

第4章 ナバナ優良品種の育成と遺伝育種学的研究

本章では、ナタネ栽培の多様性を図る目的で、ワックスレス突然変異体を利用したナバナ用の新品種の育成を行った。さらに、本新品種の優良形質であるワックスレス形質の遺伝解析と葉面上のエピクチクラワックスの形態について検討した。

第1節 ナバナ農林1号はるの輝の育成

1. 緒言

ナバナは甘みと風味を備えた数少ない越冬野菜であることから、地域特産野菜として全国的に作付け面積が増加している（東京青果物情報センター 1995）。寒冷地におけるナバナ栽培は、宮城県・福島県の太平洋岸に面した積雪が少ない地域および積雪期間が比較的短い新潟県の一部で産地が形成され、高収益性作物として栽培されている（農林水産省食品流通局野菜振興課 1996）。しかし、使用品種がナプス系（*B. napus* L.）ナバナの早生種やオータムポエム等のキャンペストリス系（*B. campestris* L.）ナバナであることから、これらの地域以外での寒冷地では越冬性が劣る。そこで、東北の積雪寒冷地で越冬性を有し、主として4月以降に出荷できる食味・外観の優れた良質のナバナ品種の育成が望まれていた。

1983年（1983年度播種、以下播種年度で示す）に東北農業試験場盛岡試験地の油糧ナタネ（*B. napus* L.）品種トワダナタネの採種圃中に表皮のワックス質が欠如した自然突然変異体が2個体見いだされた。耐寒雪性に優れたトワダナタネに由来するワックスレス変異体は外観が濃緑で光沢があり、ゆでた時の色彩が鮮緑色で苦みや青臭みがなく、味を有していた。既存のナプス系のナバナ品種にはワックスレス形質を持つものはなく、この形質をナバナに導入することで、ナバナの外観品質を高めることができると考えられた。そこで、この変異体から越冬性および外観品質に優れた良食味のナバナ品種の育成を試みた。

2. 材料および方法

試験材料として、1983年に見出されたトワダナタネのワックスレス自然突然変異2個体を供試した。原品種のトワダナタネは東北41号×MR1号との組合せから育成された長

稈・晩生で耐寒・耐雪性が強い、大粒の多収品種である（柳田ら 1976）。また、標準品種としてナバナとしても利用されるナタネ農林 16 号（*B. napus* L.）と、比較品種として三陸つぼみ菜（*B. napus* L.）を供試した。

変異体の系譜を Fig. 4-1 に、品種育成経過を Table 4-1 に示した。ワックスレス突然変異 2 個体（M₁）を 1984 年（M₂）に系統栽培したところ、花茎に奇形を生じる個体が出現したため、以降系統栽培により花茎の奇形を淘汰し、選抜・固定を図ると共に特性を調査した。1990 年（M₈）には盛系 234 号の系統名を付け、以降、ナバナ系統適応性検定試験、ナバナ生産力検定試験、ナタネ特性検定試験等に供試し、各試験調査基準に準じて収量性や地域適応性、耐病性等の検討を行った。

3. 結果

生態的特性

Fig. 4-2 に盛系 234 号および標準品種のナタネ農林 16 号の花茎の外観特性を示した。盛系 234 号は農林 16 号に比べて花茎の色が濃く、花茎が太い。また、盛系 234 号は農林 16 号と異なり、表皮にワックス質が見られない。

盛系 234 号の播性について調査したところ、盛系 234 号の春播性程度は抽苔誘起に低温処理期間を 9 週以上必要とする I であった（Table 4-2）。これは、本系統の原品種であるトワダナタネと同じであり、春播性が低く、抽苔にかなり長い低温要求性を持つことが示された。根こぶ病抵抗性検定試験の結果を Table 4-3 に示した。根こぶ病抵抗性は農林 16 号や三陸つぼみ菜と同様に罹病性であった。

生産力および栽培特性

東北農業試験場における生育調査試験並びに収量調査試験結果を Table 4-4 と Table 4-5 に示した。生育調査試験では盛系 234 号は農林 16 号と比較して抽苔期が 10 日遅く、それに伴って収穫始めは農林 16 号より 6 日遅くなった。しかし収穫終期は遅く、農林 16 号よりも 17 日後まで収穫が可能であり、収穫期間は 26 日間に及び、農林 16 号よりも 11 日間長くなった。ナバナ収量に関しては、盛系 234 号は農林 16 号と比べて主茎で 31%、側枝で 75%の多収を示した。また、側枝の収穫本数については、盛系 234 号は農林 16 号と比べて約 30%多く、主茎および側枝の花茎 1 本重についても、それぞれ 5.0g と 2.3g

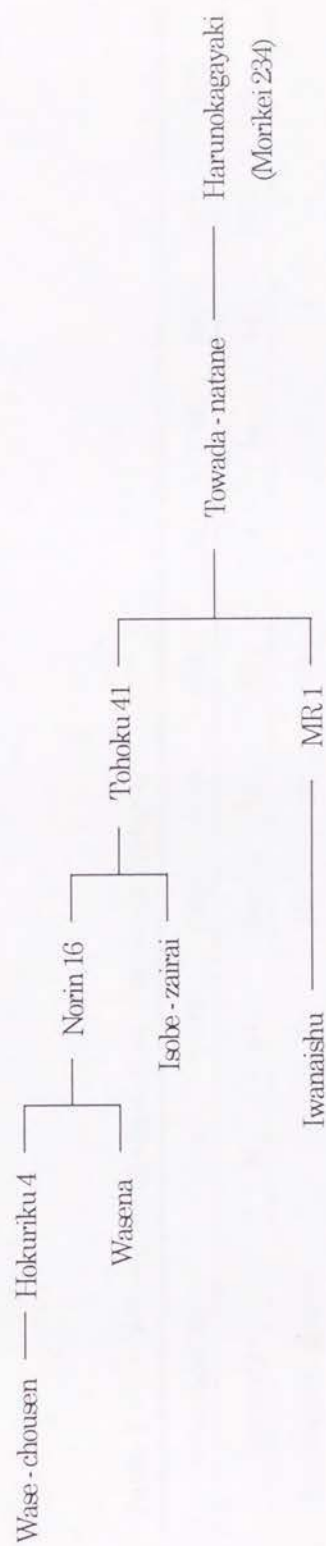


Fig. 4-1. Pedigree of vegetative rapeseed cv. Harunokagayaki.

Table 4-1. Scheme for the selection of waxless mutant.

Year (sowing)	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993
Generation	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇	M ₈	M ₉	M ₁₀	M ₁₁
No. of planted lines	—	2	10	10	10	5	1	1	1	1	1
No. of planted plants	—	93	420	420	420	105	—	—	—	—	—
No. of selected plants	2	10	10	10	5	1	1	1	1	1	1



Fig. 4-2. Immature flower buds, leaves and flower stalks of Morikei 234 (a) and standard cv. Norin 16 (b).

Table 4-2. Period for bolting after cold treatment in 1991 and 1992.

