

第4節 発芽子葉片を用いた低グルコシノレート個体簡易選抜法の開発

1. 緒言

グルコシノレートの生合成は多数の遺伝子によって支配されている (Kondra and Stefansson 1970)。このため、グルコシノレートの低減化育種における選抜効率を高めるためには、 F_2 種子における低グルコシノレート個体の選抜が効率的であると考えられる。しかし、現在までのところ、育種的には単粒でグルコシノレート含量を分析することは困難であるため、 F_2 植物に稔った F_3 種子の数粒をバルクで用い、グルコシノレート含量を評価していた。グルコシノレートの定量に一般的に用いられる HPLC 法は微量なサンプルで分析が可能であるが、煩雑な試料調製を必要とする上、分析に長時間を要する。このような多大な労力を必要とする化学分析を育種現場において実施することは困難であるため、従来ではグルコシノレート含量が低い F_2 個体を選抜することはできなかった。

種子と発芽後の子葉に含まれるグルコシノレート含量に大きな変化がなければ発芽子葉の1枚を F_2 種子の分析材料として使用することができ、検定後に残った植物体から低グルコシノレート個体を選抜する、いわゆる半子葉法による選抜が可能となる。このため、本節では発芽後の子葉に含まれるグルコシノレート成分を経時的に追跡し、その消長を明らかにした。また、グルコシノレートは酵素ミロシナーゼによって加水分解されると、等量のグルコースを遊離する。そこで、子葉中に含まれるグルコシノレートを酵素的に加水分解し、生じたグルコースを臨床検査試薬を用いて測定することで簡易にグルコシノレート含量を検定する方法を開発した。

2. 材料及び方法

植物材料

実験には、1995年に採種した低グルコシノレート品種 SV0212 と農林 18 号およびキザキノナタネを含む日本のナタネ 20 品種と外国の低グルコシノレートナタネ 10 品種の自殖種子を供試した (Table 2-7)。栽培条件は第1節と同一である。発芽種子から子葉を採取するために、シャーレ中の蒸留水で湿らせた濾紙上に播種し、 25°C ・暗黒条件下で催芽した。一部の試験区では、播種後1日目にシャーレを 25°C ・16時間日長下に移した。

Table 2-7. Cultivars used in the measurement of seed glucosinolate by means of quick method and HPLC method.

Glucosinolate type	Cultivars name
High glucosinolate cultivar	Norin 2, Norin 5, Norin 7, Norin 8, Norin 11, Norin 12, Norin 16, Norin 18, Murasakinatane,
	Isuzunatana, Chisayanatane, Miyukinatane, Asahinatane, Koganenatane, Oominatane, Dairyunatane, Kamikitanatane, Asakanonatane, Kizakinonatane, Aomori 1,
Low glucosinolate cultivar	Altex, Arabella, Bridger, Bronowski, Global, Hanna, Lergo, Loras, Topas, SV0212

グルコシノレートの抽出と脱硫化

種子グルコシノレートはバルクとして用いた種子粉砕物 0.2g から第1節と同様の方法で抽出・脱硫化した。発芽子葉中のグルコシノレート成分を経時的に追跡するために、播種後0、1、2、3、5、7日目の子葉を摘出した。子葉片は液体窒素で凍結し、乳鉢と乳棒で磨砕した後に凍結乾燥機で乾燥させ、粉砕物 0.2g を秤量した後、種子グルコシノレートと同様にグルコシノレートを抽出した。また、1個体の子葉からのグルコシノレート抽出は、摘出した子葉1枚を70%熱メタノールを0.1ml含む1.5ml容量のスクリュウキャップ付きバイアル内に移し、75℃で5分間熱した後、内部標準として0.8 μ Mのシニグリンを加え、1.1mlにメスアップした。続いて、ホモジナイザー（日立 HG30）を用いて磨砕した後、30分間、75℃で抽出した。グルコシノレートの脱硫化は種子グルコシノレートと同様に粗グルコシノレート溶液1mlを0.3U/mlのスルファターゼを用いて行い、反応後のデスルホグルコシノレートをHPLC分析に供試した。バルクによるグルコシノレートの測定は1品種につき3反復実施した。

HPLC 分析

HPLC分析には、COSMOSIL 5C18 カラム（150×4.6mm、ナカライテスク）およびワークステーション（日立 HPLC マネージャシステム）を装備した HPLC（日立 L-7000 システム）装置を用いた。分析および定量は第1節と同様に行った。

半子葉を用いたグルコース検定

播種後2日目の発芽子葉1枚を摘出し、100 μ lの蒸留水が入った1.5mlマイクロチューブ内でホモジナイザー（池田理化 S-205）を用いて磨砕した。磨砕液は内生の酵素ミロシナーゼを作用させるため5分間放置した後、70%メタノール100 μ lを加えて混合し、12,000r.p.m.で5分間遠心分離した。その後、上清100 μ lを採取して試験管に分注し、グルコース発色試液として臨床検査試薬「グルコース CII-テストワコー」（和光純薬工業）を1ml混合した後、25℃で20分間反応させた。グルコースの吸光度は分光光度計を用いて505nmで測定した。吸光度の測定は1品種につき6反復または18反復実施した。

3. 結果

グルコシノレート成分の発芽後の消長

Fig. 2-11 にグルコシノレート含量が高いキザキノナタネと低グルコシノレート品種 SV0212 の種子をそれぞれ暗黒下および 16 時間日長下で育成した播種後 7 日目までの子葉に含まれるグルコシノレート含量の変化を示した。キザキノナタネと SV0212 の子葉中のグルコシノレート含量は、暗黒条件下および 16 時間日長下ともにほぼ同様の傾向で変化した。すなわち、総グルコシノレート含量は暗黒条件下において、播種後 2-3 日目までは子葉と種子に含まれる総グルコシノレート含量の差は小さいが、その後漸次増加する傾向が認められた。一方、16 時間日長下においては、キザキノナタネの子葉中総グルコシノレート含量は播種後 7 日目まで種子とほぼ同じであるのに対し、SV0212 では播種後 2-3 日目以降に減少した (Fig. 2-11-a, d)。次に主要グルコシノレートについて見てみると、aliphatic 系グルコシノレート (Fig. 2-11-b, e) の中で、総含量に占める割合が最も高い progoitrin は暗黒下と 16 時間日長下ともに総グルコシノレート含量と同様の傾向を示した。また、gluconapin は両処理区で播種後日数の経過と共にわずかに減少した。一方、indolyl 系のグルコシノレート (Fig. 2-11-c, f) においては 4-hydroxy-glucobrassin が SV0212 の 16 時間日長下で減少傾向を示したが、その他では大きな変化は認められなかった。glucobrassin は両品種および両処理区とも播種後 2 日から 3 日目に急激に増加し、7 日目には種子の 4 倍程度に増加した。

半子葉法を用いたグルコース検定によるグルコシノレート含量の簡易検定法

グルコースの検定に先立ち、サンプルの調製条件を検討した。グルコシノレート含量が異なる品種の子葉をそれぞれ蒸留水中で磨砕し、遠心分離後の上清に発色試薬を加えた結果、発色試薬と反応するグルコース以外の物質の影響が大きく、グルコシノレートの有無程度の判定しかできなかった (Fig. 2-12-a)。そこで、子葉の磨砕液に 70% メタノールを加えて遠心分離し、その上清に発色試薬を加えた結果、種子グルコシノレート含量の増加に比例して赤色が濃くなった (Fig. 2-12-b)。以上の結果から、グルコースの検定に際してその精度を高めるためには、70% メタノールの混合による発色阻害物質の除去が有効であった。

総グルコシノレート含量が異なる 30 品種を供試して、HPLC で測定した種子グルコシ

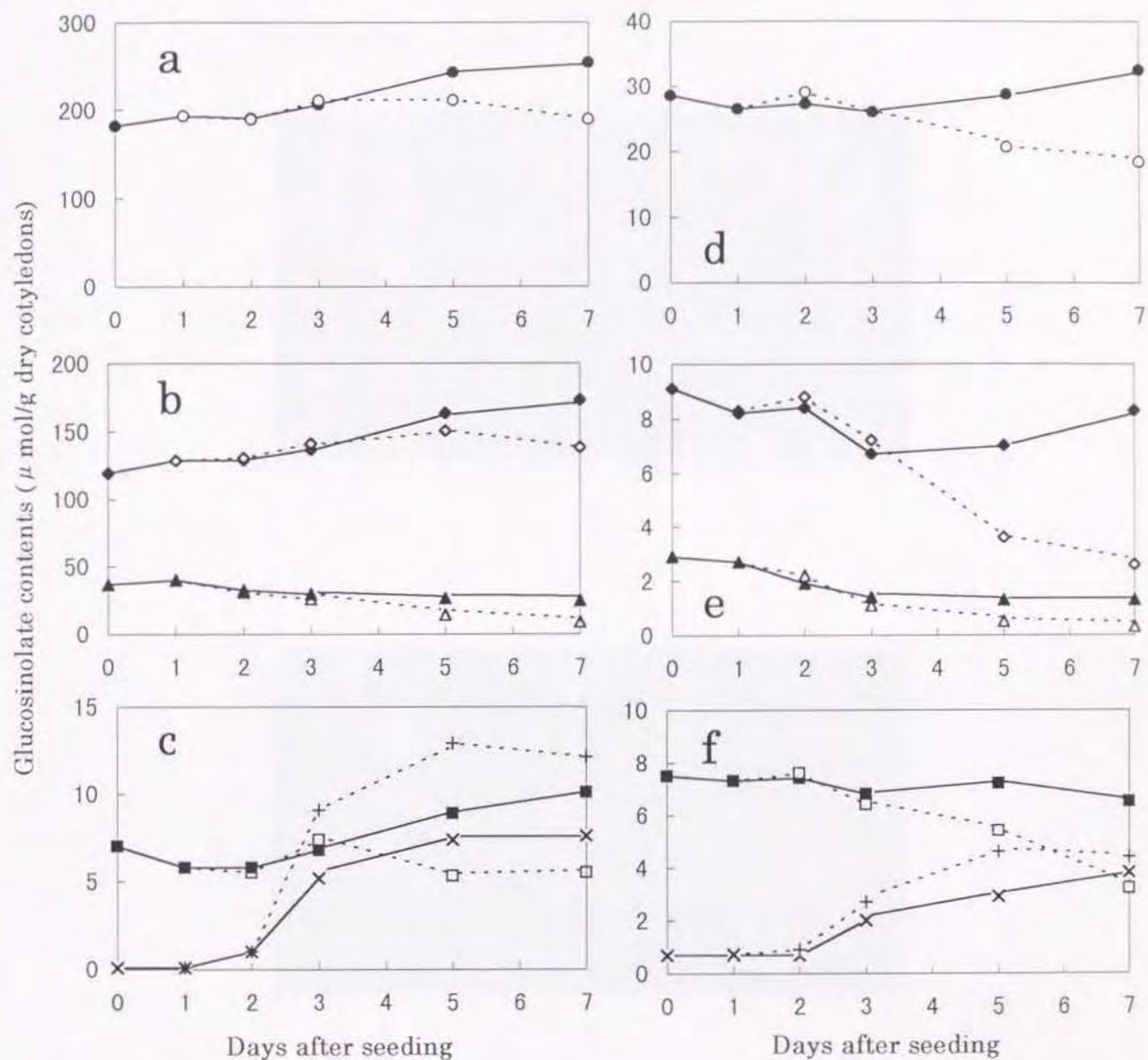


Fig. 2-11. Contents of the total glucosinolate(●, ○), progoitrin(◆, ◇), gluconapin(▲, △), 4-hydroxy glucobrassicin(■, □) and glucobrassicin(×, +) in the cotyledons of rapeseed cv. Kizakinonatane (a, b, c) and cv. SV0212 (d, e, f) seeding grown under the dark (—), and 16h/day photoperiod (···) from 2 days after seeding.

