

博士論文要約 (Summary)

2016 年 4 月入学

連合農学研究科 生物資源科学専攻

氏 名 野中 光代

タイトル	セイヨウナタネ (<i>Brassica napus</i> L.) の革新的な品種育成のための基盤的研究
<p>セイヨウナタネ (<i>Brassica napus</i> L.) は世界的に重要な油糧作物である。近年、輪作・水田転作の作物として国内における生産量は増加傾向にあるが、それに伴い生産現場や実需業者では多くの課題が生じている。アブラナ科作物共通の難防除の土壌病害の一つに根こぶ病がある。国内では油糧用の抵抗性品種が育成されていないために、本病害による被害が拡大している。また、種子品質はそれらを原料として用いて製造される圧搾油の品質に大きく影響するが、国内のセイヨウナタネ普及品種における種子品質は十分に評価されていない。さらに、F₁ 品種は収量性等が優れるため国内向け品種の育成が望まれており、自家不和合性を利用した新たな F₁ 育種システムの利用が有望と考えられるが、実用化に向けた取り組みは行われていない。本研究では、これらの課題の解決を可能とするセイヨウナタネ品種育成のための研究を行った。</p> <p>第一章 根こぶ病抵抗性セイヨウナタネ系統の開発</p> <p>根こぶ病菌には複数の病原型が存在することが知られているが、国内のセイヨウナタネ圃場での病原型の動態は明らかではなかった。そこで、国内産地 6 地点から採取した根こぶ病菌について、国内のハクサイ F₁ 品種を用いた判別方法により病原型を調査し、グループ 2 およびグループ 4 の病原型が含まれることを明らかにした。そこで、これらの病原型に対して抵抗性を示す <i>B. rapa</i> の 2 つの根こぶ病抵抗性遺伝子座 <i>Crr1</i> および <i>Crr2</i> を戻し交雑とマーカー選抜により国内のセイヨウナタネ普及品種に導入し、根こぶ病抵抗性セイヨウナタネ系統の育成を試みた。</p> <p>キャベツの F₁ 品種「うめ吉」を種子親、根こぶ病抵抗性遺伝子座 <i>Crr1</i> および <i>Crr2</i> を持つハクサイ「はくさい中間母本農 9 号」を花粉親に用いて作成された根こぶ病抵抗性の合成ナプスにナバナ在来品種である「長島在来 1」 (<i>B. napus</i>) を交雑し、さらに、セイヨウナタネ品種「キザキノナタネ」を交雑した系統を育成された系統を農研機構野菜茶業研究所 (現・農研機構野菜花き研究部門) から提供を受け、<i>Crr1</i> 座に連鎖する SSR マーカーである BSA1 と <i>Crr2</i> 座に連鎖する BRMS-096 を用いて選抜を行い、<i>Crr1</i> および <i>Crr2</i> を持つ個体を抵抗性親として用いた。</p> <p>暖地・温暖地向き根こぶ病抵抗性系統としては、暖地・温暖地向きの無エルカ酸品</p>	

種「ななしきぶ」を連続戻し交雑親として用いて「東北 106 号」を開発した。この系統は国内 6 地点から採取した菌株を用いた幼苗接種検定および福岡県築上町における現地汚染圃場において罹病個体が発生せず、安定的な抵抗性を発揮した。また、岩手県盛岡市および福岡県築上町の清浄圃場での栽培試験では、収量はやや劣るものの、開花期、成熟期、千粒重等の他の農業特性は反復親である「ななしきぶ」とほぼ同程度であった。築上町の汚染圃場での栽培試験では、草丈は「ななしきぶ」より高く、収量は「ななしきぶ」より 8-55%多かった。以上より、「東北 106 号」は優れた農業特性を持つことから「CR ななしきぶ」として品種登録出願を行った。