Cultivar	Period of cold treatment (weeks)							Degree of spring habit
	0	1	3	5	7	9	11	
Morikei 234	—	—	—	51	37	(28)	18	I
Norin 16	82	52	40	(29)	25	21	13	III

Rapeseed plants were grown in the growth chamber at a constant temperature of $6 \pm 2^{\circ}\text{C}$, and a photoperiod of 15h for 24h. () means judged the number of days for the degree of spring habit.

Table 4-3. Resistance to clubroot disease of Morikei 234 in 1991.

Tested field	Cultivar	No. of plant on disease index ¹⁾				Total	Rate of infected plant (%)	Degree of disease ²⁾
		0	1	2	3			
Aomori Field Crops and Hort. Exp. Stn.	Morikei 234	0	1	2	103	106	100	98.7
	Norin 16	0	0	0	109	109	100	100
	Sanriku-tubomina	0	0	1	107	107	100	99.7
Hort. Inst. of Aichi	Morikei 234	4	9	1	0	14	71.4	26.2
Agriculture. Res. Cent.	Norin 16	5	9	4	0	18	72.2	31.5
	Sanriku-tubomina	11	5	1	0	17	35.3	13.7

1) Disease index : 0 = nothing, 1 = little, 2 = medium, 3 = much.

2) Degree of disease =
$$\frac{(0 \times n_0 + 1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3) \times 100}{(n_0 + n_1 + n_2 + n_3) \times 3}, \quad n_0 \sim n_3 = \text{No. of plant of disease index.}$$

Table 4-4. Difference of bolting date and harvesting date of Morikei 234 and standard cv. Norin 16.

Cultivar	Bolting date	Harvesting date
Morikei 234	April 17	May 3 - May 29
Norin 16	April 7	Apr. 27 - May 12

Table 4-5. Agronomic performance of Morikei 234 and standard cv. Norin 16 of open culture in 1991 and 1992.

Harvesting site	Cultivar	Yield (kg/a)	Harvest index (%)	No. of stem harvested (stem No./a)	Average of single stem weight (g)
Main stem	Morikei 234	38.7	131	1,367	28.4
	Norin 16	31.5	100	1,367	23.4
Side stem	Morikei 234	76.9	175	7,792	9.8
	Norin 16	45.7	100	6,027	7.5

重かった。

岩手県園芸試験場南部分場における露地栽培の収量調査試験結果を Table 4-6 に示した。盛系 234 号の収穫始めは露地栽培では三陸つぼみ菜より 10~13 日遅かった。収量および収穫本数は三陸つぼみ菜より少ないが、花茎の一本重は重かった。両品種とも播種期が遅れると収穫本数が少なく、収量も低下したが、その低下の程度は盛系 234 号は三陸つぼみ菜よりも小さい傾向を示した。また、ハウス栽培でも露地栽培と同様の傾向を示した (Table 4-7)。盛系 234 号の収穫始めは三陸つぼみ菜よりも約 45 日遅かった。盛系 234 号の収量および本数は三陸つぼみ菜よりも少なかったが、花茎の一本重は重かった。播種期の遅れによる収量の低下は両品種で見られたが、収量および収穫本数の低下の程度は盛系 234 号は三陸つぼみ菜より軽減されていた。

品質特性

東北農業試験場産の盛系 234 号の品質および食味特性について農林 16 号と比較した評価結果を Table 4-8 に示した。2 分程度の短時間でゆで上げたお浸しでは、盛系 234 号は農林 16 号に比べて緑色が鮮やかで、外観が優れていた。食味は甘味があり、苦みはない。また食感も優れており、総合的に盛系 234 号は農林 16 号より高く評価された。

岩手県園芸試験場南部分場において実施した品質および食味特性の評価結果を Table 4-9 に示した。このときの対照品種は三陸つぼみ菜を用いた。盛系 234 号の外観は濃緑色で光沢があり、三陸つぼみ菜よりも良好である。食味についても甘味を有し、苦みや青臭みがなく、三陸つぼみ菜と比べて食味、食感のいずれも優れた。総合評価においても三陸つぼみ菜より勝った。

地域適応性

盛系 234 号について露地栽培 3 試験地、ハウス栽培 4 試験地で行ったナバナ系統適応性検定試験成績を Table 4-10 に示した。いずれの試験地においても盛系 234 号は十分な生育を示したが、盛系 234 号の抽苔期は露地栽培、ハウス栽培ともに農林 16 号よりも遅かった。このため、盛系 234 号の収穫始期は遅くなったが、農林 16 号よりも 1 日~36 日遅くまで商品性のあるものが収穫でき、遅出し栽培に適していた。収量は農林 16 号に比べて宮城園試での成績以外は多収を示し、特に青森県畑作園芸試験場のハウス栽培では農林

Table 4-6. Comparison of yield performance among Morikei 234 and check cv. Sanriku-tubomina of open culture at Nanbu laboratory of Iwate Hort. Exp. Stn..

Sowing date	Cultivar	Harvesting date	Yield (kg/a)	No. of stem harvested (stem No./a)	Average of single stem weight (g)
September 21 ¹⁾	Morikei 234	April 18 - June 4	119.0 (100)*	15,272 (100)*	8.4
	Sanriku-tubomina	April 8 - May 17	202.7 (100)	47,508 (100)	4.3
October 1 ²⁾	Morikei 234	April 21 - May 27	72.3 (60.7)	6,713 (44.0)	11.0
	Sanriku-tubomina	April 8 - May 10	101.6 (50.1)	18,225 (38.4)	6.3
October 11 ³⁾	Morikei 234	April 27 - May 18	42.8 (35.9)	3,944 (25.8)	10.3
	Sanriku-tubomina	April 14 - May 11	65.6 (32.5)	14,590 (30.7)	5.0

1) Average of 1990 and 1991.

2) Average of 1989 - 1991.

3) Average of 1989 and 1991.

*: The values are expressed as 100 for the data of Sep. 21 in each cultivar.

Table 4-7. Comparison of yield performance between Morikei 234 and check cv. Sanriku-tubomina of vinyl house culture at Nanbu laboratory of Iwate Hort. Exp. Stn. in 1990 and 1991.

Sowing date	Cultivar	Harvesting date	Yield (kg/a)	No. of stem harvested (stem No./a)	Average of single stem weight (g)
September 21	Morikei 234	Mar. 14 - May 17	172.3 (100)*	18,896 (100)*	9.5
	Sanriku-tubomina	Jan. 26 - Apr. 19	245.2 (100)	48,302 (100)	5.3
October 1	Morikei 234	Mar. 18 - May 17	115.6 (67.1)	12,357 (65.4)	9.7
	Sanriku-tubomina	Feb. 3 - Apr. 19	154.2 (82.9)	29,019 (60.1)	5.1
October 11	Morikei 234	Mar. 21 - May 17	105.8 (61.4)	12,303 (65.1)	8.0
	Sanriku-tubomina	Feb. 9 - Apr. 19	126.8 (51.7)	24,309 (50.3)	5.0

* : The values are expressed as 100 for the data of Sep. 21 in each cultivar.

Table 4-8. Eating quality of Morikei 234 and standard cv. Norin 16 in 1991 and 1992.