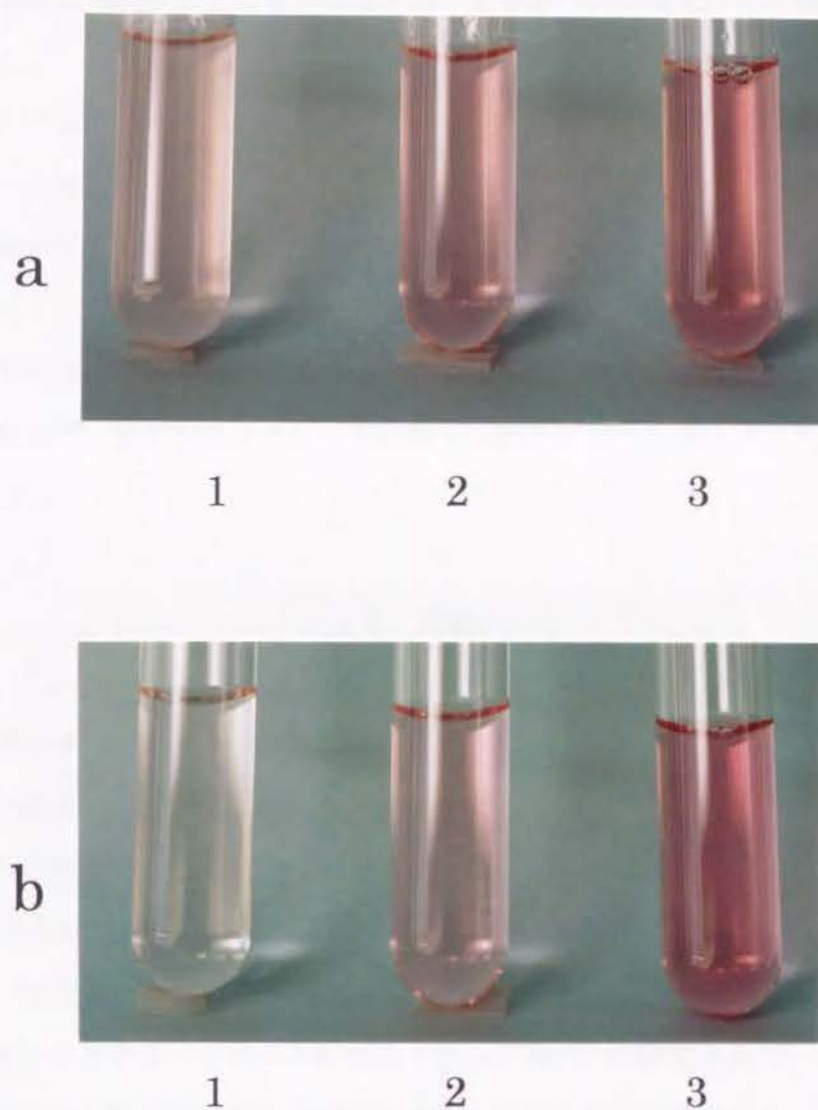


Fig. 2-12. Color reaction of crushing solution of half cotyledon by Glucose C II Test-Wako.

a: No addition of 70% methanol, b: Addition of 70% methanol, 1: Low glucosinolate cv. SV0212, 2: cv. Norin 18, 3: cv. Kizakinonatane.

ノレート含量と子葉の磨砕液に含まれるグルコースの 505nm における吸光度（6 反復平均値）との関係を Fig. 2-13 に示した。グルコースの吸光度と種子グルコシノレート含量には $r = 0.825$ の 1% 水準で有意な高い正の相関関係が認められた。総含量が $30 \mu\text{mol/g}$ 以下の低グルコシノレート品種では、グルコースの吸光度は全て 0.1 以下であった。しかし、総含量が $150 \mu\text{mol/g}$ 以上の高い品種では、グルコースの吸光度との相関は低くなる傾向がみられた。

子葉を用いたグルコース検定によるグルコシノレート評価の精度を確かめるために、総グルコシノレート含量が大きく異なる 3 品種（SV0212、農林 18 号、キザキノナタネ）を供試して 1 個体の子葉を 2 等分し、各子葉片に含まれる総グルコシノレート含量（HPLC 測定）とグルコースの吸光度との関係を調査した。その結果、Fig. 2-14 に示したとおり、両者の間には 1% 水準で有意に高い正の相関関係（ $r = 0.855$ ）が認められた。また、各品種は明確に区分され、低グルコシノレート品種 SV0212 におけるグルコース吸光度はほぼ 0.1 以下であった。

4. 考察

本研究において、発芽子葉の磨砕液に含まれるグルコースをグルコース CII-テストワコを用いて発色させ、505nm で吸光度を測定することで種子 1 粒レベルの総グルコシノレート含量を高い精度で検定できる手法を確立した。これまでに、グルコシノレート含量の簡易検定法として加水分解後に生じたグルコースを検定する Tes-tape 法（McGregor and Downey 1975）や Glucose oxidase / peroxidase 法（Heaney *et al.* 1988）、Thymol 法（Tholen *et al.* 1989）、TRUBLUGLU meter 法（Tholen *et al.* 1993）等が、またパラジウム塩を用いて発色程度を比較するパラジウム比色法（Thies 1983）が開発されている。しかし、グルコースを測定する簡易検定法では検定に多量の種子を必要とするため、種子 1 粒レベルで測定することは困難であった。パラジウム比色法ではナタネの脂肪酸分析における半粒法（Downey and Harvey 1963）を適用することで、種子 1 粒中のグルコシノレート含量を測定することが可能である。しかし、子葉片の切り出し操作に熟練を要し、播種後に腐敗する率が高いため、育苗率が低いという問題点があった。加えて、グルコシノレートを抽出する際に煩雑な操作が必要という欠点があった。今回、簡易検定法として開発した方法は発色試薬としてグルコース特異性が高い臨床検査試薬「グルコース CII-テストワコ

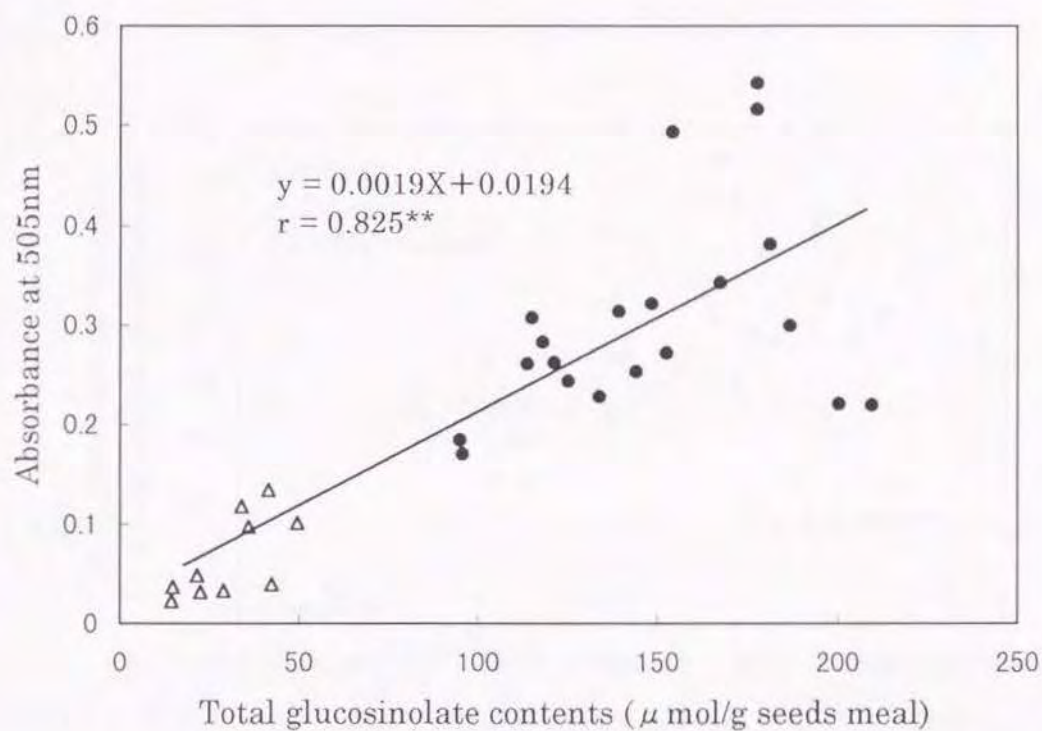
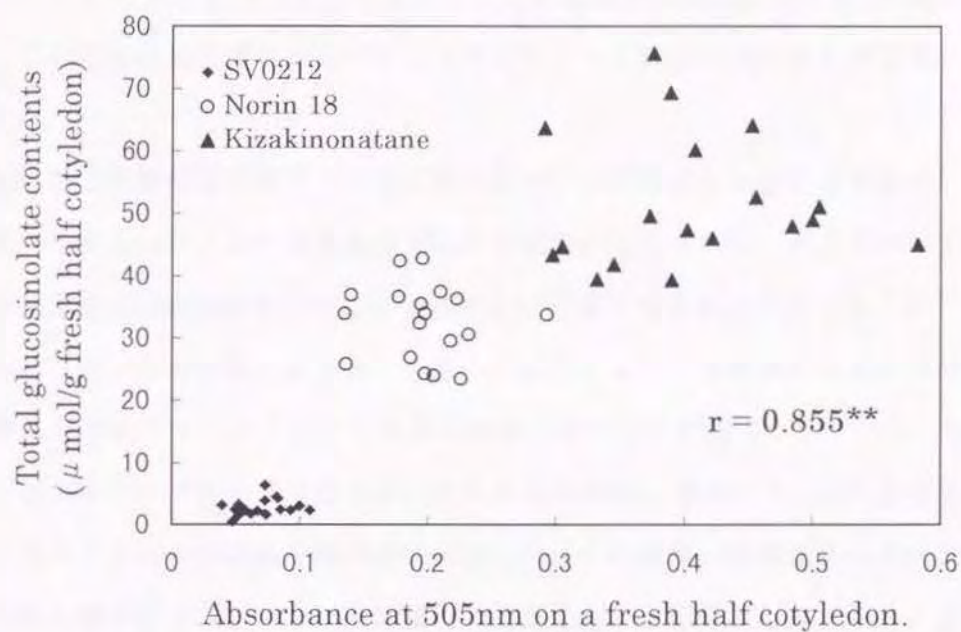


Fig. 2-13. Correlation between the average of total glucosinolate contents by HPLC analysis and the average of glucose absorbance by glucose C II test-wako on the 30 cultivars of *Brassica napus*.
 ** : Significant at 1% level. \triangle : Low glucosinolate cultivars,
 \bullet : High glucosinolate cultivars.



