

令和4～6年度豆类振興事業試験研究 「京都アズキ遺伝資源の類縁関係の 解明とミニコアコレクションの開発」

京都先端科学大学教授 船附 秀行

京都府中部から兵庫県東部にまたがる、旧丹波国に相当する地域では、古くから大納言小豆が名産品として知られている。1645年に刊行された「毛吹草」²⁾にも既にその言及がある¹⁾。粒の大きさや風味の良さが特徴で、現在でも「丹波大納言」は、高級銘柄として取引されている。一部で誤解があるが、「丹波大納言」は品種名ではなく、この地域で生産された大納言小豆の総称、いわば銘柄であり、複数の品種で構成される¹⁾。古くは多くの在来品種で構成されたと考えられるが、京都府では、「京都大納言」が1981年に奨励品種に採用されて以降、急速に在来品種の数が減り、現在は、「馬路大納言」や「瑞穂大納言」など、いくつかの品種に限られた産地に残されているに過ぎない。

在来品種は、品種改良（専門的には育種という）の材料として、しばしば利用される。材料となる品種、そしてそれがもつ遺伝子のバリエーションは大きければ大きいほど選択肢が広がり、目的とする新品種を開発できる可能性が高い。したがって、多様な在来品種は価値が高い育種素材（遺伝資源）とみなされる。つまり、在来品種の減少は未来への財産を失っているに等しい。

アズキ遺伝資源の急速な消失に危機感を抱いた京都府の試験研究機関（1986年当時：京都府農業総合研究所、現在：京都府農林水産技術センター）では、1986年から京都府内各地で栽培されていたアズキの種子を収集し、保存してきた²⁾。他県から収集された系統も含め、これまでにアズキ遺伝資源として登録された系統数は350に上る。さらに1988年から遺伝資源の評価に取り組んでおり、開花期、成熟期、種皮色、莢色、百粒重など基本的な農業形質のデータも記録されている。これらは、非常に貴重な育種素材とそれに付随する情報である。

しかしながら、その数が多いため、維持・保存にかかる負担は大きい。比較的狭い地域から収集しているため、遺伝資源の中には、由来をたどれば同じ品種があったり、非常に似通った系統があったりする可能性が高いが、調査した形質からのみ判断するのは困難なため、すべての系統が同じ重要度で維持・保存されている。

近年、遺伝資源の類縁性の評価にDNA解析が用いられている³⁾。品種・系

統間でDNAの塩基配列の違いを比較することで、遺伝的距離、すなわち類縁関係が推定できるからである。いわゆる次世代シーケンサーの登場でその効率も上がっている。

そこで本研究では、諸形質に関する先行研究での調査結果⁴⁾を評価し直すとともに、DNA配列の違いの大きさを指標として、京都府農林水産技術センターで保存されている小豆遺伝資源（以下、京都アズキ遺伝資源と称する）の類縁性を評価し、重複している遺伝資源を整理し、できるだけ少ない数で多様性を維持できる遺伝資源のセット、いわゆるミニコアコレクションを開発することを目的とし、試験研究を進めた。

注：松江重頼編。江戸前期の俳諧論書だが、諸国名物なども収録

● 基本的農業形質の再評価

先行研究²⁾での特性調査は、1989年から2007年までの間に、12回（12年）行われ、ほぼすべての遺伝資源についてデータが記録されている。しかし、そのデータに基づき、単純に遺伝資源の比較をすることはできない。なぜなら、同一条件でのデータ取得となっていないからだ。1年で調査できる遺伝資源数は限られるため、異なる年度に調査した結果がリスト化されている。年度が異なれば、栽培環境（温度、降水量、日射量等）も異なることから、同じ遺伝資源であっても同じデータは得られない。そこで、すべての試験において栽培されていた「京都大納言」を比較対照とすることで、京都アズキ遺伝資源の開花期および百粒重の分布を再評価した。

開花期は「京都大納言」並みかやや遅い系統が多かったが、早生のものでは「京都大納言」より13日早く、北海道の品種並みのものがあり、晩生のものでは、8日程度遅いものがあった（表1）。一方、百粒重は、「京都大納言」