Quality	Cultivar	
	Morikei 234	Norin 16
(External quality)		
Color	Deep green	Light green
Gloss	Glossy	Waxy
(Eating quality)		
Sweet taste	Little	Nothing
Bitter taste	Nothing	Little
Texture	Good	Medium
Total estimate	Good	Medium

Samples harvested at Tohoku Nat. Agr. Exp. Stn. were boiled for 2 min. 8 panels tested.

Table 4-9. Eating quality of Morikei 234 and standard cv. Sanriku-tubomina in 1989 and 1991.

Quality	Cultivar	
	Morikei 234	Sanriku-tubomina
(External quality)		
Color	Deep green	Light green
Gloss	Glossy	Waxy
(Eating quality)		
Sweet taste	Sweet	Little
Bitter taste	Nothing	Nothing
Texture	Very Good	Good
Total estimate	Good	Medium

Samples harvested at Nanbu laboratory of Iwate Hort. Exp. Stn. were boiled for 2 min. 6 panels tested.

Table 4-10. Agronomic performance of Morikei 234 and standard cultivar Norin 16 at 5 experiment location in 1991 and 1992.

Field	Experiment location	Cultivar	Bolting date	Harvesting date	Yield (kg/a)	Relative yield (%)	Average of single weight (g)	Eating quality
Open culture	Aomori Field Crops	Morikei 234	Apr. 23	May 2 - June 12	137.0	165	22.3	Very good
	& Hort. Exp. Stn.	Norin 16	Apr. 19	Apr. 18 - May 31	83.1	100	16.2	Good
	Miyagi Hort. Exp.	Morikei 234	Mar. 14	April 7 - May 29	82.6	84	38.8	A little good
	Stn.	Norin 16	Feb. 19	Mar. 9 - May 18	97.9	100	32.2	Medium
	Gifu Agr. Res. Cent.	Morikei 234	Mar. 19	Mar. 4 - Apr. 28	73.9	137	18.4	Very good
Plastic house culture		Norin 16	Mar. 3	Jan. 12 - Mar. 23	54.0	100	18.1	Medium
	Aomori Field Crops	Morikei 234	Mar. 6	Feb. 11 - June 30	261.7	185	12.7	—
	& Hort. Exp. Stn.	Norin 16	Feb. 20	Feb. 2 - June 7	141.6	100	12.0	—
	Miyagi Hort. Exp. 1	Morikei 234	Feb. 20	Mar. 16 - May 12	92.1	75	69.0	—
	Stn. 1)	Norin 16	Jan. 10	Jan. 31 - Apr. 28	123.4	100	31.8	—
Nigata Stn.	Akita Agr. Exp. Stn.	Morikei 234	Feb. 22	Mar. 25 - Apr. 30	185.8	120	21.4	Good
		Norin 16	Jan. 30	Mar. 11 - Apr. 29	154.2	100	16.3	Medium
	Nigata Agr. Exp.	Morikei 234	Mar. 23	Mar. 31 - Apr. 29	76.9	109	26.8	A little good
	Stn.	Norin 16	Feb. 22	Feb. 23 - Apr. 11	70.5	100	21.2	Medium

1) Tested only 1991.

16号よりも85%多収であった。また主茎と側枝を合わせた平均一本重は全ての試験地で農林16号より重かった。以上の点から、盛系234号は晩生ではあるが、外観・食味に優れていることから、各検定場所でナバナとして有望であると評価された。

品種登録

以上の結果より、盛系234号はナタネ農林16号に比較して晩生ではあるが、主茎および側枝の若い花茎はナバナとして食味に優れ、収量が多く、青森県畑作園芸試験場においても十分な生育を示したことから、寒冷地帯でも栽培可能なナバナとして有望であると評価された。そして1993年(M11)に種苗法に基づき品種登録の申請がされると共に、1994年にナバナ農林1号として農林水産省育成農作物新品種に登録され、はるの輝と命名され、岩手県で奨励品種に採用された(Fig. 4-3)。

4. 考察

現在、岩手県三陸沿岸地域で栽培されている主なナバナ品種としては、オータムボエムと三陸つぼみ菜の2つがある。オータムボエムはキャンペストリス系ナバナであり、利用部位が花菜型の品種である。一方、三陸つぼみ菜はナプス系ナバナであり、在来種を素材に選抜を重ねて育成された葉蕾型の固定品種である。これらの品種は早生品種であることから寒冷地では越冬性が劣り、このため積雪寒冷地の露地栽培では収量低下と品質劣化をきたしている。そこで、東北の積雪寒冷地で越冬性が強く、食味、外観の優れた良質のナバナ品種に対する要望が高かった。また近年、地域特産野菜の産地化が図られており、優れた特徴を持つ新品種の開発が望まれていた。

はるの輝はトワダナタネのワックス質が低減化した突然変異個体の後代より選抜育成された利用部位が茎葉蕾型の晩生種であり、原品種のトワダナタネと同様にナタネ農林16号や三陸つぼみ菜に比べて耐寒雪性に優れている。このため、東北の積雪寒冷地においても栽培が可能である。

ナプス系ナバナの優点の一つとしてキャンペストリス系に比べて甘味があり、くせのない点があげられる。このため、ナプス系ナバナの新品種の育成には、食味特性の評価が大きな問題となる。はるの輝は品質特性試験の結果にも現れているように、農林16号や三陸つぼみ菜に見られる苦みが認められず、青臭みが少ない。また茎が柔らかく、歯ざわ



Fig. 4-3 A new vegetable rape cv. Harunokagayaki.

りや舌ざわりが優れており、外観の色彩は濃緑色で光沢を有し、ゆで上げたときの緑色が鮮やかである。このように、はるの輝は当初の育種目標にそった良食味で、外観に優れた品種と言える。

さらに収量性についてみると、農林 16 号に比べて育成地では主茎、側枝ともに多収性を示し、各検定場所においても同様の傾向が見られた。

はるの輝が他のナプス系のナバナと区別できる大きな特徴の一つは、表皮にワックス質が見られないことである。通常、農林 16 号などのナタネは茎葉を覆う紛状のワックス質を有しているが、はるの輝には見られない。このワックスレス形質ははるの輝の商品としてのセールスポイントの一つであり、新たに品種を育成する際に重要な形質になるものと考えられる。このため、今後は異なる遺伝子型を有するワックスレス遺伝資源の収集が望まれる。

以上のように、はるの輝は当初の育種目標であった耐寒雪性、優れた外観、良食味を一応達成した品種と言える。はるの輝の春播き性程度は I で晩生種に属する。このため、農林 16 号や三陸つぼみ菜などの従来の早生品種と組合せて栽培することで長期出荷が可能となり、作期の拡大に有効である。また、越冬性に優れるために冬季の無加温栽培が可能であり、ハウスの有効活用の面からも有望である。しかし、春播き性の程度が低いナタネは花芽分化に一定期間の緑体春化を必要とする（志賀 1981、篠原 1959）。このため、はるの輝は花芽が分化するのに長期の低温遭遇期間を要し、ハウス栽培による早期出荷を行うには育苗時に低温処理を行う必要がある。このことは、はるの輝の早期出荷を目指した作型の前進化を図るためには、低温処理技術を含めた新たな栽培技術の開発が必要であることを意味している。今後は、周年出荷の作型に対応した新たな栽培技術の開発と優良な早生品種の育成、およびはるの輝が根こぶ病に罹病性であることから根こぶ病抵抗性を併せ持つ品種を育成することが必要であろう。

