

## アズキの起源地と作物進化

独立行政法人 農業生物資源研究所・ジーンバンク

友岡憲彦・加賀秋人・伊勢村武久・ダンカン ヴォーン

### 1. アズキの起源地

現在のところ、アズキの起源地は特定できていないが、最近の研究によると日本が起源地である可能性を支持する情報が増えてきている。起源地の特定には、現存する栽培アズキと野生アズキの遺伝構造に関する地理的分布を明らかにすることと、遺跡から出土するアズキ種子の情報を蓄積することの二つの方向からの研究が必要である。本稿では、これら二方向の研究に関して最近明らかになってきたことを整理しておきたい。

#### 1-1. 現存する栽培アズキと野生アズキの遺伝構造

これまでに行われてきた種子貯蔵タンパク (Isemura et al., 2001) や DNA (RAPD 法 : Yee et al., 1999、Mimura et al., 2000、伊勢村ら2002 ; AFLP 法 : Yee et al., 1999、Zong et al., 2003) を用いた、現存するアズキ遺伝資源の遺伝構造の解析から、以下のようなことが明らかになっていた。

- 1) 栽培アズキの遺伝的多様性が高いのは東アジア (日本、韓国、中国) である。
- 2) ブータンやネパールの栽培アズキは、

東アジアの栽培アズキとはかなり異なるタンパクや DNA プロファイルを持っており、独立起源の可能性も検討する必要がある。

- 3) 日本の野生アズキの遺伝的多様性は高く、その遺伝的構造は日本の栽培アズキに最も近い。
- 4) 中国・揚子江中流域の野生アズキは、東アジアの栽培アズキとネパール・ブータンの栽培アズキとの中間的な遺伝的位置を示す。
- 5) ブータン、ネパールおよびインドのヒマラヤ地域 (ヒマチャルプラデシュ州) の野生アズキは、現存する栽培アズキとはかなり異なった DNA プロファイルを持っており、系統毎に大きな遺伝的分化が進んでいる。

最近我々は、これまでの解析に比べて、より多くの系統を用い、エリモショウズのゲノムから開発した SSR (マイクロサテライト) マーカー (Wang et al., 2004) を用いて栽培アズキと野生アズキの遺伝構造を解析した (Xu et al., 2008)。これまでの解析では、用いた系統数が最も多い研究でも約200系統程度の解析であったが、今回

の解析では、栽培アズキ548系統、野生アズキ68系統、合計616系統を用いた。SSR解析の結果は、概ねこれまでに明らかにされていた結果を支持するものであったが、遺伝子頻度からその個体が所属していた母集団を推定するシミュレーション解析(Structure という解析ソフトを利用)等によって、いくつか新しい知見も得られた。今回の SSR 解析の結果をまとめると次のようになる。

- 1) 栽培アズキの遺伝的多様性が高いのは東アジアであり、日本、韓国、中国の栽培アズキは、それぞれ独自の分化を遂げ、独自の遺伝構造を持っていた。このことは、それぞれの国でのアズキの栽培の歴史が長かったことを示している。
- 2) ブータンとネパールの栽培アズキは、SSR においても東アジアの栽培アズキとは大きく異なる独自性の高い遺伝的プロファイルを持っていた。ネパールの栽培アズキに関して新しく明らかになったことは、東ネパールと西ネパールの栽培アズキの SSR プロファイルが大きく異なっていることである。東ネパールの栽培アズキの SSR プロファイルはブータンの栽培アズキのプロファイルに良く似ていた。一方、西ネパールの栽培アズキの SSR プロファイルは中国の中北部の栽培アズキの SSR プロファイルに高い類似性を示した。
- 3) 独自性の高い DNA プロファイルを持った東ネパール・ブータンの栽培アズキと最も類似した遺伝的プロファイルを持った野生アズキは、揚子江中流域産のものとネパール産のものとのであった。
- 4) 今回の解析では、北海道立十勝農業試験場が2003年に収集したベトナム産の栽培アズキ25系統(島田ら2005)を初めて解析した。その結果、これらのベトナム系統が独自性の高い SSR プロファイルを持っている興味深い遺伝資源であることが明らかになった。また、ベトナムの栽培アズキと同じ母集団を持つと推定された栽培アズキは、中国中南部産のものであった(解析できたのは湖北省と雲南省産のものだけであるが)。さらに、ベトナムの栽培アズキは、高いヘテロ性を持った状態で栽培されていることも明らかになった。
- 5) 日本産の野生アズキの遺伝的多様性は高く、検出されたアジア全体の栽培アズキのアレル(対立遺伝子)変異のほとんどが日本産の野生アズキのアレル変異に含まれていた。このことは、アジアの栽培アズキが日本起源であるとする仮説で栽培アズキの全 SSR 変異をほぼ説明できることを示している。
- 6) ただし、東ネパールとブータンの栽培アズキには、エリモショウズのゲノムから単離した SSR プライマーによって DNA 断片が増幅できない系統が存在した。これらのプライマーでは、中国揚子江中流域の野生アズキとブータン・ネパールの野生アズキのなかの数系統の DNA 断片も増幅できなかった。この事実と 3) で示した東ネパール・ブータン