表1 京都アズキ遺伝資源とミニコアコレクションにおける形質の変異

形質	京都アズキ遺伝資源全体 (調査系統)	ミニコアコレクション
開花期	-13日～+8.5日 ¹⁾	-11日～+8.5日
百粒重	-21.5g～+4.5g ¹⁾	-21.1g～+4.1g
莢色	黄白色、淡褐色、褐色、暗褐色	黄白色、淡褐色、褐色、暗褐色
種皮の地色	黄白色、淡赤色、赤色、暗赤色、 黒色、淡褐色、緑色、黄褐色	黄白色、淡赤色、赤色、暗赤色、 黒色、淡褐色、緑色、黄褐色

1) 開花期と百粒重は「京都大納言」を基準(0)とした値

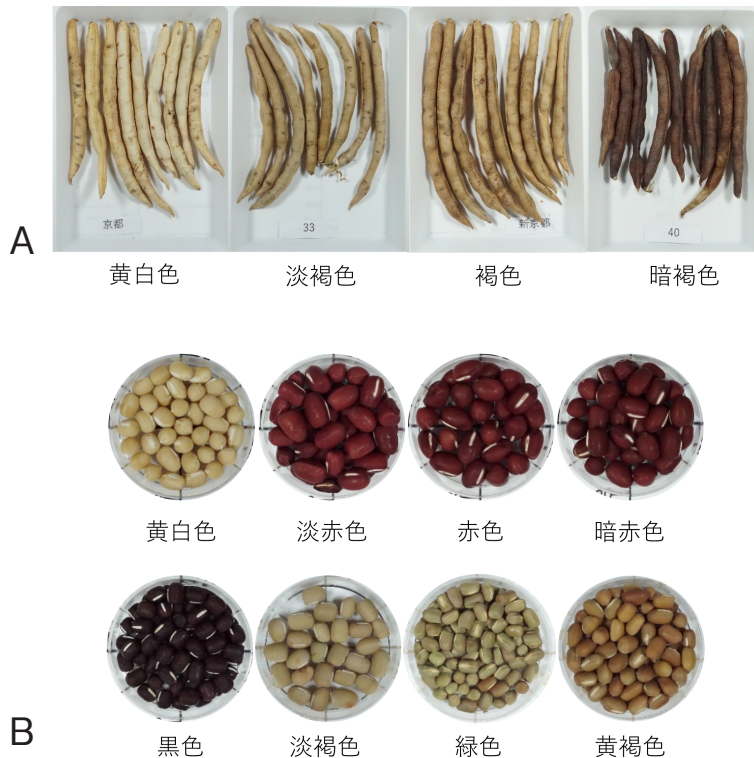


図1 京都アズキ遺伝資源に見出された莢色(A)と種皮色の変異(B).

並みの大粒の系統が多かったが、小さいものでは野生アズキ並みであり、「京都大納言」を4g程度上回る極大粒の系統も存在した。

莢色や種皮色については、段階的な評価値となっているが、先行研究では、年により使用されている評価値が異なっておりそのままでは利用できなかったことから、2022年～2024年まで京都先端科学大学圃場および京都府農林水産技術センター農林センターの圃場で栽培し、再調査した。評価値は、農林水産省の審査基準⁴⁾に従った。その結果、莢色は4階級の評価値があるが、そのすべてが観察され、種皮色については、9階級の評価値があるが、そのうち8階級が観察された(図1)。

● DNA配列に基づく類縁性の評価

農業形質は環境の影響を受けるため、遺伝的には同じ(DNA配列が同一)でも異なった表現型(外見や生理機能として実際に現れた特徴)を示したり、逆に、遺伝的には異なっても同様の表現型を示したりすることもある。

したがって、類縁性はDNAで評価するのが望ましい。本研究では、次世代シーケンシング技術を利用したGRAS-Di法を使用し、京都アズキ遺伝資源のDNA配列を調査した。GRAS-Di法は図2に示すように、ゲノムの多数の箇所をPCRで増幅し、その産物のDNA断片の両端の配列を解析する技術である。つまり、ゲノムの広範囲にわたる領域の一部を少しずつピックアップし、DNA配列の異同を品種・系統間で判定できる。