第2節 ワックスレス形質の遺伝的・組織学的特性

1. 緒言

第1節において、ワックスレス突然変異体を用いたナバナの新品種育成について述べた。このワックスレス突然変異体の形質がどのような遺伝様式を示すのか、あるいはワックスレス形質がどのような形態を示しているのかを明らかにすることは、今後、本品種を交配母本としてワックスレス形質を導入した新たなナバナ品種を育成するための必要不可欠な情報となる。さらに、ワックスレスという形質発現の機構を明らかにする上で、基礎的知見を提供できる。そこで、本節ではワックスレス変異体に見られるワックスレス形質の遺伝様式を明らかにした。さらに、ワックスレス変異体ではクチクラ層の外表面に存在するエピッククチラワックス（以下、EW と略す）の形態やその量が著しく変化していると考えられるため、走査型電子顕微鏡（以下、SEM と略す）を用いて観察し、検討を加えた。

2. 材料及び方法

ワックスレス形質の遺伝分析には盛系 234 号とワックスタイプの 2 品種 Lergo および Topas を用い、1993 年に盛系 234 号とワックスタイプの品種間での正逆交雑により得られた F_1 種子と、1994 年に F_1 植物の自殖により得られた F_2 種子および F_1 に盛系 234 号を戻し交配して得られた BC_1 種子を供試した。分離比の検定のために、1994 年 9 月に供試材料を東北農業試験場盛岡試験地の試験圃場または温室内のペーパーポットに播種し、本葉が 5-6 枚の時期にワックス形質の有無を調査した。

ワックス形態の SEM による観察には、盛系 234 号とワックス品種として盛系 234 号の原品種であるトワダナタネおよび農林 16 号を供試した。観察用試料は播種後 4 週間温室で栽培した株、あるいは播種後 3 週間温室で栽培した後、 $6 \pm 2^\circ\text{C}$ ・12 時間日長の低温条件下で 12 週間栽培した株の第 3 葉から採取した。さらに、同様の条件下で 24 週間低温処理を行い、抽苔した株の中位葉からも採取した。SEM 観察のためのサンプル調製は谷口ら（1995）の方法に従い、それぞれの葉の中央部を 1 次および 2 次支脈が含まれるようにカミソリで細切し、固体・液体窒素（ -210°C ）で急速凍結させ、真空凍結乾燥機（ -60°C 、 10^{-3} Pa）で 18 時間乾燥させた。得られた乾燥試料の一部は、葉の表面上の EW の有無を確認するためにクロロホルム中で振とうしながら 5 分間、洗浄した。乾燥試料は試料台に

導伝接着剤で固定し、金コーティングを行ってから加速電圧 10KV で SEM (JSM、T-300) 観察した。

葉面上のエピクチクラワックス面積の測定は、SEM 写真をイメージスキャナでパーソナルコンピュータに取り込んだ後、画像解析ソフト 'NIH Image' によって行った。

3. 結果

盛系 234 号と Lergo および Topas との正逆交雑で得られた F_1 は、全ての個体がワックス形質を有していた。各 F_1 を自殖して得られた F_2 集団と、 F_1 に盛系 234 号を戻し交雑した BC_1 集団のそれぞれについて、各組合せ 500 個体を目標として調査した遺伝分析の結果を Table 4-11 に示した。 F_2 集団においては、全ての組合せでワックス型とワックスレス型に分離した。 χ^2 検定の結果、いずれの組合せにおいてもワックス型：ワックスレス型が 15：1 の分離比に適合し、また正逆交雑による分離比の歪みは見られなかった。さらに、 F_1 に盛系 234 号を戻し交配して得た BC_1 個体では、ワックス型：ワックスレス型が 3：1 の分離比に適合した。以上の結果から、盛系 234 号におけるワックスレス形質は核に存在する 2 対の劣性遺伝子に支配されることが明らかとなった。

EW の形態観察に供試した盛系 234 号とその原品種であるトワダナタネを Fig. 4-4 に示した。盛系 234 号の葉および花茎の外観は、光沢のある鮮やかな緑色をしている。一方のトワダナタネは植物体の表面がワックス質で覆われ、白みを帯びた深い緑色をしている。播種後、4 週間温室栽培した供試品種の葉の表面上 EW の形態を SEM で観察し、その写真を Fig. 4-5 に示した。ワックスタイプのトワダナタネでは、表皮細胞の表面には多数の EW が認められた (Fig. 4-5-a)。観察された EW は約 0.5~4 μ m の大きさで、不定形の結晶状や多少棒状となった形態を示し、葉の向軸面より背軸面に多く分布していた。しかし、軸面やワックスタイプの品種間における EW 形態の差は認められなかった (データ省略)。一方、ワックスレス変異体の盛系 234 号における葉の表面上 EW は、原品種でワックスタイプのトワダナタネと形態的および量的に明らかな違いが認められた (Fig. 4-5-b)。すなわち、盛系 234 号ではトワダナタネで観察された結晶状不定形ワックスとは異なる 0.2~0.5 μ m の大きさの顆粒状結晶物が少量観察された。この物質は SEM 観察用の乾燥試料をクロロホルム中で洗浄することにより、トワダナタネの EW 同様に流失したことからワックス成分と考えられ (Fig. 4-5-c, d)、ワックスレス変異体におい

Table 4-11. The segregation ratios of waxy (normal) and waxless seedlings in F₂ and BC₁.

Cross ¹⁾	No. of plants examined	Waxy	Waxless	Expected ratios	χ^2 value	Probability
Lergo \times MK234	467	440	27	15:1	0.106	0.50-0.75
MK234 \times Lergo	529	500	29	15:1	0.418	0.50-0.75
Topas \times MK234	362	338	24	15:1	0.038	0.50-0.75
MK234 \times Topas	473	448	25	15:1	0.606	0.25-0.50
(Lergo \times MK234) \times MK234	510	374	136	3:1	0.669	0.25-0.50
(MK234 \times Lergo) \times MK234	497	378	119	3:1	0.245	0.50-0.75
(Topas \times MK234) \times MK234	497	368	129	3:1	0.192	0.50-0.75
(MK234 \times Topas) \times MK234	551	408	143	3:1	0.393	0.50-0.75

1) Lergo, Topas: waxy type, MK234 (Morikei 234): waxless type.