栽培アズキと揚子江中流域およびネパールの野生アズキの SSR プロファイルの類似性とは、東ネパール・ブータン栽培アズキがこれらの地域の野生アズキから栽培化された可能性があることを示唆している。ただし、これらの現象は、東アジアで起源した栽培アズキが、この地域に伝播した後、この地域に分布している野生アズキと自然交雑を行った結果の遺伝子浸透によるという考え方で説明できる。実際、著者らは2007年にブータンにおいて調査を行った際に、いくつかの野生アズキの自生地において、栽培アズキからの遺伝子浸透によると考えられる種子色や莢色に集団内変異が見られる集団を発見している（2009年度の植物遺伝資源探索調査報告書 Vol.25に掲載予定、島田ら2005のベトナム探索とともに以下の Web サイトでダウンロード可能）。

<http://www.gene.affrc.go.jp/publications.php?section=plant&type=report>。

このように、SSR 解析の結果、アズキの地理的遺伝変異の実態がかなり明らかになってきた。しかし、中国北部の栽培アズキは多数解析できたものの、中国南部の栽培アズキおよび中国の野生アズキの解析数が少なかったことが最も大きな情報不足として残されている。また、栽培アズキに独自性の高い二つの遺伝的なグループ（東アジアの栽培アズキとネパール・ブータンの栽培アズキ）が存在し、それぞれに対応した野生アズキのグループの存在が明らかに

なったが、それが独立起源によるものか、遺伝子浸透によるものかを判別することは困難であるという問題も残されている。現生の遺伝資源の遺伝構造だけから起源の問題に迫ることが困難であることは、全ゲノムの塩基配列の解読が終了し、多くの研究者が複数の遺伝子やゲノム領域に関しての解析を行ってきた栽培イネの起源に関して、ジャポニカ種とインディカ種とが独立起源であるとする説と単一起源であるとする説とがいまだに論争的であることを見ても明らかである（Vaughan et al., 2008）。今後、アズキの起源に関して重要な情報を与えてくれる可能性がある研究としては、野生アズキから栽培アズキが成立する過程で獲得した重要な遺伝子の突然変異が、全栽培アズキにおいて普遍性をもったものであるのか（単一起源を示唆）、地域特異性を持ったものであるのか（多起源を示唆）を明らかにする研究がある。

## 1-2. 考古植物学

栽培イネの少なくともジャポニカ種の地理的な起源地が揚子江の中流域であったという説が世界的に広く受け入れられるようになった理由は、この地域の複数の古い遺跡から野生イネから栽培イネへの栽培植物化を示唆する種子が出土しているからである。ある栽培植物が起源地から伝播によって地理的分布域を広げていった場合、起源地における遺跡からの出土が最も古く、より新しい時代に伝播した地域の遺跡からはより新しい時代の遺跡から初めてその作物