寒地・寒冷地向き系統については、寒地・寒冷地向きの無エルカ酸品種「キザキノナタネ」を反復親として用いた連続戻し交雑に行った BC₆系統において、*Crr1* と *Crr2* を持つ選抜個体は種子中に栄養学的に望ましくないエルカ酸を含有していた。これは、エルカ酸の生合成を制御する *BnFAE1.1* が *Crr1* と同じ A8 染色体上に座乗しており、本研究で用いた抵抗性親である「はくさい中間母本農 9 号」がもつ高エルカ酸対立遺伝子が交雑により導入されたためであると考えられた。そこで、無エルカ酸対立遺伝子の DNA マーカーを用いて、*Crr1* をもち、かつ無エルカ酸である個体の選抜を試みた。*BnFAE1.1* における SNP (一塩基多型) を検出するため、高エルカ酸および無エルカ酸それぞれの対立遺伝子特異的なフォワードプライマー *BnFAE1.1_tori827misF* および *BnFAE1.1_kira827misF* を設計した。これらのプライマーを用いて *Crr1* と *Crr2* を持つ BC₇32 個体における遺伝子型を調査したところ、無エルカ酸マーカーホモ型の 13 個体由来の BC₇S₁ 種子におけるエルカ酸含量は全て 0.0%であり、ヘテロ型の 19 個体由来の BC₇S₁ 種子におけるエルカ酸含量は 0.0~32.4%とであった。このことから、設計したプライマーは無エルカ酸個体の選抜に有用であると考えられた。さらに、選抜した BC₇個体の自殖により *Crr1* と *Crr2* を持ち無エルカ酸の寒地・寒冷地向き系統を育成した。また、幼苗接種検定によって本系統が根こぶ病菌の病原型グループ 4 の Yokohama 菌に対して抵抗性を示すことを確認した。

第二章 セイヨウナタネの種子品質安定化に関する解析

国内の主要な普及品種 6 品種「ななしきぶ」、「キラリボシ」、「キタノキラメキ」、「キザキノナタネ」、「ななはるか」および「オオミナタネ」の計 6 品種を供試材料として、2013-2014 年、2014-2015 年、2015-2016 年および 2016-2017 年に農研機構東北農業研究センター (岩手県盛岡市) 内の圃場において栽培を行い、圧搾油の品質に影響する種子品質に関わる形質として、種子重、含油率、種子中のクロロフィル含量およびトコフェノール含量に着目して評価を行った。種子中のクロロフィルは早刈り収穫した場合の残存が問題となっていることから、機械収穫適期の 7~10 日目の成熟期を早刈りの基準と設定し、成熟期前後に経時的にサンプリングを行い含量の変化を調査した。成熟期におけるクロロフィル含量には品種間差異が認められ、2013-2014 年、2014-2015 年、2015-2016 年の 3 カ年ともに、成熟期における「オオミナタネ」のクロロフィル含量は、供試した複数の品種と比べて有意に少なかった。また、変動のパターンにも品種間差異が認められ、「ななしきぶ」および「キザキノナタネ」は成熟期 8 日後まで減少していく傾向を示したが、「キラリボシ」では成熟期から 4 日後にかけ

て増加しその後減少に転じる変動パターンを示した。また、2016-2017年の第一次分枝に着生した莢に含まれる種子中のクロロフィル含量は、成熟期前に急激に減少していることが明らかになった。種子重、含油率、トコフェロール含量についても品種間差異が確認され、「オオミナタネ」の成熟期における含量は、2013-2014年、2014-2015年、2015-2016年の3カ年ともに含量が最も少ない「キラリボシ」の1.5~3倍程度の値を示し、3カ年ともに「キラリボシ」より有意に多かった。一方、種子重、含油率、トコフェロール含量については成熟期以降の変化は少ないことが分かった。以上から、種子重、含油率およびトコフェロール含量は成熟期以降の早刈りによる影響が少ないが、クロロフィル含量については早刈りにより大幅に増加することを明らかにした。これらの結果は、国内のセイヨウナタネ生産における種子品質向上のための品種選定、栽培・収穫体系の確立に有用な知見になると考えられる。

さらに、成熟期におけるクロロフィル含量が多い「ななしきぶ」を種子親、含量が少ない「キラリボシ」を花粉親とした交雑由来のF₂集団(2016-2017年97個体、2017-2018年98個体)を用いて ddRAD-seq 解析を行った。抽出された SNPs を用いて連鎖解析を行い、計 1,748 マーカーが座乗し、セイヨウナタネの染色体数と同数の 19 連鎖群からなる全長 1706cM の連鎖地図を構築した。2カ年の種子品種に関する形質の評価結果を用いて QTL 解析を行ったところ、種子重、グルコシノレート含量および Progoitrin 含量に関連した QTL が検出されたが、いずれの QTL も 2カ年で共通しておらず、クロロフィル含量についての QTL は検出されなかった。以上より、種子品質に関わる形質、特にクロロフィル含量は環境の影響を受けやすいことが示唆された。今後は海外品種を含むより多くの遺伝資源から成熟期以降のクロロフィル含量の差異がより大きい品種を選定するとともに、栽培条件や収穫後の管理条件の検討、組換え自殖系統群 (RILs) の利用などを考慮した実験系を組むことで形質値の精度を高めることにより遺伝的要因の解明が可能になると考えられる。また、既存のクロロフィル関連遺伝子の発現量やアブシシン酸含量の変化を調査するなど多方面からのアプローチも必要であると考えられる。