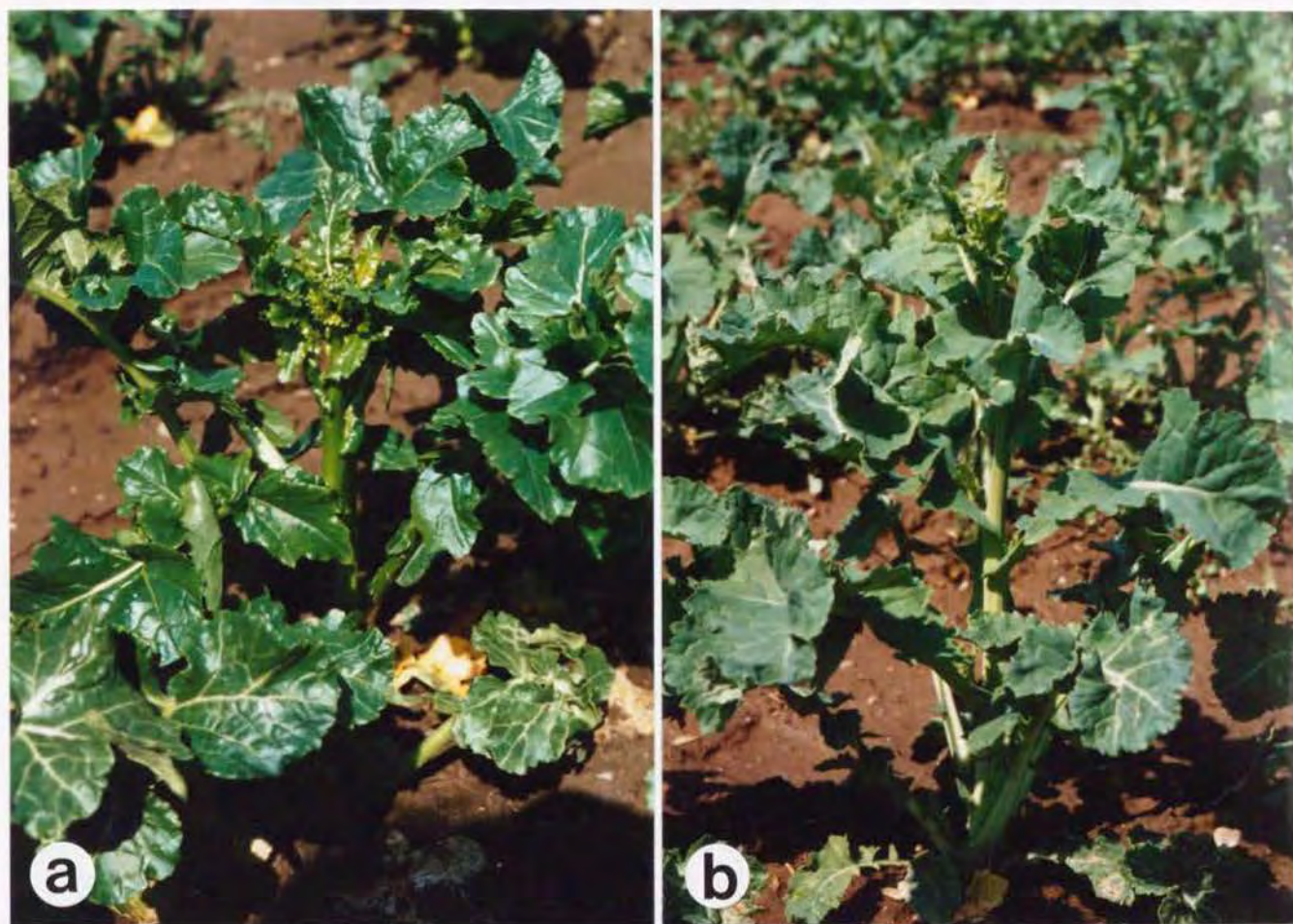


Fig. 4-4. Variation of waxy character in vegetative organs. (a) Waxless mutant Morikei 234, (b) Waxy (normal) cultivar Towadanatane.

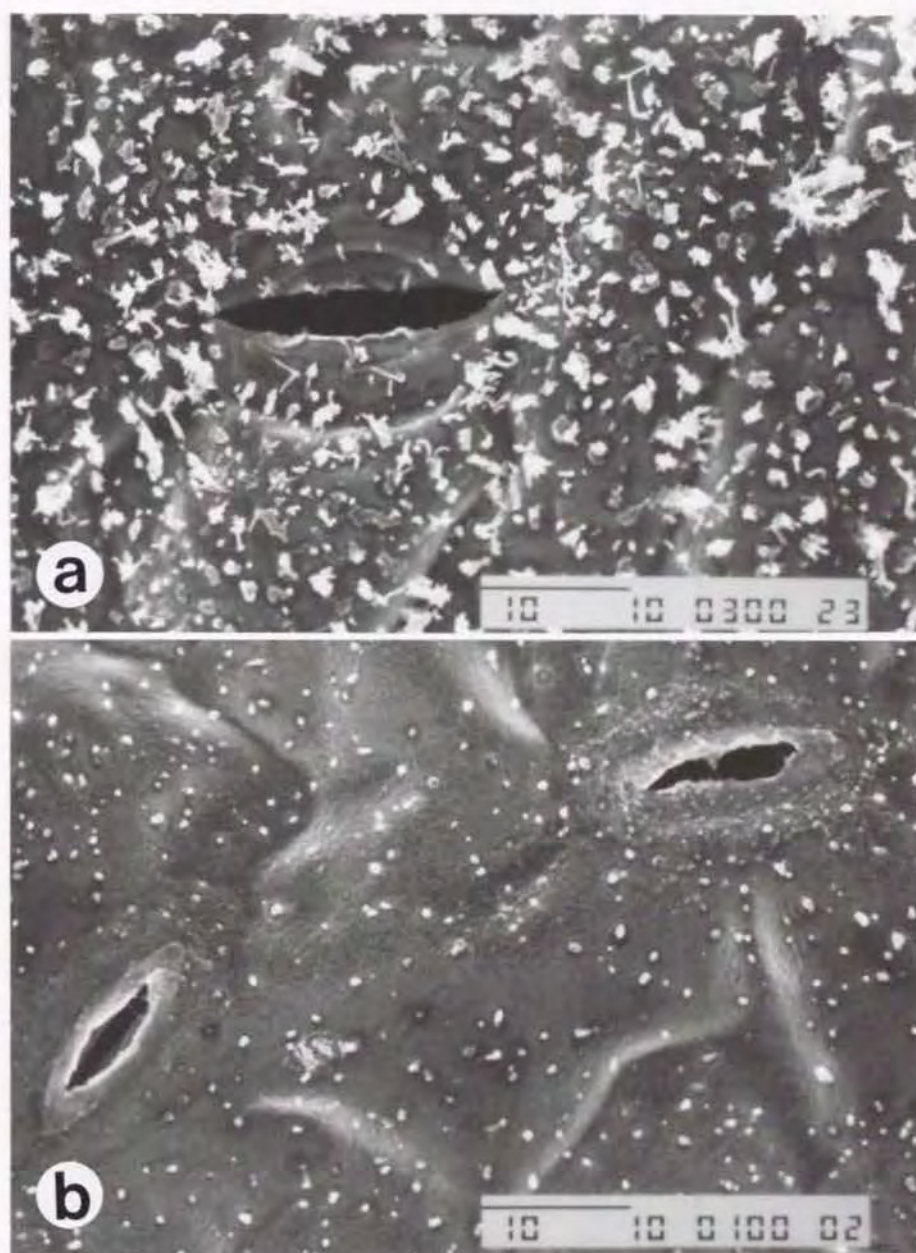


Fig. 4-5. Scanning electron micrographs of third leaf surfaces of rapeseed plants grown in the greenhouse for four weeks. Bar = 10 μ m. (a) Irregular crystalloid wax and wax rods on abaxial leaf surface of waxy (normal) type cv. Towadanatane. (b) Granular crystalloid wax on abaxial leaf surface of waxless mutant Morikei 234.

