えられた。子実収量については 0.3 と低くなったが、本研究では 6 個体による子実収量を用いたため、試験精度が劣ったことが原因と考えられる。反復のある育種規模の収量試験を行えば、精度の改善が期待できると考えられる。

表 1. 各形質の GS モデルの年次内予測精度

形質	年次内予測精度 (r)
百粒重	
7～27g ($n=93$)	0.88
7～20g ($n=82$)	0.85
7～18g ($n=72$)	0.86
7～16g ($n=52$)	0.67
開花期	0.65
成熟期	0.70
子実収量	0.30
タンパク含量	0.43
全糖含量	0.59
脂肪含量	0.50
イソフラボン含量	0.45

注) 子実成分は近赤外分光装置による測定。

2) 百粒重および全糖含量の GS モデルを用いた年次間予測精度の評価

1) で作成した百粒重と全糖含量の GS モデルについて年次間予測精度を算出した。百粒重、全糖含量ともに本研究で作成した GS モデルを用いた(年次内予測精度は百粒重が 0.88、全糖含量が 0.59)。年次間予測精度の評価結果を表 2 に記す。百粒重については、2021 十勝～2023 十勝のいずれのデータセットを用いた場合でも、0.85～0.94 と高い予測精度となった。一方で、全糖含量は 0.06～0.38 と百粒重と比較すると高い予測精度とはならなかった。

表2. 百粒重と全糖含量の GS モデルの年次間予測精度

形質	予測モデル	テスト集団	年次間予測精度
			(r)
百粒重	2024中央 (n=66)	2021十勝 (n=27)	0.94
	2024中央 (n=65)	2022十勝 (n=28)	0.89
	2024中央 (n=77)	2023十勝 (n=16)	0.85
全糖	2024中央 (n=66)	2021十勝 (n=27)	0.06
	2024中央 (n=65)	2022十勝 (n=28)	0.38

3) 百粒重の交配シミュレーションの効果検証

2021 年に納豆用、豆腐・煮豆用を含む 129 点の材料で作成した百粒重の GS モデルを用いた。この GS モデルでは、百粒重のレンジは 13～56g であり、年次内予測精度は 0.96 である。この GS モデルに基づく交配シミュレーションを行い、ユキシズカと交配した場合に更に小粒となり得る交配組合せを探索した。その結果、組合せ順位としては 2 位であった育成系統 A(カナダ品種 OAC Dorado を系譜に持つ)をユキシズカと交配し、F2 集団を養成した。2024 年に中央農試圃場に 490 粒を播種し、成熟期のみの選抜で 102 個体を収穫した。また、比較のために、交配シミュレーションを行っていない組合せとして、育成系統 B とユキシズカとの組合せも養成し、同規模で試験を実施した。これらの 2 集団を比較した結果を表 3 に記す。育成系統 B との組合せでは、ユキシズカより百粒重が軽い個体の割合は 13.0%であったのに対し、育成系統 A との組合せでは 19.6%であった。このため、交配シミュレーションによる組合せ選定は百粒重の軽い系統の選抜に有効と考えられた。

表3. F2 集団を用いた交配シミュレーションの効果検証

交配シミュレーション による選定	組合せ*	調査 個体数	百粒重 (g)			ユキシズカより 百粒重が軽い 個体の割合
			最小	最大	平均	
あり	ユキシズカ(13.7g)×育成系統A(23.3g)	102	10.4	22.1	15.6	19.6%
なし	ユキシズカ(13.7g)×育成系統B(19.0g)	100	11.5	22.3	15.7	13.0%

* () 内は両親それぞれの百粒重。

考察

これまでに *Glyma.15G049200*(Wang et al., 2020), *Glyma.17G109100*(Zhang et al.,

2024), *Glyma.17G112800*(Nguyen et al., 2020)など百粒重を制御する遺伝子単離に関する報告が多数ある。これらの効果が大きい場合、DNA マーカー選抜による育種が有効と考えられる。本研究で用いた北海道の育種材料の一部について、これまでに単離された遺伝子の変異の有無を確認したが、効果の高い遺伝子はなかった(データ省略)。また、本研究で用いた材料 93 点で百粒重のゲノムワイドアソシエーション解析も実施したが、有意 SNP は 1 つしか検出されなかった(データ省略)。一方で、本研究で作成した GS モデルは年次内予測精度、年次間予測精度ともに高かった(表 1、表 2)。2024 年の百粒重の広義の遺伝率は 0.90 と高く、圃場での形質値のバラつきが非常に小さいことが確認できた。これらの結果から、北海道の育種材料においては、百粒重は効果の小さい遺伝子が多数あり、DNA マーカー選抜ではなく、GS および交配シミュレーションを育種に導入するのが有効と考えられた。