一'を用いるものであり、これはムタロターゼとグルコースオキシダーゼを組合せた酵素法試薬である。本試薬の測定原理は次のとおりである。グルコシノレートの加水分解により遊離したサンプル中のグルコースは、発色液中のムタロターゼの作用により α 型から β 型に変換される。 β -D-グルコースはグルコースオキシダーゼにより酸化され、グルコン酸と過酸化水素を生成する。過酸化水素は共存するペルオキシダーゼにより分解され、発色試液中のフェノールと4-アミノアンチピリンとを定量的に酸化縮合させ、赤色の色素を生成する。この赤色の吸光度を測定することでグルコース濃度を求めるものである（和光純薬 1991）。

半粒法における育苗率の低下と煩雑な操作性という問題点を克服する方法として、発芽子葉を用いたグルコシノレート含量測定法の可能性が考えられた。そこで発芽子葉のグルコシノレート含量の消長を明らかにするために、子葉に含まれるグルコシノレート成分を測定したところ、その含量は発芽後日を追って変化するが、播種後2-3日以内であれば子葉と種子との総グルコシノレート含量の差は小さいことが明らかとなった。McGregor (1988)はグルコシノレート含量が高いナタネ品種 Midas を用いて、発芽後の各組織におけるグルコシノレートの消長を経時的に調査した。その結果、播種後2-3日以内であれば発芽子葉と種子グルコシノレート含量との差は小さいことを示した。このことは本実験結果と一致し、播種後2-3日目の発芽子葉が種子の代替りの分析材料として利用可能であることを支持するものである。さらに、播種後2-3日目の発芽子葉を利用するメリットとして、播種前や播種後1日目の種子に比べて子葉の摘出が容易であること、このステージの幼植物は発根後間もないため、検定後の移植の際に根の植え傷みが少ないことがあげられる。

発芽子葉の磨砕液に含まれるグルコースの吸光度を測定することで、種子1粒レベルの総グルコシノレート含量を簡易に検定することが可能となった。総含量が $30 \mu \text{mol/g}$ 以下の低グルコシノレート個体のほとんどが 0.1 以下の吸光度を示し、高含量の個体と明確に区別することが可能であった。HPLC 法では1日に10数点しか分析できないが、この簡易検定法については150点以上を検定することができる。さらに、分光光度計による吸光度の測定を行わずにグルコシノレートの多少を肉眼で判定するだけなら、1日に500点以上の検定が可能である。そこで、本検定法を用いて F_2 個体のグルコシノレート含量を発芽ステージで評価し、吸光度が 0.1 以下の個体だけを選抜することで、1) 大面積を

必要とする F_2 集団を栽培する必要がなくなり、2) 低グルコシノレート個体の選抜を1世代早めることができる。これらの点から、この簡易検定法は今後のグルコシノレート低減化育種に大いに役立つものと考えられる。

第5節 無エルシン酸・低グルコシノレートナタネ品種の育成

1. 緒言

日本の風土に適合した無エルシン酸・低グルコシノレート（以下、ダブルゼロと略す）ナタネ品種の育成を試みた。ダブルゼロ品種は外国では既に多数育成されており、食用油およびその油粕を飼料用として利用されている。しかし、日本ではこれまでにグルコシノレート含量の低減化に関する育種は実施されておらず、既存のダブルゼロ品種における成分品質や圃場特性についても未だ報告されていない。そこで、外国産ダブルゼロ品種と日本の優良遺伝資源を利用して交配を行い、系統を育成した後、栽培特性や収量性、成分品質等の農業形質を調査し、有望系統の選抜を行った。さらに、選抜した系統を系統適応性検定試験や特性検定試験に供試し、国内初のダブルゼロナタネ品種の育成を試みた。

2. 材料及び方法

品種育成には盛系 188 号×Karat の組合せで 1989 年（1988 年度播種、以下播種年度で示す）に人工交配により得た種子を供試し、東北農業試験場盛岡試験地で実施した。育種目標はダブルゼロで早生、良質、多収品種の育成である。母親の盛系 188 号は東北農業試験場で育成した早生、良質、多収ではあるが、エルシン酸とグルコシノレート含量が高い系統である（農業研究センター 1987）。一方、父親の Karat は早生でダブルゼロであるが、栽培特性が劣るスウェーデンで育成された春播きのナタネ品種である（Sernyk 1992）。交配からの育成経過を Table 2-8 に示した。1989 年度に F₁ 養成を行い、1990 年度には F₂ 個体選抜試験に供試して圃場特性に優れる 119 個体を選抜した。1991 年度は脂肪酸分析を実施し、無または低エルシン酸の 40 個体を選抜すると共に、選抜個体のグルコシノレート含量を評価した。1992 年度以降はエルシン酸含量およびグルコシノレート含量を評価しながら、系統育種法により選抜・固定を図った。なお、各世代における栽植様式は畦幅はいずれも 70cm であり、F₁ および F₂ 世代が株間 20cm、F₃ 世代以降では株間 10cm で、いずれの世代も 5.6m² の試験区に播種した。

1994 年度からは圃場特性および成分品質に優れた 2 系統を生産力検定予備試験に供試すると共に、地域適応性と栽培適性を評価するために青森県畑作園芸試験場（青森県六戸町）、鹿児島県農業試験場大隅支場（鹿児島県串良町）に配布し、収量性や耐病性等につ

Table 2-8. Scheme for the selection of double zero lines.

Year (sowing)	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995
Generation	Cross ¹⁾	F ₁	F ₂	**	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆
No. of planted lines (plants)			(1134)	(119)	40	25	12	6
No. of selected lines					10	4	2	1
No. of selected plants			119	40	25	12	6	5

** : Selection of zero and low erucic acid plant.

1) cv. Morikei 188 × Karat.

いて検討した。また、耐寒雪性を岩手県高冷地開発センター（岩手県一戸町）で、菌核病抵抗性を東北農業試験場盛岡試験地で検定した。各試験地の試験面積は 5.5～14.0m² で、いずれも 2 反復であり、標準品種にアサカノナタネ、比較品種にキザキノナタネを用い、各調査基準に準じて試験を行った。

エルシン酸分析は、柴田と金子（1980）の方法に準じて抽出した脂肪酸をメチルエステル化した後、ガスクロマトグラフィーを用いて行った。また、グルコシノレート含量は初期世代ではテストープ簡易選抜法（奥山ら 1992 a）により、F₅ および F₆ 世代では HPLC を用いて第 1 節と同様の方法により評価した。テストープ簡易選抜法でのグルコシノレート含量は 0（低）、0.5、1、2、3、4（高）の階級値で評価した。

3. 結果

1991 年度に選抜した無または低エルシン酸の F₂ 40 個体に稔った F₃ 種子のグルコシノレート含量を Table 2-9 に示した。階級値が 0.5 以下の低グルコシノレート個体は 3 個体であり、その出現率は 7.5% と低かった。また、エルシン酸含量とグルコシノレート含量との間には相関関係は認められなかった。そこで、F₄ 世代で無エルシン酸個体を選抜し、以後低グルコシノレート形質の固定を図った。1994 年度には圃場特性および成分品質に優れた BZ138-1、BZ138-4 の 2 系統を選抜した。1994 年度と 1995 年度の圃場試験と成分品質分析の結果から BZ138-1 を選抜し、1996 年には地方系統番号の東北 90 号（Fig. 2-15）を付した。東北 90 号の 1994 年度と 1995 年度の東北農業試験場における圃場試験結果を Table 2-10 に示した。また、成分分析の結果を Table 2-11 に示した。2 年間の試験結果を総合すると、東北 90 号の抽苔期、開花期、成熟期は共にアサカノナタネよりやや遅いが、キザキノナタネより早かった。草丈はアサカノナタネより約 10cm 高いが、キザキノナタネより約 20cm 低く、倒伏は認められなかった。子実収量はアサカノナタネより約 22% 多収であり、キザキノナタネ並であった。千粒重は 3.3g とアサカノナタネ並であるが、穂発芽は見られず、外観品質は上であり、アサカノナタネよりも優れていた。種子成分の品質については東北 90 号の粗脂肪含量は 40.5% でキザキノナタネより低い、アサカノナタネよりは高かった。また、エルシン酸は含まれておらず、グルコシノレート含量は 13.6 μ mol/g とアサカノナタネやキザキノナタネの 10% 以下であり、外国産の低グルコシノレート品種 Global と同程度であった。

Table 2-9. Variation of seed glucosinolate content based on Tes-tape score in 40 zero and low erucic acid F₃ plants.