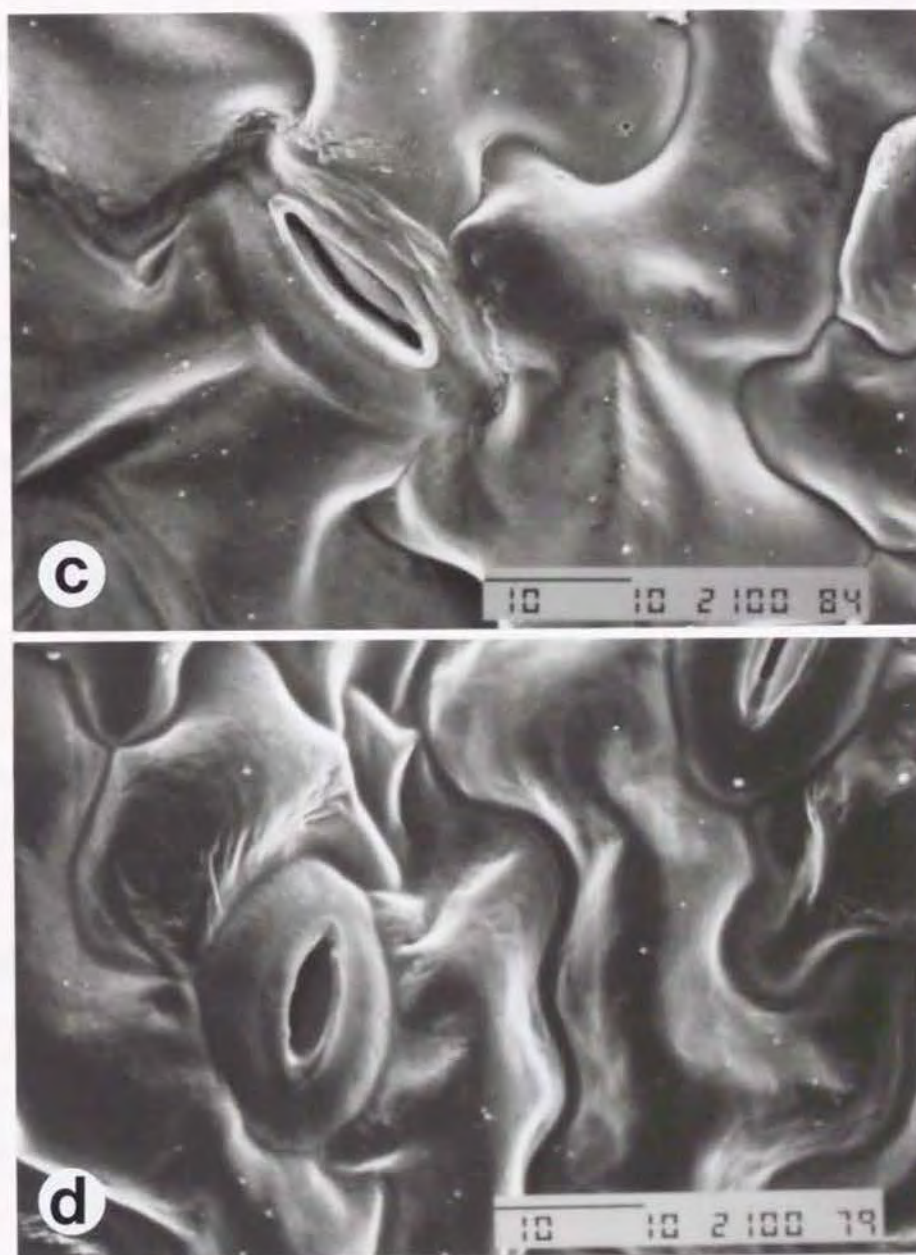


Fig. 4-5. Continued. (c) Abaxial leaf surface of Towadanatane after washing in chloroform for 5 minutes. (d) Abaxial leaf surface of Morikei 234 after washing in chloroform for 5 minutes.

ても葉面上に極少量のワックスが存在するものと推察された。

生育期における低温が盛系 234 号とトワダナタネの葉面上ワックス含量に及ぼす影響を調査した。Fig. 4-6 には低温処理した個体の葉の背軸面 EW の形態を示した。また、Fig. 4-7 には画像解析ソフト 'NIH Image' を用いた画像の二値化処理によるワックス面積の抽出と、Table 4-12 には 'NIH Image' によって測定した葉の背軸面 EW 含量の変化を示した。トワダナタネでは低温無処理個体と同様に不定形の結晶状 EW や成長した棒状 EW が観察されたが、低温処理による EW 形態の著しい変化は認められなかった (Fig. 4-6-a)。しかし、EW は低温処理期間が長くなるに伴い結晶構造が大きくなり、その量も増加する傾向が見られた (Table 4-12)。一方、盛系 234 号では低温無処理個体と同様に顆粒状結晶物が観察されたが、トワダナタネとは逆に低温処理によって EW 量は減少する傾向が見られた (Fig. 4-6-b, Table 4-12)。以上の結果から、盛系 234 号では生育期の低温遭遇によっても EW 含量は増加せず、このことによる外観品質の低下は生じないことが明らかとなった。

4. 考察

本研究において盛系 234 号のワックスレス形質は核由来の 2 対の劣性の主働遺伝子に支配されていることが明らかとなった。これまでに、ナタネのワックスレス形質については、Thompson (1972) が不完全優勢を示すワックスレス形質 (*G*) について、また Mo ら (1992) は 2 対の劣性遺伝子によるワックスレス形質 (*W*) について報告している。さらに、Mo ら (1995) は Bodnaryk (1992) が報告した品種 Nilla glossy についての遺伝分析を行い、このワックスレス形質は 2 対の劣性遺伝子によることを報告した。盛系 234 号に見られるワックスレス形質は Mo ら (1995) の報告と同様に 2 対の劣性遺伝子によることが明らかとなった。しかし、このワックスレス遺伝子が Nilla glossy におけるワックスレス遺伝子と同一座上のものであるかは不明であり、今後明らかにする必要があると思われる。一方、本ワックスレス形質が 2 対の劣性遺伝子に支配されていることは、実際の育種場において F₂ 世代におけるワックスレス個体の選抜が容易なことを示し、ワックスレスによる優れた外観品質を持つ新たなナバナ品種を育成する上で極めて有用であると考えられる。また、形態的な遺伝マーカーが少ないナタネにおいて、1 つの重要な遺伝的マーカーとして利用価値が高いと考えられる。