の種子の出土が始まるはずである。このような時間軸にそった植物遺物の出土から、作物の伝播の方向を推定するモデルを考古学において Time-transgressive model と言う。Crawford and Lee (2003) によると、東アジアにおいては、キビ、アワ、イネ、オオムギ、コムギなどの作物では、中国の遺跡からの出土が最も古く、次に韓国の遺跡から出土が始まり、最後に日本の遺跡からの出土が始まる。このことから、これらの作物は、中国から韓国を経て日本へ伝播したと考えられている。ところが、アズキに関しては、現在のところ日本の遺跡からの出土が最も古く（縄文中期）、ついで韓国南部の遺跡からの出土が見られ、最後に中国黄河文明の遺跡からの出土が見られるようになる（吉崎2003、Crawford 2005、遺跡の場所は Tomooka 2007を参照）。このことは、アズキの日本起源説を支持する強力な証拠を提供している。

日本における最も古いアズキの出土は、滋賀県の粟津湖底遺跡（6000年前）からのものである。この遺跡は、縄文早期のものであり、自然流路堆積物から栽培種かどうかは不明であるが、アズキ種子が発見された。次に古いアズキの出土は、福井県の縄文前期（5000-6000年前）の遺跡である鳥浜貝塚からのものである。この遺跡からは、9粒の炭化したマメの種子がヒョウタン種子とともに出土した。これらの種子は、はじめリョクトウではないかと同定されたが、現在では野生あるいは雑草アズキ（あるいは栽培化初期のアズキ）の種子で

あることが判明している。その後、青森県の三内丸山遺跡（4000-5000年前）、鳥取県の桂見遺跡（4000-5000年前）、富山県の桜町遺跡（4000年前）、京都府の桑飼下遺跡（3000-4000年前）などからアズキの種子の出土が見られるようになるという。また、縄文時代中期（5000年前）の酒呑場遺跡から出土した縄文土器から、これまでは弥生初期に日本に伝播したと考えられていた栽培ダイズの圧痕が発見されたというニュースで有名になった山梨県からは、縄文中期の7つもの遺跡から大きさ4～5mmのアズキと考えられる種子が出土しているというのである（保坂ら2008）。

これに対して、韓国でアズキ種子が確認された最も古い遺跡は韓国慶尚南道の南江遺跡（5000年前、野生アズキと考えられる）で日本の最古の遺跡から約1000年後の遺跡である。この他の韓国の古い遺跡で、アズキ種子が発掘されたのは、やはり慶尚南道の茶雲洞遺跡（3000年前、栽培化初期のアズキと考えられる）だけである。一方、中国において発掘された最古のアズキ種子は、山東省龍山文化の両城鎮遺跡（4000年前）から発見されたものであり、日本最古の遺跡よりも約2000年後のものである。ここで出土したアズキの種子サイズは、野生アズキよりも大きく、韓国の茶雲洞遺跡から発見されたアズキ種子と同程度の大きさであるといい、栽培化初期のアズキと考えられている。

今後、特に中国における遺跡調査の進展によって、新しい発見が行われる可能性が

あるが、これまでの証拠はアズキの日本起源説を強く支持している。アズキが出土する古い遺跡の密度と同様に、現存する野生アズキに関しても、中国や韓国と比較して、日本においてその分布密度がかなり高く、このこともアズキの日本起源説を支持するひとつの状況証拠と考えることができる。NIAS ジーンバンクで保存している配布可能な日本の野生アズキの収集地点は、以下のサイトで見ることができる。

<http://www.gene.affrc.go.jp/maps/>

## 2. 野生アズキから栽培アズキへの作物進化（栽培化）の遺伝解析

アズキは、野生種から栽培種へと進化する過程で、種子・葉等の器官を大型化させ、開花習性を変え、種子休眠性や裂莢性を消失させる等、いろいろな形質を変化させてきた。我々は、これらの変化をもたらした遺伝子を明らかにするために、形質の変化に関与した遺伝子がアズキゲノムのどの位置に乗っているのかを明らかにする研究を行っている。このような研究を、栽培化関連形質の QTL (Quantitative Traits Locus : 量的形質遺伝子座) マッピングという。QTL マッピングとは、異なった形質を持つ両親（栽培アズキと野生アズキ）から養成した雑種集団の形質の分離と分子マーカーの分離とを統計的に解析して、それぞれの形質を支配している遺伝子の連鎖地図上の位置を推定することである。マッピングに用いた分子マーカーの多くは、エリモショウズから単離した SSR マーカー