No of plants	Tes- tape score						Total
	0	0.5	1	2	3	4	
Zero erucic acid type	1*	1	3	2	1	1	9
Low erucic acid type	1		8	21	1		31
Total	2	1	11	23	2	1	40

* : Number of plant

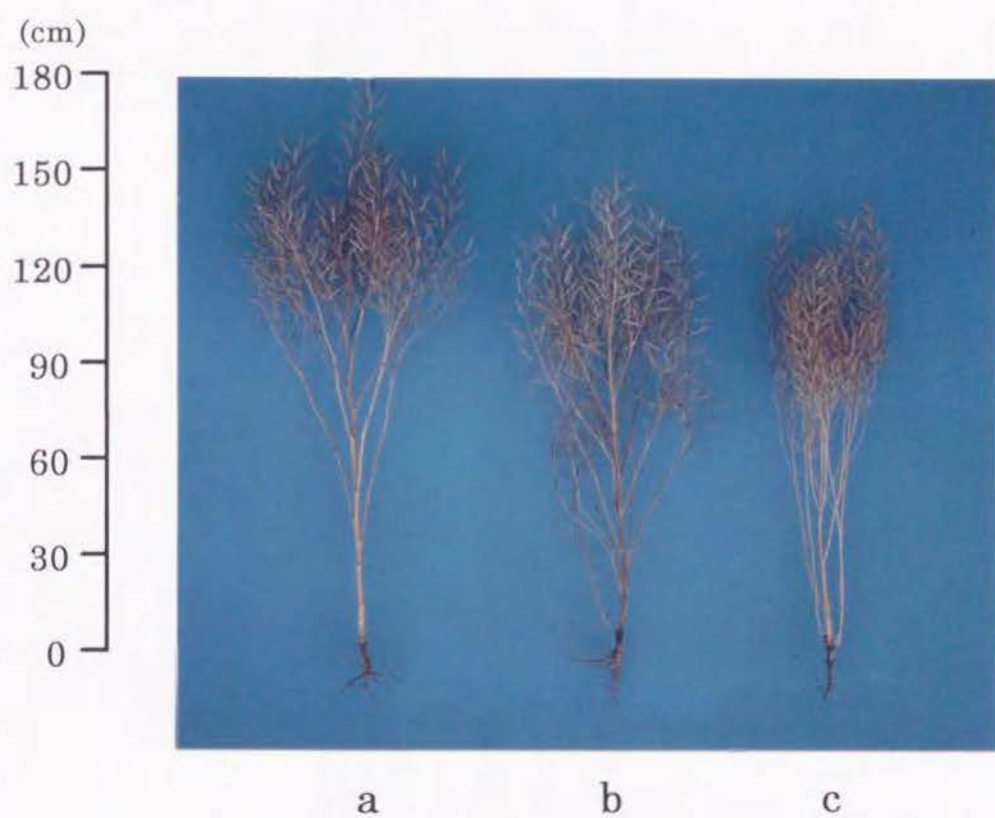


Fig. 2-15. Zero erucic cv. Kizakinonatane (a), double zero line Tohoku 90 (b) and zero erucic cv. Asakanonatane (c).

Table 2-10. Agronomic performance of Tohoku 90, standard cv. Asakanonatane and check cv. Kizakinonatane in 1994 and 1995.

Cultivar	Bolting date	Blooming date	Maturing date	Plant height (cm)	Lodging	Yield (kg/a)	Relative yield ¹⁾ (%)	1000 seeds weight (g)	Degree of sprouting	External quality
Tohoku 90	Apr. 22	May 9	July 9	144.3	Nothing	40.7 ^A	121.9	3.3	Nothing	Good
Asakanonatane	Apr. 14	May 9	July 6	133.0	Little	33.4 ^B	100	3.2	Slight	Medium
Kizakinonatane	Apr. 25	May 10	July 12	161.5	Nothing	41.1 ^A	123.1	3.7	Nothing	Medium

Sowing date is Sep. 17.

¹⁾ A/B×100

Table 2-11. Comparison of seed quality among Tohoku 90, Asakanonatane, Kizakinonatane and double zero cv. Global

Cultivar	Seed component		
	Oil ¹⁾ (%)	Erucic acid ¹⁾ (%)	Glucosinolate ¹⁾ (μ mol/g)
Tohoku 90	40.5	0	13.6
Asakanonatane	38.6	0.3	133.1
Kizakinonatane	43.2	0.3	183.4
Global	—	0	15.1

1) Average of 1994 and 1995

東北 90 号の地域適応性を見るために、1994 年度と 1995 年度に青森県畑作園芸試験場と鹿児島県農業試験場大隅支場で実施した栽培試験の結果をアサカノナタネと比較して Table 2-12 に示した。東北 90 号の成熟期は両試験地でアサカノナタネより 1～3 日遅かった。草丈は両試験地ともにアサカノナタネに比べて約 30cm 高いが、耐倒伏性はアサカノナタネよりも強かった。子実収量は青森県畑作園芸試験場ではアサカノナタネより約 97% 多収であったが、鹿児島県農業試験場大隅支場では約 23% 低収であった。

岩手県高冷地開発センターと鹿児島県農業試験場大隅支場および東北農業試験場盛岡試験地で実施した特性検定試験の結果を Table 2-13 と Table 2-14 に示した。耐寒雪性検定試験では、東北 90 号はキザキノナタネに比べると越冬株率と寒雪害被害度が共に劣るが、アサカノナタネに比べると越冬株率は 11% 高く、寒雪害被害度も低かった。東北農業試験場における耐病性検定試験では、東北 90 号はアサカノナタネに比べて菌核病罹病株率が 38% 低く、菌核病被害指数も 50% 程度低かった。しかし、キザキノナタネに比べると高い罹病性を示した。また、鹿児島県農業試験場大隅支場でも東北 90 号は同様の傾向を示し、東北 90 号の菌核病被害度は微であり、アサカノナタネより少なく、キザキノナタネよりも大きかった。

4. 考察

ナタネ種子の品質改良育種はカナダ、スウェーデン、ドイツ、フランスを中心に急速に進展し、これらの国ではエルシン酸とグルコシノレートと共に含まないダブルゼロの品種が多数育成されている (Buzza 1995)。近年、我が国においても無エルシン酸品種が育成されたことで、激減しつつあったナタネ栽培において振興の兆しが見られている。しかし、国産ナタネの付加価値を高めるためには、外国産ナタネと同様に油粕を飼料用として利用できるようにグルコシノレート含量の低減化が望まれていた。前節までの研究結果より、日本産のナタネ遺伝子源には Bronowski 程度までグルコシノレート含量が低減化した品種は見いだされなかった。そこで、外国産の低グルコシノレート品種を遺伝資源として利用し、系統育種法に準じてダブルゼロ品種を育成しようとした。

本試験において育成した東北 90 号の東北農業試験場におけるグルコシノレート含量は 2 年間の平均で $13.6 \mu\text{mol/g}$ と低く、ダブルゼロ品種の Global と同程度の値を示した。種子グルコシノレート含量は土壌中に含まれる硫黄や窒素含量等の環境条件によって変動

Table 2-12. Agronomic performance of Tohoku 90 and standard cv. Asakanonatanane at 2 experiment location in 1994 and 1995.

Experiment location	Cultivar	Maturing date	Plant height (cm)	Lodging	Yield (kg/a)	Relative yield ³⁾ (%)	External quality
Aomori Field Crops & Hort. Exp. Stn. ¹⁾	Tohoku 90	July 13	150.1	Nothing	30.5 ^A	196.8	Medium
	Asakanonatanane	July 12	118.1	Much	15.5 ^B	100	Medium
Oosumi Labo. Kago-shima Agr. Exp. Stn. ²⁾	Tohoku 90	July 3	186.5	Little	28.4 ^A	77.2	Medium
	Asakanonatanane	Jun. 30	161.0	Much	36.8 ^B	100	Medium

1) Sowing date is Sep. 6.

2) Sowing date is Oct. 25.

3) A/B×100

Table 2-13. Resistance of cold and snow damage of Tohoku 90, cv. Asakanonatane and Kizakinonatane at Okunakayama Labo. Iwate Hort. Exp. Stn. in 1994 and 1995.

Cultivar	Rate of winter survival plant (%)	Degree of cold and snow damage ¹⁾
Tohoku 90	58.2	68.2
Asakanonatane	47.2	72.4
Kizakinonatane	72.7	55.9

$$1) \text{ Degree} = \frac{100 \times A + 70 \times B + 50 \times C + 30 \times D + 10 \times E + 0 \times F}{\text{No. of total plants}}$$

0~100 = degree of damage of each plant, 0 : not damaged (No. of plant ; F),
10 : slight (E), 30 : little (D), 50 : medium (C), 70 : much (B), 100 :
died (A),

Table 2-14. Resistance to sclerotinial disease of Tohoku 90, cv. Asakanonatanane and Kizakinonatanane in 1994 and 1995.

Cultivar	Rate of infected ¹⁾ plant (%)	Index of damage ¹⁾	Degree of damage ²⁾
Tohoku 90	60.9	38.3	Slight
Asakanonatanane	98.9	85.4	Little
Kizakinonatanane	20.2	12.2	Nothing

1) Tested at Tohoku Nat. Agr. Exp. Stn.

2) Oosumi Labo. Kagoshima Agr. Exp. Stn.

$$1) \text{ Index} = \frac{(5 \times A + 4 \times B + 3 \times C + 2 \times D + 1 \times E + 0 \times F) \times 100}{\text{No. of total plants}}$$

0~5 = index of damage of each plant, 0 : not damaged (No. of plant ; F),
1 : slight (E), 2 : little (D), 3 : medium (C), 4 : much (B), 5 : died
(A)

し、低グルコシノレート品種においてもその影響を受けることが報告されている (Josefsson and Appelqvist 1968; Zhao *et al.* 1994)。このため、東北 90 号を他の地域で栽培するとグルコシノレート含量は変動することが推察される。しかし、第 2・第 3 節に示したとおり、日本産ナタネのグルコシノレート含量には品種間で大きな変異がみられるが、最も低い品種でも $70 \mu \text{mol/g}$ 程度であるに過ぎない。こうした点を考えると、東北 90 号は明らかに低グルコシノレート形質を有するといえる。また、東北 90 号にはエルシン酸が含まれておらず、粗脂肪含量はアサカノナタネより 2% 高かった。このことから、東北 90 号は成分品質に優れた日本で育成された初めてのダブルゼロ系統である。

東北 90 号の農業特性について見てみると、成熟期は中早生種のアサカノナタネよりも 3 日遅く、中晩生種のキザキノナタネよりも 3 日早い。また、東北 90 号の耐寒雪性はアサカノナタネよりも優れるが、キザキノナタネよりは劣った。これらの結果から、東北 90 号は中生種であると考えられる。また、種子の外観品質は高く、ナタネの病害で最も問題となる菌核病に対してはアサカノナタネよりも強い抵抗性を示した。さらに東北 90 号の特徴として子実収量が多いことがあげられる。対象品種に用いたアサカノナタネは福島県で奨励品種に採用された比較的多収の品種であるが (奥山ら 1993)、東北 90 号はそれを 23% 上回り、晩生の多収品種キザキノナタネと同程度であった。これらの特性は青森県畑作園芸試験場での栽培試験においても同様の傾向が認められた。

以上のように、東北 90 号は成熟期がアサカノナタネより遅い中生種であるがダブルゼロ形質を持ち、アサカノナタネより良質、多収で菌核病抵抗性に優れる有望な系統である。東北 90 号の適応地帯は、その成熟期より推察してアサカノナタネと同様に南東北の平坦部と考えられる。加えて、東北 90 号はアサカノナタネよりも耐寒雪性に優れるため、南東北の平坦部のみならずアサカノナタネでは越冬性が問題となる北海道、北東北を除く積雪寒冷地でも栽培できる可能性がある。このように、適応地域の拡大も考えられるため、今後はこれらの地域において詳細に特性を調査をする必要があると思われる。