これまでにダイズのタンパク含量の改良を目指した交配シミュレーションの有効性検証が行われてきた(Sekine et al., 2021)。本研究では、百粒重の交配シミュレーションの検証を行った(表 3)。交配シミュレーションは多数の遺伝子の組合せを考慮して選定しているため、育種家が百粒重の実測値データで考える組合せとは異なることがある。交配シミュレーションにおいて、育成系統 A の百粒重は 23.3g であり、育成系統 B の 19.0g よりも重く、「ユキシズカ×育成系統 A」は百粒重を軽くする目的で育種家が考える組合せではない(表 3)。それにもかかわらず、「ユキシズカ×育成系統 A」は百粒重の軽い個体の出現頻度が高かった。すなわち、交配シミュレーションは育種家が思いつかないような組合せを選定でき、育種を効率化するツールになることが示された。育種事業において、あらかじめ極小粒が期待できる組合せを交配シミュレーションで選定しておくことで、極小粒かつ収量性が同等の系統の選抜効率が向上すると考えられ、極小粒育種が加速することが期待される。今後は本研究で選抜した個体の世代を進めて、固定を進めた後にも百粒重の軽い系統が得られるか検証するとともに、納豆用系統のみを用いた 2024 年の GS モデルにおける交配シミュレーションで提示した組合せを用いて、有効性の検証を継続する。

本研究では、GS と交配シミュレーションで百粒重を軽くすることに焦点を当てたが、同じ技術は百粒重を重くする育種にも利用可能と考えられる。したがって、近い将来、実需や消費者が求める粒大のサイズをあらかじめ想定して育種を進める「粒大のデザイン育種」が実現する可能性は高いと考えられる。

要約

極小粒品種は輸入に頼っている状況が続いており、実需や流通からは極小粒品種の育成が強く求められている。これまでに作成してきた百粒重のゲノミック予測モデル(GS モデル)は幅広い用途のダイズで作成したものであり、納豆用に適用させるためには、納豆用の品種系統だけを使った解析が必要とされる。そこで、本研究では、納豆用ダイズだけで百粒重の GS モデルを作成し、その予測精度を検証した。本研究で作成した GS モデルは年次内予測精度、年次間予測精度ともに 0.8~0.9 と高く、育種選抜に利用可能な精度であった。また GS モデルを用いた百粒重の交配シミュレーションの実証を行い、百粒重の軽い個体の出現頻度を高められることが確認された。育種事業において、あら

はじめ極小粒が期待できる組合せを交配シミュレーションで選定しておくことで、極小粒かつ収量性が同等の系統の選抜効率が向上すると考えられ、極小粒育種が加速することが期待される。

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。ddRAD-seq 解析については、かずさ DNA 研究所の白澤健太博士、子実成分の測定については、十勝農試の五十嵐秀成氏、北海道大学農学研究院の山田哲也博士、同農学部の中本蒼也氏にご支援頂きました。圃場試験においては、中央農試の研究職員、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。皆様に感謝の意を申し上げます。

文献

- Berversdorf, W.D., Hume, D.J., Gostovic, P., Muscat, J.C., and Pararajasingham, S. 1991. OAC Dorado soybean. Can. J. Plant Sci. 71: 499-500.
- Endelman, J.B. 2011. Ridge regression and other kernels for genomic selection with R Package rrBLUP. Plant Genome 4: 250-255.
- Nguyen, C.X., Paddock, K.J., Zhang, Z. and Stacey, M.G. 2021. GmKIX8-1 regulates organ size in soybean and is the causative gene for the major seed weight QTL *qSw17-1*. New Phytologist 229: 920-934.
- Sekine, D., Tsuda, M., Yabe, S., Shimizu, T., Machita, K., Saruta, M., Yamada, T., Ishimoto, M., Iwata, H., and Kaga, A. 2021. Improving quantitative traits in self-pollinated crops using simulation-based selection with minimal crossing. Front. Plant Sci. 12:729645.
- Shirasawa, K., Hirakawa, H., and Isobe, S. 2016. Analytical workflow of double-digest restriction site-associated DNA sequencing based on empirical and in silico optimization in tomato. DNA Res. 23: 145-153.
- Wang, S., Liu, S., Wang, J., Yokosho, K., Zhou, B., Yu, Y.C., Liu, Z., Frommer, W.B., Ma, J.F., Chen, L.Q., Guan, Y., Shou, H., Tian, Z. 2020. Simultaneous changes in seed size, oil content and protein content driven by selection of *SWEET* homologues during soybean domestication. Natl. Sci. Rev. 7: 1776-1786.
- Yamaguchi, N., Tsuji, Y., Suzuki, H., Kitabatake, T., and Yoshihira, T. 2019. Evaluation of high-yielding Canadian soybean cultivars suited to Japanese growing conditions. Agrosys., Geosci. & Environ. 2: 180061.
- Zhang, H., Yang, L., Guo, S., Tian, Y., Yang, C., Zhao, C., Shan, Z., Wang, Q., Zheng, Z., Li, Y., and Qiu, L. 2024. A natural allelic variant of *GmSW17.1* confers high 100-seed weight in soybean. Crop J. 12: 1709-1717.