であり (Wang et al., 2004)、その連鎖地図上の位置とプライマーの塩基配列情報は、NIAS ジーンバンクの下記 Web サイトから公開しており、利用者登録後にダウンロードすることができる。

[http://www.gene.affrc.go.jp/databases-marker\\_information.php](http://www.gene.affrc.go.jp/databases-marker_information.php)

本稿では、二つの異なるアズキ雑種集団を用いた QTL 解析の結果を述べたい。一つ目の集団では、ネパール産の野生アズキと徳島産の在来アズキとの間で33形質に関する作物進化 QTL を調べた (Isemura et al., 2007)。二つ目の集団では、山梨県産の野生アズキと京都大納言との間で46形質に関する作物進化 QTL を調べた (Kaga et al., 2008)。両集団に関して、共通して調査した形質は28形質である。これら28形質に関する調査の結果、両方の集団で、同じ位置に検出された QTL の割合は、約40%であった。QTL の中で、作物進化に大きく貢献したと考えられる QTL を次図に示した。この図では、①種子サイズ、②種皮色、③種子黒斑点、④種子吸水性、⑤莢サイズ、⑥裂莢性、⑦茎基部の太さ、⑧生育初期の節間長、⑨つる化性（生育後期の節間長）、⑩上胚軸色、⑪開花まで日数、⑫開花から成熟までの日数という、12形質の変化に関与した遺伝子の連鎖地図上の位置が黒く塗りつぶして示してある。LG1 (Linkage Group 1) は、第一連鎖群を示し、各連鎖地図の上側に形質名が、連鎖群の下側に SSR マーカー名が示してある。形質名の

後ろの括弧内には、その遺伝子座が栽培アズキ型になった場合、どのような形質になるのかが示されている。連鎖群の番号は、Han et al., (2005) で作成したアズキ連鎖地図に基づくものである。

本解析によって明らかになったアズキの作物進化の特徴として、二つの特徴をあげることができる。一つ目は、アズキの作物進化に大きく貢献した遺伝子座は少なく、LG1、2、4、6、7、9という限られた連鎖

群に乗っていたことである。アズキの基本染色体数は11本であるので、そのうちの約半数がアズキの作物化に大きく関与したことになる。二つ目の特徴は、作物進化に関与した限られた連鎖群において、さらに限られた狭い領域に複数の形質を支配する遺伝子(群)が乗っていたことである。以下、下図にしたがってアズキの栽培化関連形質遺伝子の特徴を述べることにする。