第3章 脂肪酸組成の遺伝的変異性と高エルシン酸品種育成に関する育種学的研究

ナタネ油は食用油脂資源のみならず工業用油脂資源としても重要な位置を占めおり、用途によって利用する油の脂肪酸組成は異なる。アブラナ科植物に偏在する脂肪酸の一種のエルシン酸を多量に摂取すると心機能障害を起こす可能性があることから、ナタネ油においてもその低減化が提唱され（FAO/WHO 合同専門委員会報告 1980）、カナダではいち早く無エルシン酸品種を開発した（鍵 1991）。世界的には、これまでこのような栄養学的立場からエルシン酸含量の低減化を主な育種目標として品種開発が行われてきた（奥山ら 1991）。一方、エルシン酸は長鎖脂肪酸の代表として熱安定性が高く、他の植物性脂肪酸では得られない性質を備えており、工業用脂肪酸として最近注目されている（松尾 1991、Friedt and Lühs 1995）。このため、高エルシン酸ナタネ品種の開発も今後必要になるものと考えられる。さらに、食用油の付加価値を高めるためにオレイン酸含量の向上や食品添加用としてのパルミチン酸含量の向上、または酸化しやすいリノレン酸含量の低下など、様々な脂肪酸組成を持つナタネ油の開発が必要である（阿部 1988、Scarth 1995）。

日本産ナタネ品種の脂肪酸組成に関する変異性は、李ら（1974 a）や遠藤ら（1986）によって報告されている。しかし、供試品種数が限られており、我が国が保有する豊富なナタネ遺伝資源についての情報は十分ではない。

そこで、今後の高エルシン酸品種の開発を初め、種々の脂肪酸組成を有するナタネ品種の開発に役立てるために、本章では我が国におけるナタネ遺伝資源の脂肪酸組成を測定・評価した。その中で、特に高エルシン酸の遺伝資源を育種素材として利用し、脂肪酸組成の改変による高エルシン酸系統の品種育成を試みた。

第1節 高エルシン酸遺伝資源の探索とその評価

1. 緒言

本節では、エルシン酸含量の遺伝的改変による高エルシン酸品種を育成するための新たな遺伝資源を探索するために、日本産および外国産のナタネ遺伝資源についての脂肪酸組

成を調査し、特に日本産ナタネの変異性について評価した。

2. 材料及び方法

材料として農業生物資源研究所および東北農業試験場で保存している日本産および外国産のナタネ保存種子を用いた。供試系統数は日本産が 838 品種・系統、外国産が 276 品種・系統の合計 1,114 点である。

脂肪酸組成の分析は柴田と金子(1980)の方法に従い、0.1g の種子を粉碎・溶媒抽出し、カリウム-メタノールでメチルエステル化した後に、試料をジエチルエーテルに溶かし、ガスクロマトグラフィーで分析した。分析には、Shimalite (AW) 80-100 を担体とし、5%の Shincrom E-71 を液相としたものを充填したガラスカラム(310×3.2mm)を装着したガスクロマトグラフィー(島津 GC9A-FID)装置を用いた。カラム温度は 240℃で、キャリア・ガスに窒素を用いて脂肪酸エステルを分別した。エルシン酸含量はクロマトグラム上の全脂肪酸面積に対する百分率で示した。

分析により見いだされた高エルシン酸系統については、エルシン酸含量の年次間変動を検討するために、比較品種として農林 18 号とアサヒナタネを加えて 1992 年～1994 年(播種年)までの 3 ヶ年、第 2 章第 1 節と同様の栽培条件で栽培し、採種した自殖種子について脂肪酸分析を行った。

3. 結果及び考察

エルシン酸に関する品種・系統間差異

全供試ナタネのエルシン酸含量に関する頻度分布を Fig. 3-1 に示した。日本産ナタネは 0.3～57.3%まで変異し、多くの品種は 45～52%の範囲に入り、平均は 45.9%で正規分布に近い分布を示した。最も高いのは品種農林 16 号の 57.3%であり、55%以上の高い値を示す系統が 20 見いだされた。一方、無または低エルシン酸の 5 系統が含まれており、最も低かったのは東北 79 号の 0.3%であり、次いで郡脂 5 号の 2.0%であった。これらの系統は外国の無エルシン酸品種との交雑による無エルシン酸育成系統であった。外国産ナタネは 0～56.3%まで変異し、平均は 33.1%で二項分布に近い分布を示した。これは、67 の無エルシン酸品種・系統が含まれていたためであった(Table 3-1)。55%以上の高い値を示す系統は 4 系統あり、最も高いのは品種 R Janus でスウェーデンの品種であった。

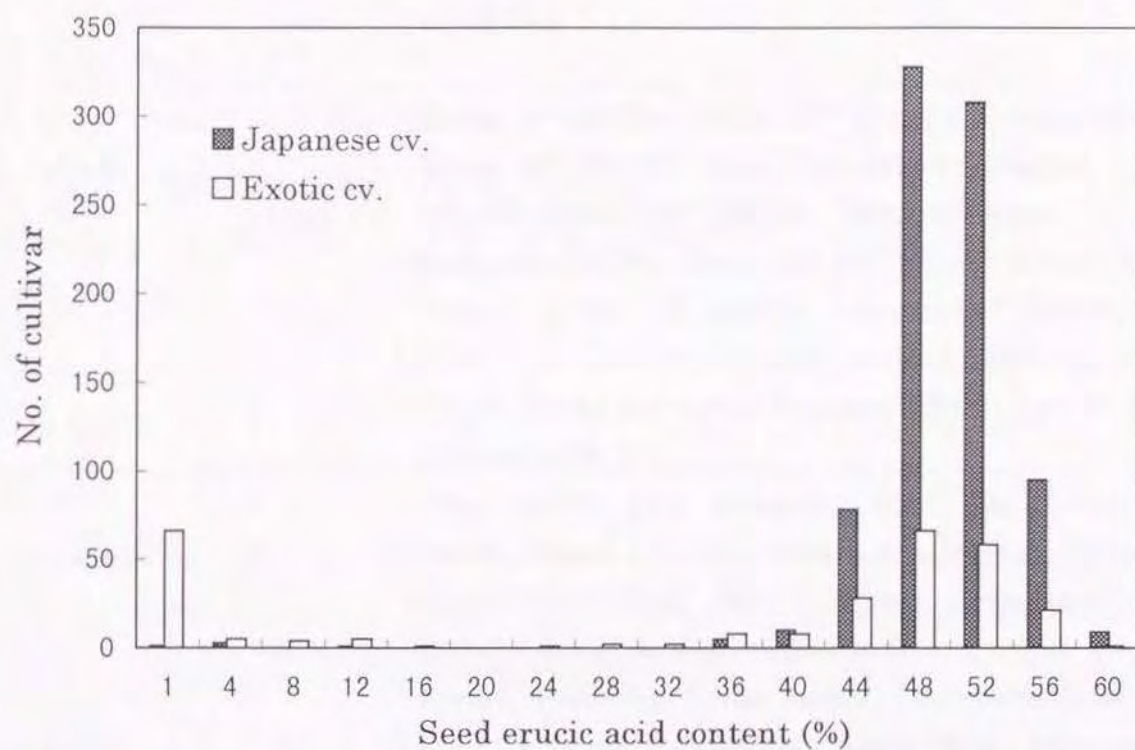


Fig. 3-1. Distribution of seed erucic acid contents in Japanese and exotic rapeseed (*B. napus* L.).

Table 3-1. Zero, Low (4% >) and high (>55%) erucic acid of Japanese and exotic cultivars in Japanese rapeseed gene collection.

Origin	Erucic acid content	Cultivar and line (erucic acid content %)
Japan	Low	Tohoku 79 (0.3%), Gunshi 5-2 (2.0%), Gunshi 5 (2.5%), Gunshi 5-3 (3.7%)
	High	Norin 16* (57.3%), Norin 16* (57.2%), Kyushu 36* (56.8%), Norin 16* (56.5%), Norin 13* (56.4%), Minami kyushu 5* (56.3%), Norin 16* (56.2%), Minami kyushu 5* (56.1%), Suigenshu (56.0%), Okute (55.9%), Minami kyushu 3 (55.9%), Minami kyushu 21 (55.8%), Kyushu 36* (55.5%), Ganmaa M(40)2-5-1-1 (55.4%), Nakate Mutsumi (55.4%), Norin 13* (55.3%), Kinki 30 (55.2%), Waseguro (55.1%), Kyushu 7 (55.1%), Azumashu (55.1%)
Exotic	Zero	Altex, Andor, Anja, Armander, ATR, Res. Tower, Belinda, Binera, Brutor, Cascade, Ceres, Cobra, Darmor, Diplom, Doral, Edita, Elena, Emil, Erle, Expander, Germander, Germany, Global, Gloria, Gulliver, Gundula, Hanna, Jubel, Juno, Karat, Korina, Kurandar, Lergo, Lesira, Liho=petra, Line, Lirama, Lisandra, Loras, Maja, Maris haplona, Midas, Mirander, N-349, Niklas, Nura, Olivia, Omega, Orbis, Orle, Primor, Qvinta, Rally, Rapora, Regent, Rubin, Salamandar, Santana, SV0212, Tamara, Topas, Tower, Wester, Winfred.
	High	R Janus (56.3%), Panter (55.8%), Janetzki winter rape (55.2%), Winter rape weibulls margo (55.0%)

*: Several strains which have the same cultivar name were collected from different source.

無または低エルシン酸5系統を除く日本産ナタネの平均は $47.3 \pm 11.0\%$ であり、最もエルシン酸含量が低い品種は樺太の 34.2% であった (Table 3-2)。エルシン酸含量は2対の同義遺伝子 ($E_1E_1E_2E_2$) によって支配されていることが明らかにされており (Downey 1963、Harvey 1964)、 E_1 、 E_2 遺伝子の1つが $9 \sim 10\%$ のエルシン酸含量に貢献するとされている。しかし、李ら (1974 a) は、アジア産品種のエルシン酸含量はヨーロッパ産品種に比べて約 5% 高いことから、アジア産の品種では E_1 、 E_2 遺伝子の1つが $10 \sim 12\%$ のエルシン酸含量に貢献するものと推定した (李ら 1974 b)。しかし、本実験においては無エルシン酸品種を除くヨーロッパ産 157 系統の平均は $46.5 \pm 5.4\%$ であり、日本産ナタネに比べて有意に低いとは言えなかった。

低エルシン酸5系統を除く日本産ナタネ遺伝資源のエルシン酸含量を産地別に比較したところ、最も高かったのは南九州の 49.1% で、最も低かったのは北海道の 44.9% であった。南九州と北海道の平均値の差は 4.2% あり、原産地が南下するにつれて平均値が上昇する傾向にあった (Table 3-3)。標準偏差や変動係数についてはエルシン酸含量が 30% 台のものが6系統含まれる北海道を除いて、ほとんど差異は認められなかった。ナタネ種子の脂肪酸組成は開花から成熟期までの積算温度と密接に関係しており、高温下での成熟はエルシン酸含量が低下することが報告されている (Canvin 1965、李ら 1976)。また、李ら (1974 a) は品種における早晩生別の脂肪酸含量について検討し、早生から晩生となるにつれてエルシン酸含量が低下する傾向を見出している。しかし、Yamazaki and Nagao (1993) は国内においては鹿児島県と青森県では登熟期の積算温度がほぼ等しく、2地域間におけるエルシン酸含量の差異は認められなかったことを報告した。今回、実験に用いた保存種子は原産地とは異なる東北農業試験場で採種したものが多く含まれている。このことから、ナタネ遺伝資源のエルシン酸含量に地域間差が見られる理由として、第2章第2節に記述したような日本産ナタネに見られる遺伝的な背景が関与しているのかもしれない。

エルシン酸以外の脂肪酸に関する日本産ナタネの変異性

無エルシン酸系統を除く日本産ナタネ遺伝資源における主な脂肪酸の変異を Table 3-2 に示した。エルシン酸以外の脂肪酸について見てみると、オレイン酸で $8.4 \sim 23.8\%$ と大きな変異が見られ、その平均は 15.6% であった。最も高い品種は農林9号であ

Table 3-2. Variation of fatty acid composition in Japanese 833 erucic acid free cultivar and line of Japanese rapeseed gene collection.