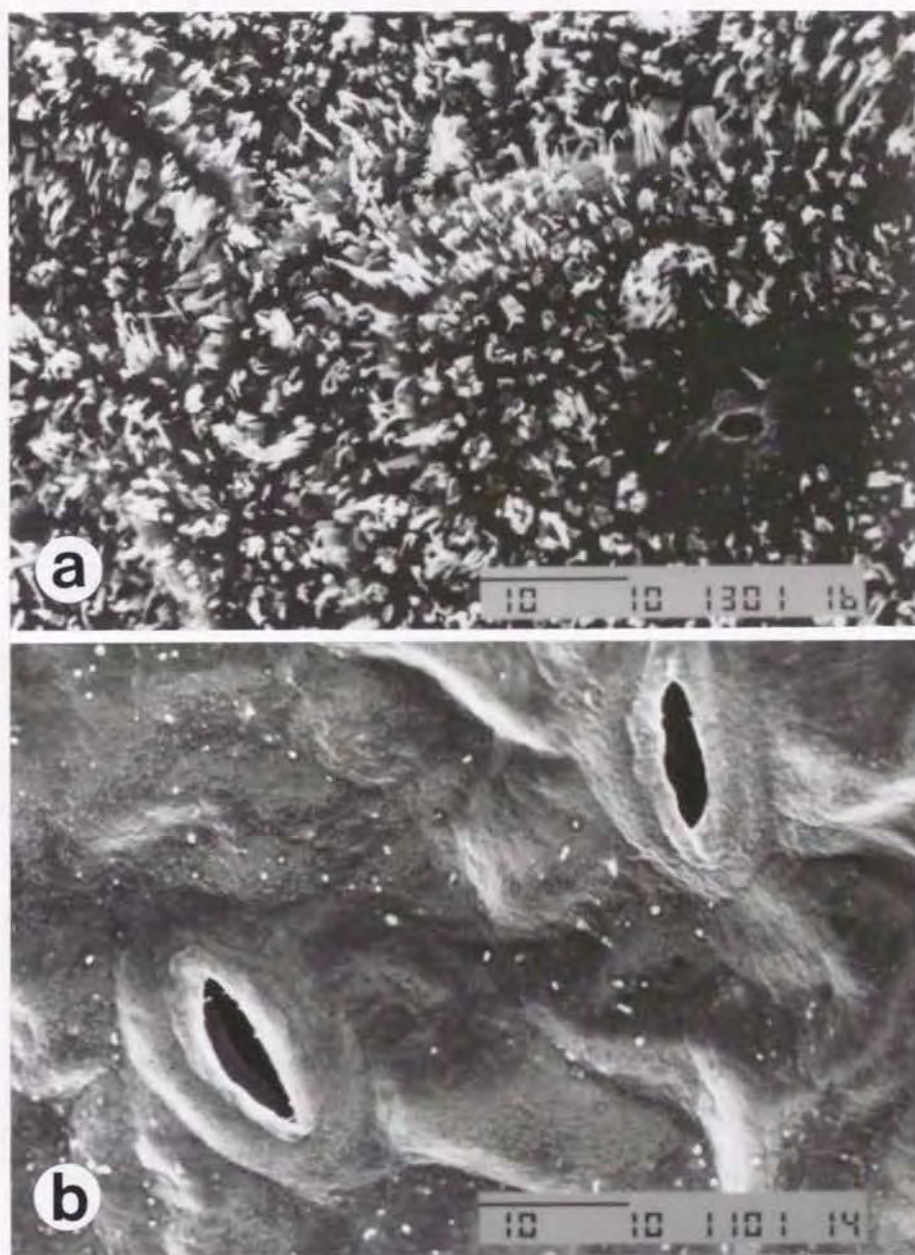


Fig. 4-6. Scanning electron micrographs of abaxial leaf surfaces of grown rapeseed plants in the growth chamber at a constant temperature of $6 \pm 2^\circ\text{C}$, with photoperiod of 15h/day for 24 weeks. Bar = $10 \mu\text{m}$. (a) Irregular crystalloid wax and wax rods on leaf surface of waxy (normal) type cv. Towadanatane. (b) Granular crystalloid wax on leaf surface of waxless mutant Morikei 234.