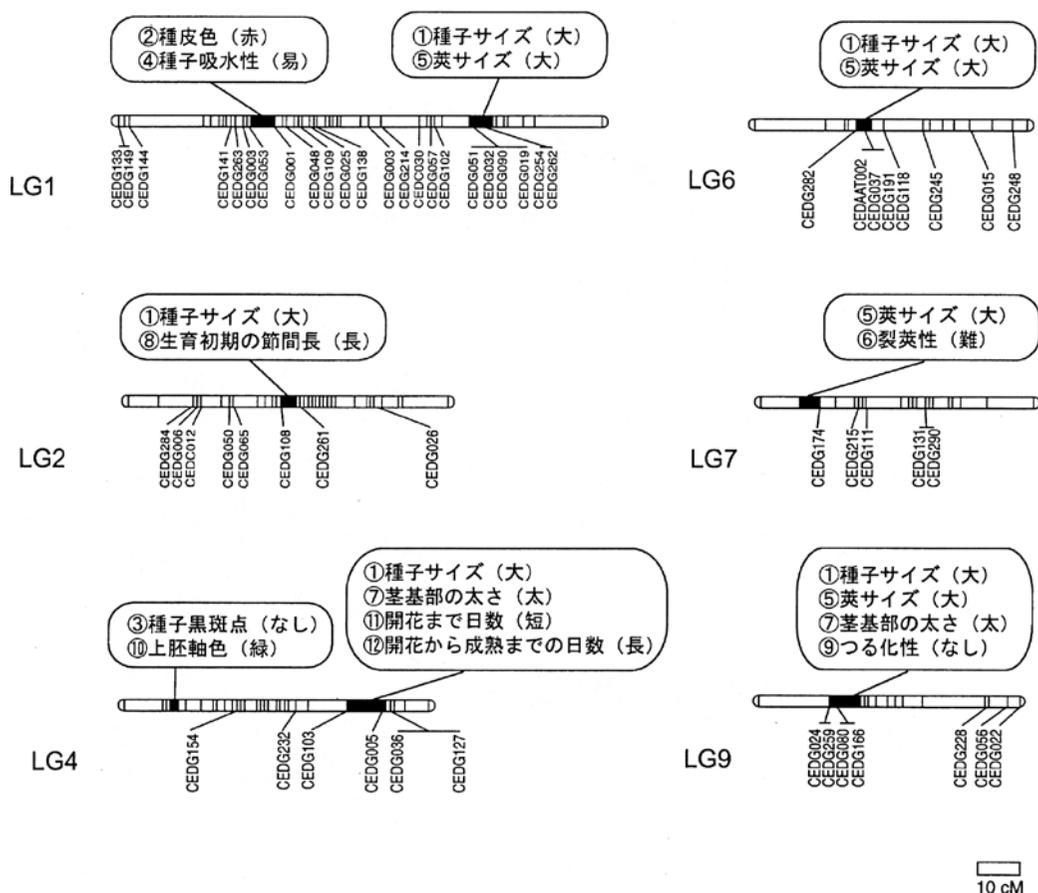


図 野生アズキから栽培アズキへの進化において大きく変化した形質の遺伝子座

(備考) LG1からLG9は、アズキの連鎖群の番号を表す (Han et al., 2005). 連鎖群の黒く塗りつぶされた位置に各形質を支配する遺伝子が座上している。形質名の後ろの括弧内は、その遺伝子座が栽培アズキ型になった場合の表現型を示す。連鎖群の下に示されているのはSSR マーカーの位置。

#### (種子休眠性と赤い種子)

野生アズキの種子は、強い硬皮休眠性を持っており25℃のインキュベーター内で21日間吸水させても、吸水した種子は15%程度であった。一方、京都大納言では90%の種子が吸水した。この差をもたらした最も大きな作用を持った遺伝子は、LG1の左側に見つかった。そしてこの領域には、栽培アズキの種皮色を赤にする劣性遺伝子も乗っていた。これが、同じ遺伝子の多面発現によるものかどうかは今のところ不明であるが、現象としてはアズキの種皮色が赤になると休眠性が消失するという関係が見られることになる。種皮色と種子吸水性に関しては、シロイヌナズナとトマトの突然変異体の解析において、単一の遺伝子突然変異が両形質に多面発現を及ぼしていたことが証明されている。

#### (莢の大型化と裂莢性)

野生アズキの莢は、完熟すると自然に裂莢して中の種子を散布する。一方、栽培アズキでは、完熟後も莢は裂莢しなくなっている。裂莢性の消失は、作物進化における非常に重要な形質変化であるが、LG7に乗っている一つの遺伝子の大きな作用によって制御されていた。この遺伝子座近傍には、栽培アズキの莢を大型化する作用を持った遺伝子も乗っていた。これらが、強連鎖なのか同一遺伝子の多面発現なのかは不明である。