	Palmitic C16:0 (%)	Oleic C18:1	Linoleic C18:2	Linolenic C18:3	Eicosenoic C20:1	Erucic C22:1
Max	Norin 16 (5.3%)	Norin 9 (23.8%)	Taisetsunatane (18.2%)	Hokuriku 4 (13.1%)	Karafuto (13.9%)	Norin 16 (57.3%)
Min	Ise-kuridane (2.0%)	Tokiwatanatane (8.4%)	Waseguro 8 (9.2%)	Norin 9 (3.3%)	Ganmaa M(40)2- 5-1-1 (5.0%)	Karafuto (34.2%)
Mean \pm SD	3.4 \pm 1.3	15.6 \pm 7.0	13.7 \pm 4.0	8.5 \pm 3.7	9.4 \pm 4.2	45.9 \pm 11.0

Table 3-3. Seed erucic acid content of Japanese erucic acid free cultivars in Japanese rapeseed collection.

Cultivation region	No. of cultivar and line	Erucic acid content (%)			CV (%)
		Means \pm SD	Max.	Min.	
Hokkaido	28	44.9 \pm 5.4	53.6	34.2	12.0
North Tohoku	18	46.5 \pm 3.2	52.3	36.6	6.9
South Tohoku	113	46.9 \pm 3.7	57.3	38.5	7.9
Kanto	64	48.6 \pm 3.4	55.0	41.0	7.0
Hokuriku and Touzan	54	48.6 \pm 3.3	56.4	40.9	6.8
Toukai	161	48.5 \pm 3.0	55.4	40.7	6.2
Kinki	86	48.2 \pm 3.9	55.2	35.2	8.1
Chugoku, Shikoku and Sanin	24	47.2 \pm 3.9	55.9	39.9	8.2
North Kyushu	142	47.9 \pm 3.2	56.8	39.4	6.6
South Kyushu	59	49.1 \pm 3.5	56.3	41.9	7.0
Unknown	84	48.2 \pm 2.5	56.0	3.5	5.2
Mean	(Total) 833	47.3 \pm 4.9			10.4

り、最も低い品種はトキワナタネであった。また、リノレン酸の平均は8.5%であったが、中には農林9号のように3.3%まで低減した品種が認められた。リノレン酸は必須脂肪酸ではあるが不飽和度が高く、酸化しやすいため油の劣化の原因となり、外国ではその低減化も育種目標の一つとされている(Scarath 1995)。このため、今回見いだされたリノレン酸含量が低い農林9号は、その低減化のための育種材料として利用できるかもしれない。

無エルシン酸系統を除く日本産ナタネ遺伝資源における主な脂肪酸の間の相関関係をTable 3-4に示した。オレイン酸とリノレン酸の間には中位の負の相関が見られたが、オレイン酸とリノール酸の間には相関は見られなかった。リノール酸とリノレン酸の間においても相関は見られなかった。オレイン酸とエイコセン酸の間には高い正の相関が見られたが、エルシン酸との間には高い負の相関が見られた。リノール酸とエイコセン酸の間には相関は見られず、エルシン酸との間では低い負の相関が見られた。リノレン酸とエイコセン酸には中位の負の相関が見られたが、エルシン酸とは低い正の相関が見られた。エイコセン酸とエルシン酸との間には高い負の相関が見られた。ナタネ油の脂肪酸の生合成経路は、Downey and Craig (1964)により報告されており、(1)ステアリン酸(C18:0)→オレイン酸(C18:1)→リノール酸(C18:2)→リノレン酸(C18:3)のように炭素数は増加せずに二重結合を増加させる系と、(2)オレイン酸(C18:1)→エイコセン酸(C20:1)→エルシン酸(C22:1)のように二重結合は変わらずに炭素数が増加する系がある(Fig. 3-2)。脂肪酸間の相関関係はオレイン酸とエルシン酸を除き各報告により異なっているが(志賀ら 1974)、本実験結果は李ら(1974 a)がアジア産ナタネ品種を用いて調査した結果と比較的類似していた。すなわち、エルシン酸はオレイン酸やエイコセン酸とは高い負の相関関係にあるが、リノール酸、リノレン酸とは相関は見られない。また、オレイン酸とリノール酸、リノール酸とリノレン酸においても相関関係は認められない。以上の結果から推察して、オレイン酸含量が高く、リノール酸含量とリノレン酸含量の和が低い系統と高エルシン酸系統とを交配することで、前者の系統のオレイン酸をさらにエルシン酸合成の系へまわすことが可能となることが予想され、従来よりもさらに高いエルシン酸系統を選抜することができるかもしれない。事実、Fig. 3-3に示したように、日本産ナタネ遺伝資源の中にはこのような高オレイン酸でリノール酸+リノレン酸含量が低いタイプの系統が見られた。このことから、今後はこの推察についての研究が必要で

Table 3-4. Correlation coefficients between fatty acids in erucic acid free 833 Japanese rapeseed collection.

	Stearic acid (C16:1)	Oleic acid (C18:1)	Linoleic acid (C18:2)	Linolenic acid (C18:3)	Eicosenoic acid (C20:1)	Erucic acid (C22:1)
Palmitic acid (C16:0)	0.074*	-0.064	0.452***	-0.198***	0.018	-0.157***
Stearic acid (C16:1)		0.280***	-0.012	-0.163***	0.310***	-0.344***
Oleic acid (C18:1)			0.000	-0.444***	0.759***	-0.848***
Linoleic acid (C18:2)				-0.110**	0.019	-0.377***
Linolenic acid (C18:3)					-0.428***	0.246***
Eicosenoic acid (C20:1)						-0.782***

* ; ** and *** are significant at 5, 1 and 0.1% levels respectively.

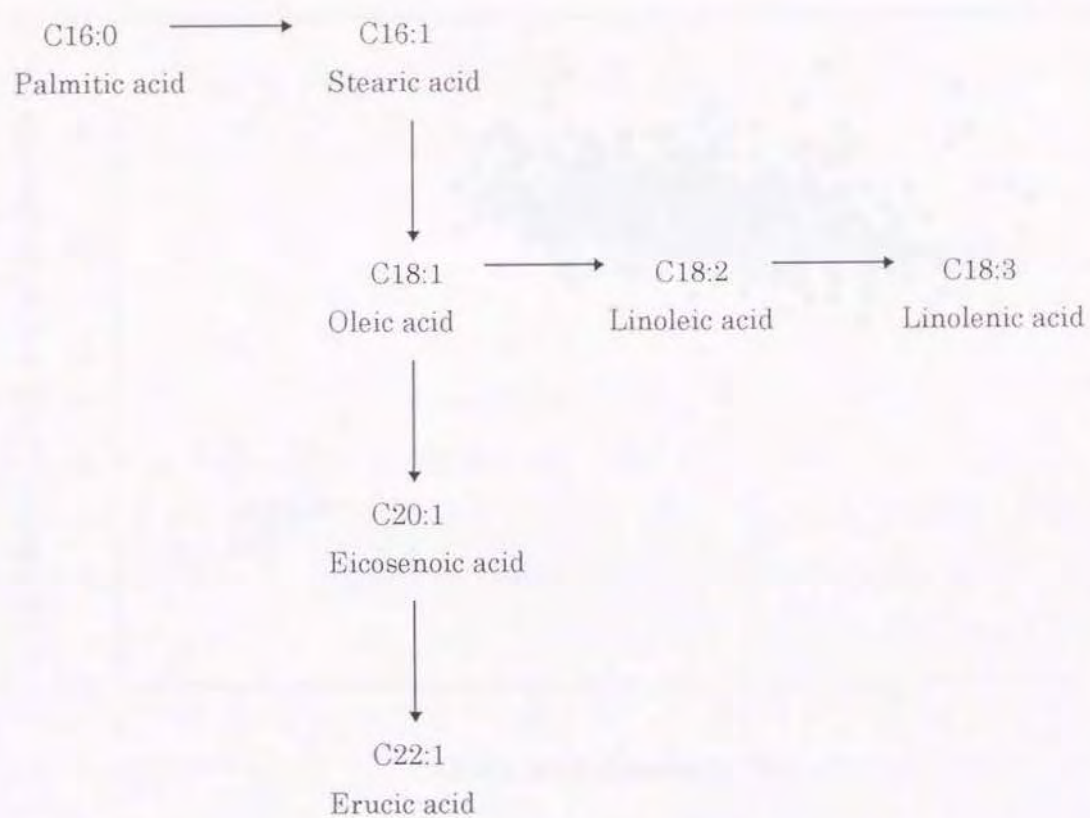


Fig. 3-2. Biosynthetic pathways of the fatty acids in rapeseed.
(From Downey and Craig 1964.)