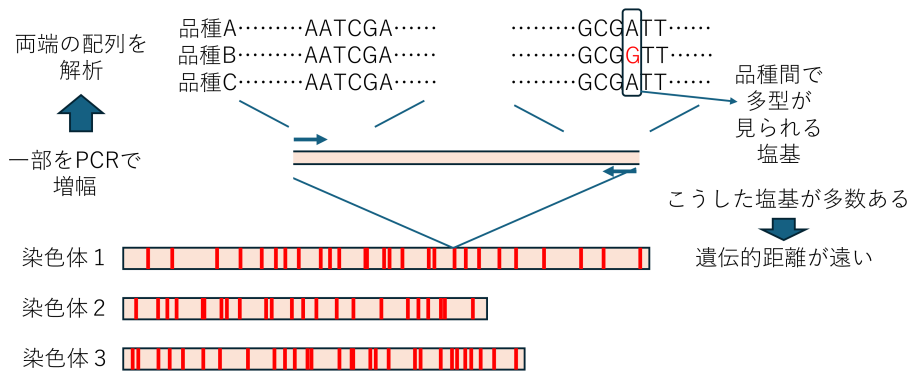


図2 GRAS-Di法の原理

ゲノム中の多数の箇所を、ランダムプライマーを用いてPCRで増幅し、その断片の両端の100-150のDNA配列を次世代シーケンサーで調べる方法。例えば、図中の赤い箇所をそれぞれ増幅し、その両端のDNA配列に品種・系統間で違いが見られれば、いわゆるDNA多型が存在することになり、DNAマーカー化が可能。DNA（塩基）配列の違いの寡少で系統間の遺伝的な距離が決定する。

種子が消尽しているものや複数の種皮色の種子が混在しているものを除いて、すべての京都アズキ遺伝資源についてGRAS-Di解析を行った。2022年と2023年に、約半数ずつ行い、解析精度が低かった遺伝資源については、2024年度に再解析を行った。3回の実験で共通して塩基多型（DNAの塩基配列が遺伝資源間で異なっていた箇所）を検出できたのは193か所であった。

193か所の塩基配列に違いの見られない遺伝資源を極近縁の同じグループとすると、京都アズキ遺伝資源には114のグループが存在することが明らかになった（表2）。その中で、最多の104点の遺伝資源で構成されたのは、現在、京都府内で最も普及している「京都大納言」が属するグループであった（表2）。「京都大納言」は育成品種であるが、由来は福知山近隣の在来品種の純系選抜によるものであり、もととなった在来品種が京都府内で広まっていた可能性がある。また、遺伝資源の収集が「京都大納言」の普及後であったため、栽培されていた「京都大納言」そのものが収集された可能性も考えられる。そのほか、亀岡市の著名な在来品種である「馬路大納言」と近縁な系統も39点

存在した。近隣の在来品種「瑞穂大納言」や「丹波太鼓」もそれに含まれた。「馬路大納言」については1000年以上の歴史があると伝わるように⁵⁾、これらは、古くから著名な在来品種で、広く種子が広まっていた可能性も考えられる。これらの整理により、大幅に保存点数を削減できると想定された。その他、いくつか小さなグループが見られた。さらに、単独で他の系統と区別されるものが86点存在した。

表2 DNA多型に基づく京都アズキ遺伝資源の近縁のグループとその構成遺伝資源数

構成する遺伝資源数	グループ数	備考
100以上	1	京都大納言を含むグループ
10～99	3	1つは、馬路大納言を含むグループ
5～10	2	
4	2	
3	3	
2	17	
1	86	
計	114	

●ミニコアコレクションの選定

ミニコアコレクションには、極近縁の遺伝資源で構成されるグループからは代表を1つ選定する一方、1つの遺伝資源のみが他のものとはかなり遺伝的距離をとって離れているものは、すべて選定することが望ましい。専用のプログラム (Core Hunter 3⁶⁾) を利用し、仮のミニコアコレクションを70系統選定した。その作業は、表2の114のグループをさらに70に統合し、各グループから代表を選出することに相当する。仮のミニコアコレクションはDNA情報のみによって選定したが、近縁でも農業形質に大きな違いがみられたものは、ミニコアコレクションに加え、暫定ミニコアコレクションとした。全部で80点となった。これらは、基本的にDNAの変異ができるだけ大きくなるように選定されたものだが、結果的に開花期や百粒重のバリエーション (変異) の幅 (開花期: 早生から晩生まで、百粒重: 小粒から極大粒まで) は概ね維持されている (表1)。また、分布に大きな偏りのあった莢色や種皮色については、重複が減少することで、偏りが小さくなる方向になっていた (図3)。これらの結果は、DNA情報に基づくミニコアコレクションの選定の妥当性を示唆している。