#### (種子とその他の器官の大型化および早晩性)

野生アズキから栽培アズキへの進化においてみられる際だった形質の変化に、器官とくに種子の大型化がある。アズキは、ササゲ属アズキ亜属 (Genus *Vigna* subgenus *Ceratotropis*) に属し、このアズキ亜属からは、インドにおいてリョクトウとケツルアズキが栽培化されている (Tomooka et al., 2002, 2006)。リョクトウやケツルアズキの種子も、栽培化の過程で大型化しているが、現存する栽培種で最も大型化した系統でも、その100粒重は7g程度である。これに対して、解析に用いた京都大納言は100粒重が24g、徳島の在来アズキは100粒重が10.7gであり、アズキでは近縁のリョクトウやケツルアズキよりも際立って大型化した系統が作り上げられている。京都大納言との交雑に用いた野生アズキの100粒重は2.4g、徳島の在来アズキとの交雑に用いた野生アズキの100粒重は1.8gである。この両集団において、共通して検出された種子を大型化する QTL は5個あった。その中で、LG1、LG6、LG9の QTL は、莢のサイズを大型化する QTL とほぼ同じ位置にマップされた。LG9の種子大型化 QTL 領域には、栽培アズキの莢の基部を太くする QTL と、野生種のつる化性をなくする QTL も検出された。LG2に検出された種子大型化 QTL の位置には、生育初期の節間長を長くし、初期成育を促進する QTL も検出された。さらに、LG4に検出された種子大型化 QTL は、莢の基部を太くし、開花まで

日数を短くし、開花から成熟までの日数を長くする QTL とほぼ同じ位置にマップされた。

#### (種子の黒斑点と上胚軸の色)

野生アズキの種皮には多くの黒斑点があるため、一見黒い種子に見えるほどである。一方多くの栽培アズキでは、種皮の黒斑は消失している。また、野生アズキの上胚軸にはほぼ例外なく赤いアントシアンの着色があるが、多くの栽培アズキの上胚軸にはアントシアンの着色がなく緑色である。これら二つの形質を制御する QTL は、LG4 の同じ位置にマップされた。すべての野生アズキ種子に黒斑点があり、上胚軸にアントシアンの着色があることは、これらの形質に自生地において何らかの適応度を高める効果があることを示唆しているが、現在のところその理由は不明である。

このように、アズキの栽培化においては、複数の栽培化関連形質が同じ染色体（連鎖群）のほぼ同じ位置にマップされている。この理由が複数の遺伝子がクラスター上に近傍に位置していることによるのか、一つの遺伝子の多面発現によるのかを解明することは、農民がどのようにして有用な突然変異を見出し、集積してきたのかを考える上で興味深い研究テーマである。また、先にも述べたように、アズキ亜属からは、アジアの各地でリョクトウ、ケツルアズキ、ツルアズキが栽培化されている（友岡ら 2008）。一方、アフリカで栽培化されたサ

サゲは、アジアにおいて莢を長くするという作物進化を遂げ、莢の長さが 80cm に達する品種群ジュウロクササゲを成立させた。これらの作物が栽培化された過程で用いられた遺伝子の中には、種を超えて用いられた遺伝子と、種特異的に用いられた遺伝子とがあるだろう。作物の栽培化に関与した遺伝子の中に、どのような普遍的遺伝子があり、どのような種特異的の遺伝子があるのかを明らかにするために、我々は現在これらの作物間での比較ゲノム解析を進めているところである。数千年という長い年月をかけて、アジア各地の農民たちが見つけ出し、蓄積してきた貴重な有用突然変異遺伝子の実態に迫れるように、今後も作物進化の研究を続けて行きたいと考えている。

#### 引用文献

- Crawford G.W. and Lee G. 2003. Agricultural origins in the Korean peninsula. *Antiquity*: 87-95.
- Crawford G.W. 2005. East Asian Plant Domestication. in Stark M.T. (ed.) *Archaeology of Asia*. Blackwell Publishing. pp.78-95.
- Han, O.K., Kaga, A., Isemura, T., Wang, X.W., Tomooka, N., and Vaughan, D.A. 2005. A genetic linkage map for azuki bean [*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi]. *Theor. Appl. Genet.* 111 (7) : 1278-1287. doi:10.1007/s00122-005-0046-8.
- 坂坂康夫・野代幸和・長沢宏昌・中山誠二