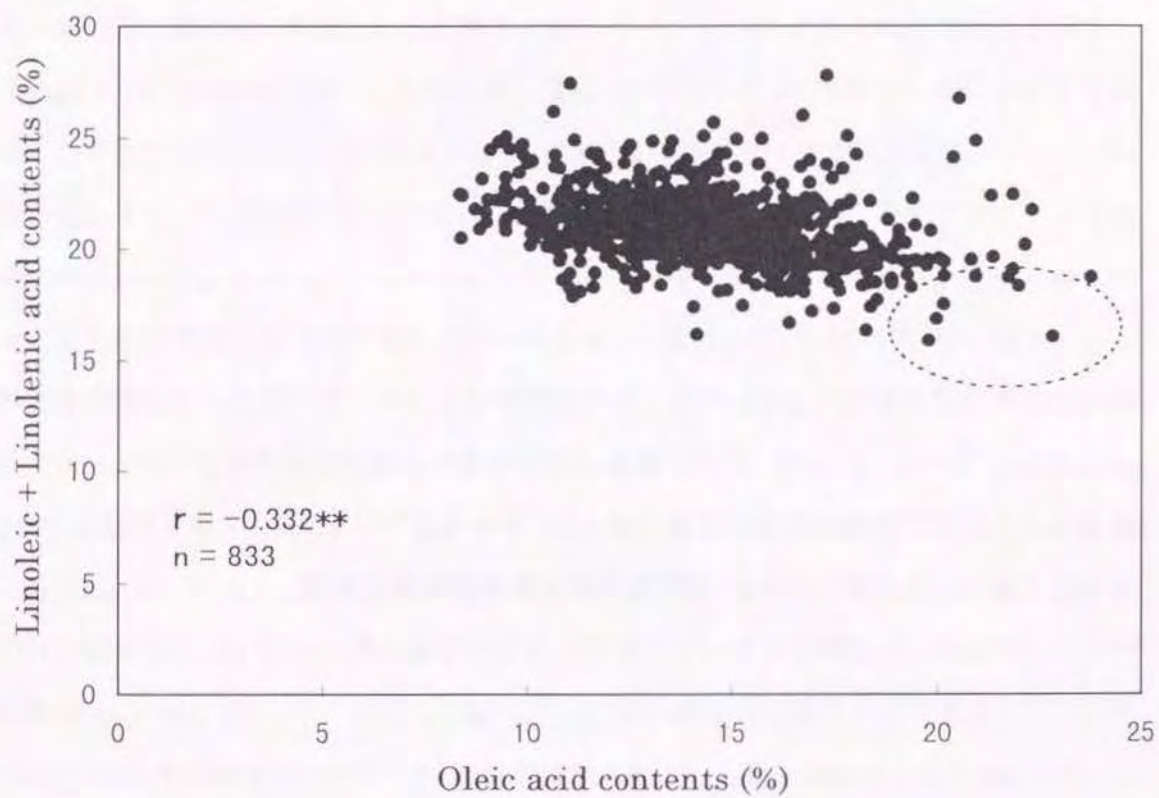


Fig. 3-3. Relationship between oleic acid and linolenic + linolenic acid contents in 833 erucic acid free Japanese rapeseed. \cdots area means high oleic and low linoleic + linolenic cultivars.

あると考えられる。

高エルシン酸含量の遺伝的安定性

種子脂肪酸は種子の成熟時の環境によってその含量が変動することが知られている (Nagao and Yamazaki 1983, Takagi *et al* 1989)。そこで、高エルシン酸系統と確認できた農林 16 号と九州 36 号についてエルシン酸含量の遺伝的安定性を明らかにするために、両品種並びに対照品種として農林 18 号とアサヒナタネを東北農業試験場盛岡試験地で同一条件下で栽培し、採種した自殖種子におけるエルシン酸含量の年次間変動を調査した (Fig. 3-4, Table 3-5)。その結果、農林 16 号と九州 36 号の 3 ヶ年における平均値はそれぞれ $53.4 \pm 0.6\%$ と $55.9 \pm 0.5\%$ で、農林 18 号やアサヒナタネよりも 6.0~11.9% 高かった。また、変動係数はそれぞれ 1.1% と 0.8% であり、農林 18 号やアサヒナタネと同様に小さかった。さらに、3 ヶ年における平均値と遺伝資源保存種子の分析値とはアサヒナタネを除いてほとんど差が見られないことから、農林 16 号と九州 36 号の高エルシン酸形質は環境的にも安定していることが確認された。農林 16 号は北陸 4 号 \times 早生菜の組合せで 1948 年に福島県農業試験場で育成された品種である (Fig. 3-5-a)。また、九州 36 号は農林 3 号 \times 九州 16 号の組合せで 1951 年に福島県農業試験場で育成された系統である (Fig. 3-5-b) (農業技術研究所遺伝第 2 研究室 1970)。両系統とも早生朝鮮を一方の由来親としているが、遺伝資源として保存されている早生朝鮮 12 系統のエルシン酸含量は 45.7~52.1% で高くはなく、高エルシン酸の遺伝的由来は不明である。近年、外国では 52~56% 程度の高エルシン酸品種が育成されているが (Friedt and Lühs 1995)、農林 16 号と九州 36 号のエルシン酸含量はこれらと同程度である。以上の結果から、農林 16 号と九州 36 号は今後、高エルシン酸育種を行う上で貴重な遺伝資源として利用価値が高いと考えられる。

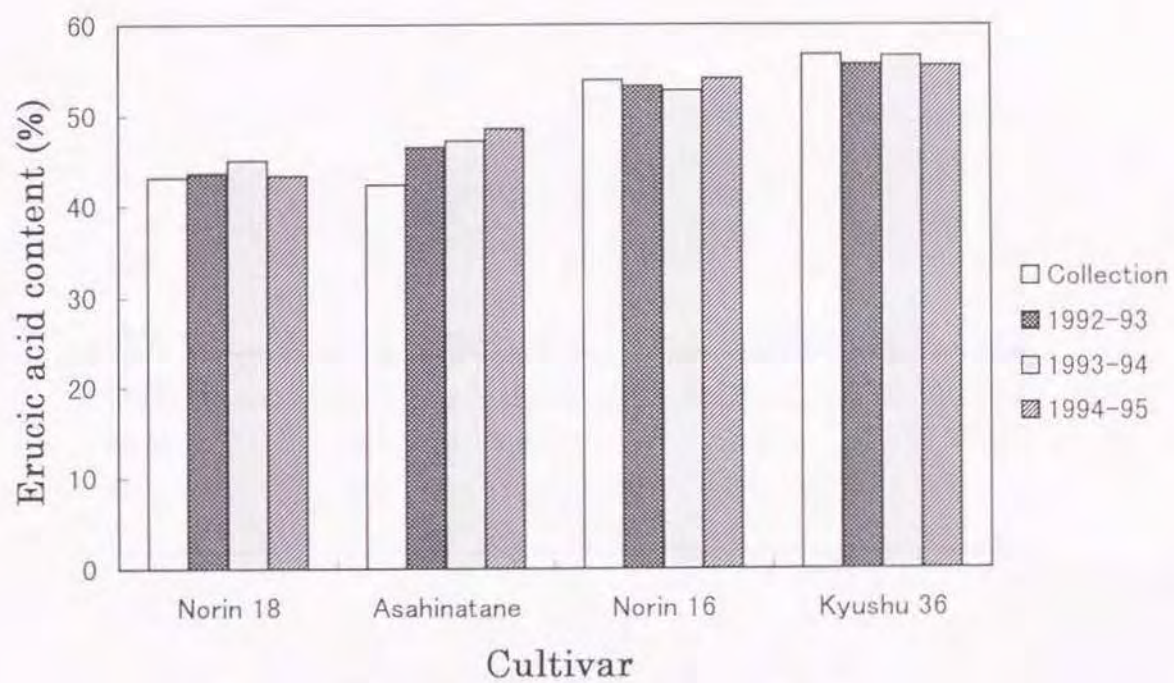
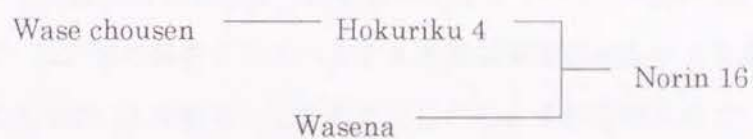


Fig. 3-4. Erucic acid content of two high erucic acid cv. Norin 16 and Kyushu 36 compared to the check cv. Norin 18 and Asahinatane in collection seeds and three years.

Table 3-5. Mean of erucic acid contents in 1992 to 1994.

Cultivar	Norin 18	Asahinatane	Norin 16	Kyushu 36
Mean	44.0	47.4	53.4	55.9 (%)
SD	0.7	0.8	0.6	0.5
CV	1.7	1.7	1.1	0.8

(a)



(b)

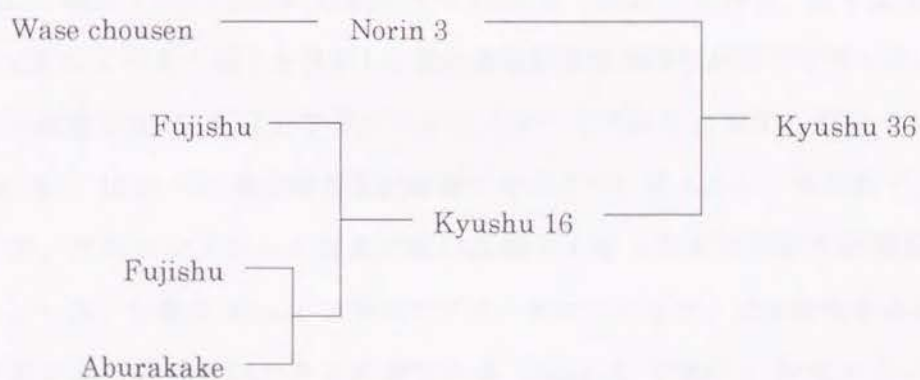


Fig. 3-5. Pedigree of high erucic acid cultivars, Norin 16 (a) and Kyushu 36 (b).

第2節 高エルシン酸系統の育成

1. 緒言

高エルシン酸品種開発に関する研究はこれまでも報告されているが、エルシン酸含量が55%以上の実用品種は未だ育成されていない(奥山 1992 b、Friedt and Lühs 1995)。また、高エルシン酸品種においても搾油後の油粕を有効利用する必要があるため、低グルコシノレート形質の付与が主要な育種目標となっている(Albrecht *et al.* 1995)。

第1節において、我が国で保存されているナタネ遺伝資源のエルシン酸含量を評価したところ、55%以上のものが24系統見いだされた。しかし、これらの系統はいずれもグルコシノレート含量が高いため、グルコシノレート含量を低減化する必要があった。そこで、日本の高エルシン酸遺伝資源と外国のダブルゼロ品種を利用して交配を行い、日本の風土に適合した高エルシン酸・低グルコシノレートナタネの育成を試みた。

2. 材料及び方法

育成には農林16号×Karatの組合せで1989年(1988年度播種、以下播種年度で示す)に人工交配により得た種子を供試し、東北農業試験場盛岡試験地で実施した。育種目標はエルシン酸含量が55%以上で低グルコシノレートであり、早生、良質である。母親の農林16号は1948年に福島県農業試験場で育成された高エルシン酸品種で、早生、良質であるが、グルコシノレート含量が高い品種である(農業技術研究所遺伝第2研究室 1970)。一方、父親のKaratは早生でダブルゼロであるが、栽培特性が劣るスウェーデンで育成された春播きのナタネ品種である(Sernyk 1992)。交配からの育成経過をTable 3-6に示した。1989年度にF₁養成を行い、1990年度にはF₂個体選抜試験に供試して圃場特性に優れる142個体を選抜した。1991年度は脂肪酸分析を実施し、52%以上のエルシン酸含量を示す11個体を選抜すると共に、選抜個体のグルコシノレート含量を評価した。1992年度以降はエルシン酸含量を評価しながら、系統育種法により選抜・固定を図った。なお、各世代における栽植様式は畦幅はいずれも70cmであり、F₁およびF₂が株間20cm、F₃以降では株間10cmでそれぞれ5.6m²の試験区に播種した。

エルシン酸分析は第1節と同様に、柴田と金子(1980)の方法に準じて抽出した脂肪酸をメチルエステル化した後、ガスクロマトグラフィーを用いて行った。また、グルコシノ

Table 3-6. Scheme for the selection of high erucic line.