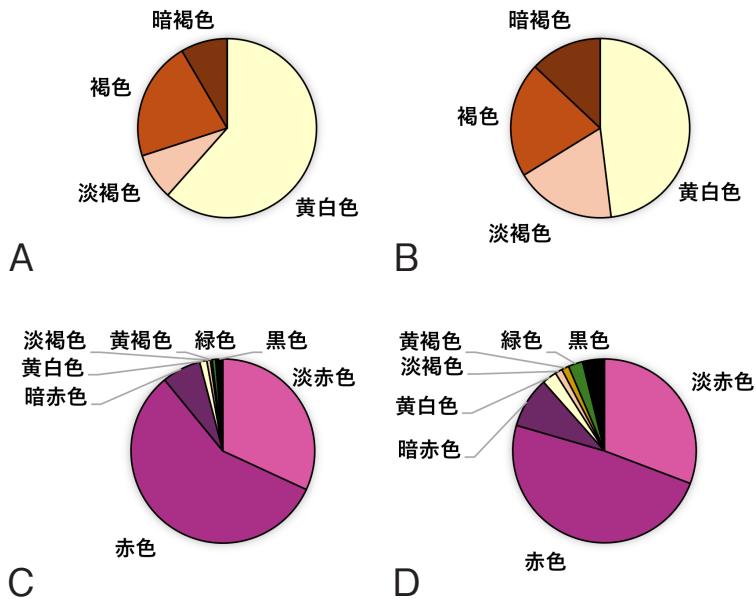


図3 京都アズキ遺伝資源とミニコアコレクションにおける英色と種皮色の構成
A,C: 京都アズキ遺伝資源, B,D: ミニコアコレクション, A,B: 英色, C,D: 種皮色

● 今後の展望

近年の気候変動により、多くの作物がその影響を受けているが、京都のアズキ産地を含む丹波地域においても甚大な被害が報告されている。例えば、2024年には、猛暑と干ばつにより一部の地域で壊滅的な減収となった⁷⁾。こうした問題に対処していくため、耐暑性や耐乾性をもった新品種の育成や新たな作型の開発などが喫緊の課題となっている。新たな作型にはそれに適した品種が望まれ、やはり新品種開発が必要となる。本研究で開発された京都アズキ遺伝資源のミニコアコレクションは、遺伝資源の維持、保存の省力化に貢献するだけでなく、育種素材のスクリーニングの効率化にも寄与することが期待される。また、本研究では暫定のミニコアコレクションを選定したが、極近縁の遺伝資源で構成されるグループの代表は、置き換えが可能なので、来歴等も確認しつつ最終的なミニコアコレクションを選定することが望まれる。

● 謝辞

本研究は、公益財団法人日本豆類協会からの研究助成（令和4年度～6年度）を受け、京都府農林水産技術センター農林センター（担当者：杉本充氏（令

和4年度)、尾崎耕二氏(令和5~6年度))と共同で実施した。また、種子の一部は馬路大納言活性化委員会から提供された。関係者各位に深甚なる謝意を表す。

●引用文献

- 1) 島原作夫：伝統産地の大納言小豆と和菓子. 豆類時報, 77, 27-34(2014)
- 2) 杉本 充 他：京都府農業総合研究所が保存する豆類遺伝資源の特性. 京都府農業研究所研究報告, 31, 26-77 (2009)
- 3) Mondini, L., et al.:Assessing Plant Genetic Diversity by Molecular Tools. Diversity 1, 19-35(2009)
- 4) 農林水産省：審査基準・特性表(区分順)農林水産植物種類別審査基準小豆種.
<https://www.maff.go.jp/j/shokusan/hinshu/info/kijun/1650.pdf>(2024)
- 5) 馬路大納言活性化委員会：馬路大納言の歴史.
<https://umajidainagon.sub.jp/rekishi.html>(2026)(2026-4-19参照)
- 6) De Beukelaer, H., et al.:Core Hunter 3:flexible core subset selection. BMC Bioinformatics 19, 203(2018)
- 7) 南 真臣：丹波特産小豆「ほぼ全滅」. 京都新聞, 12月25日朝刊(2024)