第三章 自家不和合性を利用した F₁ 育種システム実用化に向けた検証

自家不和合性を利用した F₁ 採種システムでは花粉親として利用できる S ハプロタイプが限られている。そこで、近年の国内外における普及品種や育成システムを用いた S ハプロタイプの調査を行い、供試した国内品種 9 品種のうち 8 品種、育成システムについては供試した 6 系統全て、海外品種については 10 品種のうち 9 品種の S ハプロタイプは *BnS-1*; *BnS-6*、1 品種は *BnS-2*; *BnS-7* であり、多くの品種・システムが自家不和合性を利用した新たな F₁ 育種システムにおける花粉親として利用可能であることを明らかにした。一方、国内品種 1 品種は *BnS-6*; *BnS-7* と花粉親として利用できない S ハプロタイプであったため、花粉親の選定には S ハプロタイプの判定が必要であることが分かった。

暖地向き無エルカ酸品種「ななはるか」 (*BnS-7*; *BnS-6*) を種子親、*BrS-44* を持つ *B. rapa* を花粉親として用いた交雑を行い、得られた F₁ に「ななはるか」を花粉親とした連続戻し交雑および S ハプロタイプのマーカー選抜を行い、得られた系統の自殖により *BrS-44* をホモに有する種子親系統 (*BrS-44*; *BnS-6*) を作出した。他の個体からの受

粉を妨げるため、開花始めの花序に紙袋を被せた状態で栽培したところ、供試した 10 個体のうち 1 個体には種子 1 粒を含んだ 1 莢が着生したが、残りの 9 個体は着莢および結実しなかったことから、作出した種子親系統は自家不和合性であることが確認できた。また、作出した種子親系統と「Tower」(*BnS-1;BnS-6*)、「Bronowski」(*BnS-2;BnS-6*)をそれぞれ花粉親として用いた交雑により得られた F₁ は、着莢率がそれぞれ 50.9%、37.4%、一莢あたりの粒数が 13.5 粒、15.6 粒となり、自家和合性であることが確認できた。さらに、作出した種子親系統 5 個体、花粉親として「Tower」5 個体を用いてミツバチの放任受粉による雑種種子の採種試験を行ったところ、種子親から収穫した種子を用いて F₁ 種子純度を調査したところ 48.2%から 85.5%となり、海外の種苗会社 A 社における基準値である 90%を満たさなかった。

また、2016-2017 年および 2018-2019 年に国内品種および育成系統の F₁ を用いた組み合わせ能力検定試験の実施し、2016-2017 年は東北 102 号×東北 103 号、2018-2019 年は東北 102 号×東北 105 号、東北 103 号×東北 102 号、東北 103 号×東北 105 号、東北 105 号×東北 102 号および東北 105 号×東北 103 号は種子親と花粉親の両方に対して有意に収量が多く、両親に国内の育成系統を用いた組み合わせの中から優れた収量性を示す組み合わせを見出すことができた。

本研究では自家不和合性種子親系統の作出、ミツバチを用いた採種試験、F₁ 植物の自家和合性の確認など、自家不和合性を利用した F₁ 育種システムに関連する一連の行程について検証し、本システムが国内外のセイヨウナタネの品種育成に適応可能であることを明らかにした。一方、F₁ 採種における種子純度低下の問題、自家不和合性の種子親系統育成における *B. rapa* 由来の S ハプロタイプのマーカー選抜のさらなる簡便化、種子親系統の増殖方法の検討などの課題も明らかになった。セイヨウナタネの品種育成において本育種システムの実用化を進めるためには、F₁ 採種工程の効率化についても検討を行う必要があると考えられる。

本研究において取り上げた病害抵抗性の強化、種子品質の安定化、収量性の向上は国内のセイヨウナタネ生産において最も重要な課題である。本研究において得られた知見は、これらの形質を改良した画期的なセイヨウナタネ品種を育成するために有用であると考えられる。

※注1 博士論文要約はインターネットの利用により公表されるので、記載内容については十分注意してください。

※注2 公表できない「やむを得ない事由」(特許、知的財産等に係る部分)は記載しないでください。

※注3 全体で4頁～5頁程度を目処にしてください。