Year (sowing)	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995
Generation	Cross ¹⁾	F ₁	F ₂	**	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆
No. of planted lines (plants)			(1134)	(142)	11	4	28	60
No. of selected lines					3	4	12	1
No. of selected plants			142	11	4	28	60	5

** : Selection of high erucic acid plant (> 51%).

1) cv. Norin 16 × Karat

レート含量はテストープ簡易選抜法（奥山ら 1992 a）により評価した。テストープ簡易選抜法でのグルコシノレート含量は0（低）、0.5、1、2、3、4（高）の階級値で評価した。

3. 結果及び考察

1991 年度に選抜した F_2 142 個体におけるエルシン酸含量（実際は F_2 植物に稔った F_3 種子を分析）の頻度分布を Fig. 3-6 に示した。交配親の農林 16 号と Karat のエルシン酸含量はそれぞれ 52.8% と 0 % であるが、 F_3 個体の含量は 12.5~55.8% の範囲に分離しており、負の歪みを持つ分布を示した。また、エルシン酸含量は 0~8%、9~20%、21~32%、33~44%、45%~ の 5 階層に分けることができ、55% 以上のエルシン酸含量を示す個体が 2 個体含まれ、その出現率は 1.4% であった。一方、無エルシン酸個体は見られず、16% 以下が 6 個体存在した。52% 以上のエルシン酸含量を示す 11 個体を高エルシン酸個体として選抜し、播種すると同時に、テストープ法によりグルコシノレート含量を検定した。その結果、テストープ値が 0 の個体が 1 個体見いだされたが（Table 3-7）、この系統は菌核病に罹病性で収量性が著しく劣ることから、選抜することはできなかった。そこで、 F_3 世代 11 系統からエルシン酸含量が 53% 以上で菌核病抵抗性や耐倒伏性に優れる 3 系統 4 個体を選抜した。 F_4 世代では農業特性に優れる 4 系統 28 個体を選抜し、その内の分析可能な 23 個体についてエルシン酸含量を調査したところ、52.2~59.5% の範囲で分布しており（Table 3-8）、58% 以上の含量を示す 7 個体が見いだされたが、系統内での個体間差も大きかった。 F_5 世代では農業特性に優れた 60 個体を選抜し、その内の分析可能な 50 個体についてエルシン酸含量を調査したところ、56% 以上の高エルシン酸個体が 7 個体確認された（Table 3-9）。しかし、前世代に比べて 2~8% 含量が低下していた。この変動が遺伝的な分離によるものか、環境要因によるものかは不明であった。1995 年度には圃場特性に優れ、エルシン酸含量が 57.1% の系統 BH166 を選抜した。BH166 の 1995 年度の東北農業試験場における圃場試験結果を Table 3-10 に示した。BH166 は農林 16 号に比べて抽苔期、開花期、成熟期ともにやや遅かったが、Karat より成熟期は 1 日早い。草丈は農林 16 号より約 15cm 低く、倒伏は見られなかった。穂長は 49.2cm で農林 16 号より約 6cm 短く、一次分枝数は農林 16 号よりも少ないが、草型は農林 16 号や Karat と同じくⅢであった。収量性は Karat よりも勝り、農林 16 号と同程度

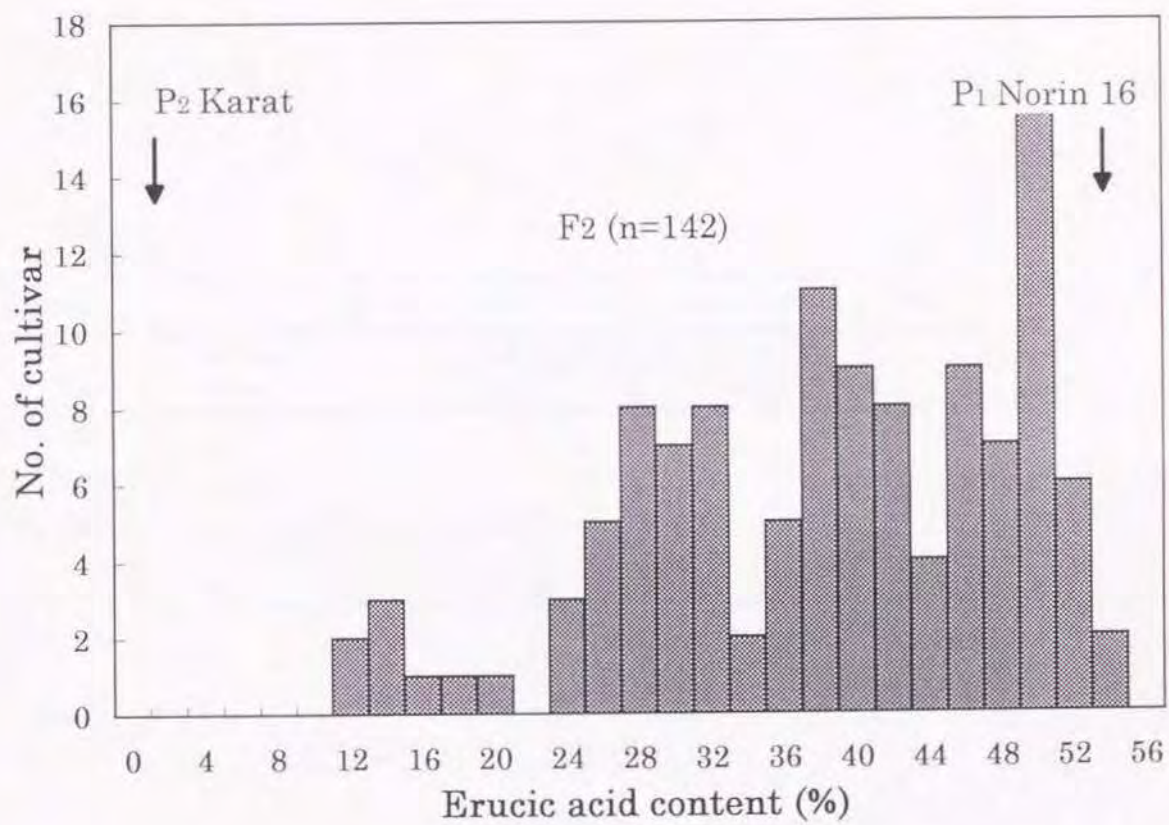


Fig. 3-6. Frequency distribution of erucic acid content in parents and F₂ generations of the crosses Norin 16 × Karat.

Table 3-7. Variation of seed glucosinolate content based on Tes-tape score in 11 high erucic acid F₂ plants.

Tes-tape score	Erucic acid content (%)				
	~52	~53	~54	~55	~56
0					1
0.5					
1	2	2			1
2	1	3	1		

Table 3-8. Scatter of Erucic acid content in F₄ plants.

Erucic acid content in F ₃ plants (%)	No. of F ₄ line	Erucic acid content in F ₄ plants (%)					Total
		~ 52	~ 54	~ 56	~ 58	~ 60	
~ 54	1		1		1		2
~ 56	0						
~ 58	3	1		1	12	7	21
Total	4	1	1	1	13	7	23

Table 3-9. Scatter of Erucic acid content in F₅ plants.

Erucic acid content in F ₄ plants (%)	No. of F ₅ line	Erucic acid content in F ₅ plants (%)					Total
		~ 52	~ 54	~ 56	~ 58	~ 60	
~ 56	1		1	4			5
~ 58	5		4	17	1		22
~ 60	6	1	1	15	6		23
Total	12	1	6	36	7		50

Table 3—10. Agronomic performance of high erucic line BH 166 and its parent cultivar Norin16 and Karat in 1995.

Cultivar	Bolting date	Blooming date	Maturing date	Plant height (cm)	Rachis length (cm)	No. of primary branches	Plant type	Lodging	Yield	Degree of sclerotinia disease	Erucic acid content (%) ¹⁾
BH 166	Apr. 23	May 12	July 6	144.3	149.2	8.0	III	Nothing	Medium	Medium	57.1
Norin 16	Apr. 24	May 9	July 2	161.5	143.5	12.5	III	Medium	Medium	Many	53.3
Karat	Apr. 12	May 10	July 7	—	—	—	III	Medium	Little	Medium	0

Analysis of the harvested seeds in 1994.

であり、菌核病抵抗性は農林 16 号よりも強く、Karat と同程度であった。

李ら (1974 b) は無エルシン酸品種に日本産品種を交配して得た F_3 種子のエルシン酸含量を測定したところ、一般には 1 : 4 : 6 : 4 : 1 の分離比に適合するが、農林 16 号を親として用いたとき、正逆両組合せともに期待値に適合せず、正逆組合せによって分離比に違いが生じることを報告している。今回の F_3 種子におけるエルシン酸の分析結果においても同様の傾向が見られたことから、農林 16 号の高エルシン酸形質にはエルシン酸含量に関与する 2 対の E_1 、 E_2 の同義遺伝子の他にも、何らかの遺伝的要因が関与しているものと推察される。

本実験で育成した BH166 は、当初の育種目標である 55% 以上のエルシン酸含量を持つ高エルシン酸系統である。ただし、BH166 の年次間、個体間についてのエルシン酸含量の変異は未調査であるため、今後解明する必要がある。また、その他の育種目標である低グルコシノレート形質については付与することができなかった。グルコシノレートは耐病性に関与していることが報告されており (Mithen 1992)、今回の実験でも高エルシン酸・低グルコシノレート個体を見いだしたが、菌核病に対する抵抗性が弱く、収量性が著しく劣るため選抜することができなかった。今回育成した BH166 は農林 16 号よりも菌核病に強い傾向を示すことから、今後新たに高エルシン酸・低グルコシノレート品種を育成する上での交配母本として有用であると考えられる。しかし、低グルコシノレート形質を付与するためには菌核病抵抗性に優れた Winter type の外国産低グルコシノレート品種を育種母本として利用する必要があるだろう。また、今回の実験では F_2 選抜時に農業特性の優れた個体を選抜した後に、高エルシン酸個体や低グルコシノレート個体の選抜を行った。このため、 F_2 集団の規模が小さく、目的とする高エルシン酸・低グルコシノレート個体の選抜が困難であった。これらの問題点を解決するためには、初期世代においては成分を主とした選抜に重点を置くと共に、各世代毎に成分分析を実施し、遺伝的、環境的変異を把握しながら世代促進を行う必要があると考えられる。また、BH166 の一般農業特性や地域適応性の調査は不十分であることから、これらの形質について詳細に調査することも残された課題である。