2008. 山梨県酒呑場遺跡の縄文時代中期の栽培ダイズ *Glycine max.* 山梨県立考古博物館・山梨県埋蔵文化財センター研究紀要24: 23-34.
- Isemura, T., Noda, C., Mori, S., Yamashita, M., Nakanishi, H., Inoue, M., and Kamijima, O. 2001. Genetic variation and geographical distribution of azuki bean (*Vigna angularis*) landraces based on the electrophoregram of seed storage proteins. *Breed. Sci.* 51: 225-230.
- 伊勢村武久・石井尊生・斎藤大樹・野田千代・三十尾修司・上島脩志 2002. RAPD 分析により評価した在来アズキ系統の遺伝的多様性. *育種学研究*4: 125-135.
- Isemura, T., Kaga, A., Konishi, S., Ando, T., Tomooka, N., Han, O.K., and Vaughan D.A. 2007. Genome dissection of traits related to domestication in azuki bean (*Vigna angularis*) and comparison with other warm-season legumes. *Annals of Botany.* 1-19.
- Kaga, A., Isemura, T., Tomooka, N., and Vaughan D.A. 2008. The genetics of domestication of the azuki bean (*Vigna angularis*). *Genetics* 178: 1013-1036.
- Miura M., Yasuda K., and Yamaguchi H. 2000. RAPD variation in wild, weedy and cultivated azuki beans in Asia. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 603-610.
- 島田 尚典・大西 志全, Binh, T., and Phong, L. 2005. ベトナム北部における豆類遺伝資源の共同調査収集. *植探報* Vol. 21: 151~165. [http://www.gene-affrc.go.jp/plant/pdf/report/2004\\_2-4.pdf](http://www.gene-affrc.go.jp/plant/pdf/report/2004_2-4.pdf)
- Tomooka N., D.A. Vaughan, N. Maxted and H. Moss. 2002. *The Asian Vigna. Genus Vigna subgenus Ceratotropis genetic resources.* 270 pages. Kluwer Academic Press.
- Tomooka, N., Kaga, A., and Vaughan D.A. 2006. *The Asian Vigna (Vigna subgenus Cetatotropis) biodiversity and evolution. In Plant Genome – Biodiversity and Evolution. Edited by Sharma A.K. and Sharma A. Science Publishers. Enfield (NH) . pp. 87-126.*
- Tomooka, N. 2007. Archaeological remains of azuki bean (*Vigna angularis*). Available at <http://maps.google.co.jp/maps/ms?hl=ja&ie=UTF8&msa=0&msid=101458218381458921300.000001124500bf8f41d2b&z=5&om=1>
- 友岡憲彦・武藤千秋・川野和昭・佐藤洋一郎 2008. 焼畑のモチイネとツルアズキ (DNAから神話まで) 『モンsoonアジアの生態史』 弘文堂
- Vaughan, D.A., Lu, B-R. and Tomooka N. 2008. The evolving story of rice evolution. *Plant Science.* 174 (4) : 394-408. [doi:10.1016/](https://doi.org/10.1016/)

[j.plantsci.2008.01.016](http://dx.doi.org/10.1007/s00122-004-1634-8)

Wang, X.W., Kaga A., Tomooka N., and Vaughan, D.A. 2004. The development of SSR markers by a new method in plants and their application to gene flow studies in azuki bean [*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi], Theor. Appl. Genet. 109 (2) : 352-360. doi:10.1007/s00122-004-1634-8.

Xu, H.X., Jing, T., Tomooka, N., Kaga, A., and Vaughan, D.A. 2008. Genetic diversity of cultivated and wild azuki bean [*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi] as assessed by SSR markers. Genome. in press.

Yee, E., Kidwell K.K., Sills G.R., and

Lumpkin, T.A. 1999. Diversity among selected *Vigna angularis* (azuki) accessions on the basis of RAPD and AFLP markers, Crop Sci. 39 (1) : 268-275.

Available at <http://crop.scijournals.org/cgi/content/abstract/39/1/268>

吉崎昌一2003. 先史時代の雑穀. 『雑穀の自然史－その起源と文化を求めて』 pp. 52-70. 北海道大学出版会.

Zong, X.X., Kaga A., Tomooka N., Wang X.W., Han O.H. and Vaughan D.A. 2003. The genetic diversity of the *Vigna angularis* complex in Asia. *Genome* 46: 647-658.