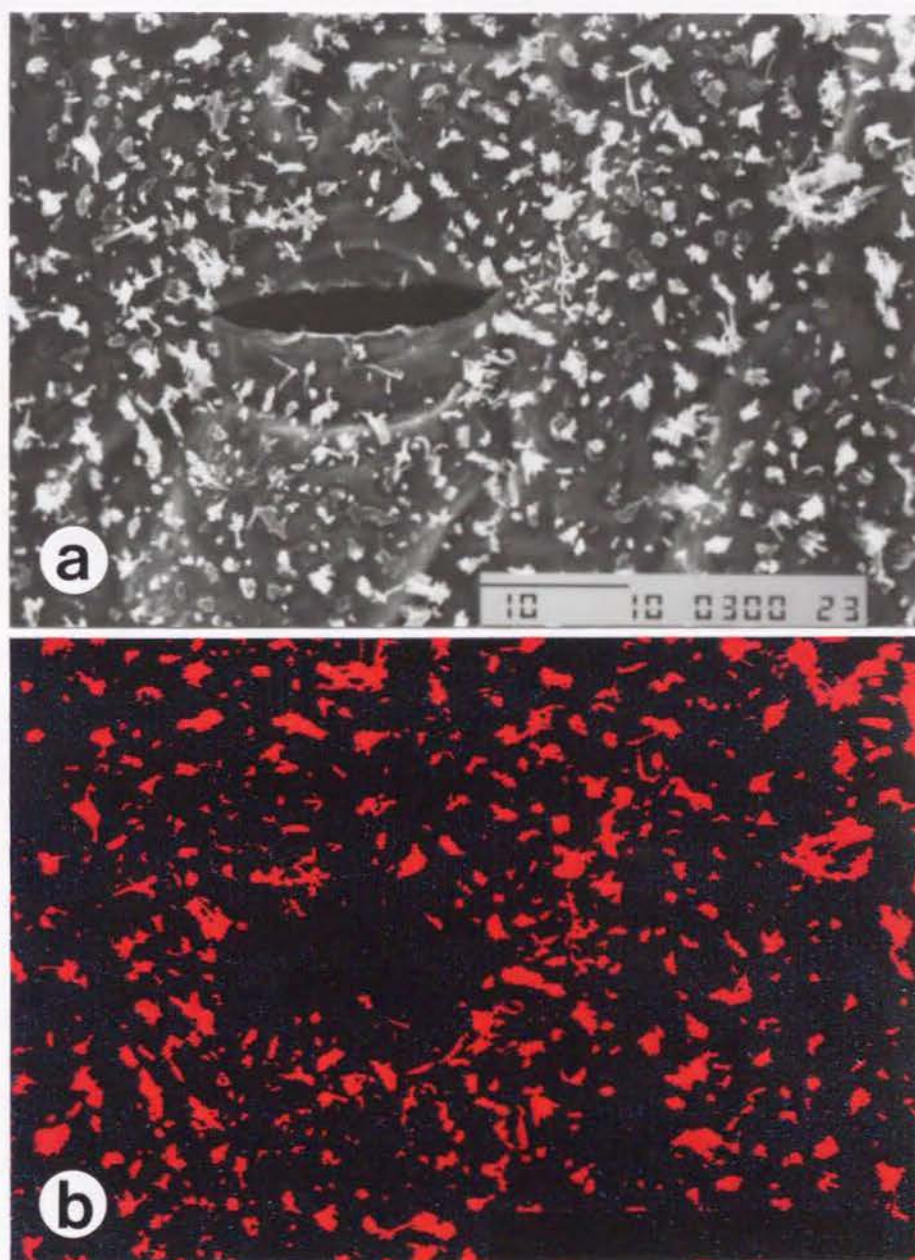


Fig. 4-7. Abstraction of wax area by digital-image analysis software 'NIH Image'. (a) Scanning electron micrographs of epicuticular wax on abaxial leaf surfaces of waxy (normal) type cv. Towadanatane. (b) Threshold treatment of digital-image by 'NIH Image' software.

Table 4-12. Effect of cold treatment on wax area of third abaxial leaf in waxy (normal) type and waxless type of rapeseed.

Cultivar	Period of cold treatment (weeks)		
	0	12	24
Towadanatane ¹⁾	$15.7 \pm 1.6^{a, 3)}$	21.8	22.5
Morikei 234 ²⁾	4.6 ± 1.2^a	1.1	0.9

1) Waxy type

2) Waxless type

3) % of wax area per 1mm² area of leaf.

Figures followed by same letter are significantly at $P < 0.01$.

本研究において、盛系 234 号の葉面上に極少量のワックスが存在することが明らかとなった。この結果はナタネおよび *B. oleracea* でワックスレス変異体の葉面上にはワックスタイプ品種の約 2/3~1/3 のワックスが存在するという報告 (Bodnaryk 1992、Eigenbrode *et al.* 1991) と一致する。EW は表皮細胞の細胞質で合成された後、表皮細胞外壁を浸透してエピクチラの表面に分泌され、その表面を覆う薄い層状のワックスとその表面上に様々な形態で立体的に存在する結晶状のワックスという 2 つの形態として存在する (Price 1982)。これらのうち、盛系 234 号では結晶状のワックスが激減しているものと考えられた。今回、盛系 234 号においても顆粒状ワックスが観察されたことから、このワックスは不定形結晶状ワックスとは異なる遺伝子の発現により生成されたものと推察される。しかし、顆粒状ワックスはナタネの葉面には普遍的に存在しているものなのか、盛系 234 号においてワックス形成遺伝子がブロックされたことにより新たなワックス合成遺伝子が発現し、生成されたものなのかは不明である。

冬期のハウス栽培において、葉菜類は一定期間低温に遭遇すると食味や栄養価が高まる (加藤ら 1995)。しかし、ナタネでは生育期に低温処理を行うと葉面上のワックスが増加することが経験上知られている。このため、盛系 234 号でこのような低温処理を行うと莖葉面の EW 増加による外観品質の低下が懸念される。そこで、生育期の低温が葉面上に観察されたワックス含量に及ぼす影響を調査したところ、盛系 234 号では生育期の低温遭遇によっても EW 含量は増加せず、このことによる外観品質の低下は生じないことが明らかとなった。EW は同一植物体においても気温や風、日射などの外的要因や、部位または生育ステージなどの内的要因の影響によって質的および量的に多様に変化するが、これはワックスを構成する化学成分の組成や量が変わるためと考えられる (Mewhorter 1993、Gülz 1994、谷口ら 1995)。本研究ではワックスタイプの品種およびワックスレス品種ともに低温処理期間による EW 形態の変化は認められなかったことから、ナタネでは低温処理によるワックス構成成分の質的变化は小さいと考えられる。

植物の表皮細胞は外部環境の影響を直接受ける。表皮細胞の外表面に存在する EW は体内 (クチクラ) からの水分の蒸散を防いだり、病原菌や害虫からの防御などの生体保護の働きをしていると考えられている (Baker 1982)。一方、Stoner (1990) や Ellis ら (1996) は多数の *B. oleracea* 作物を調査した結果、キャベツやブロッコリーのワックスレス品種は青虫やコナガ、キャベツアブラムシに対して圃場抵抗性を示すことを明らかにし、高度

抵抗性を示すワックスレス品種を利用した害虫抵抗性育種の可能性について報告している。しかし、ワックスレス変異体が抵抗性を示すメカニズムはワックスレスによる物理的特性によるものなのか、ワックスレス遺伝子の発現による生理的なものなのかは不明である。ナタネは *B. oleracea* と *B. campestris* の複二倍体であるため、本種のワックスレス変異体においても上記の害虫に対する抵抗性の存在が期待できる。このため、盛系 234 号に見られるワックスレス形質はナバナの外観品質の改良のみならず、アオムシやコナガなどの害虫性の遺伝資源として利用できる可能性があり、今後ナバナ育種を進める上で、これらの特性に対する詳細な検討が必要であると考えられる。

第5章 総合考察

我が国におけるナタネ育種は、その主要な育種目標が不良環境適応性、耐倒伏性、耐病性、多収・良質品種の育成といった栽培適性の向上に力が注がれてきた。1990年に種子成分品質を改善した、我が国初の無エルシン酸品種であるアサカノナタネとキザキノナタネが育成されたが、ナタネ栽培を振興するためにも、さらに付加価値が高い新たな形質を有する品種の育成が望まれている。このため、本研究は品質の改良により新たな用途が期待できるナタネ品種の開発を目指したものである。

種子グルコシノレート成分に関する研究では、グルコシノレートの分離・定量技術確立する必要があった。これまで、日本ではグルコシノレート含量の低減化に関する研究は実施されておらず、テストテープ法を用いて簡易にグルコシノレート含量を評価しているのみであった。このため、日本品種に含まれるグルコシノレート含量や組成は不明であり、交配母本を選定する上でも日本品種に含まれるグルコシノレート含量および組成を正確に評価する必要があった。そこで、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分離したピークを分取することなく質量分析計（MS）で分析できる LC/MS による同定を試みた。イオン化方法として大気圧化学イオン化（APCI）法を用いたところ、容易に10種のグルコシノレートを同定することができた。APCI法は応用範囲の広さや操作性に優れていることから、LC/MSのインターフェースとしての普及が予想される。このことから、グルコシノレートを同定する上で LC/APCI-MS は優れた分析手段であることが確認された。

HPLCによるクロマトグラム上のピークが同定されたことから、HPLC分析により現在までに育成された主要な日本産ナタネ品種のグルコシノレート成分を測定し、グルコシノレート成分に基づく日本品種の変異性を解析した。その結果、日本品種には品種間差異が認められ、北東北から北海道に適応する品種はグルコシノレート成分の変異性が小さいのに対し、その他の地域に適応する品種は変異性が大きく、これらのグループは明確に区分された。このような地理的変異が存在する理由として、日本のナタネ品種に特有なナタネ（*B. napus*）と在来ナタネ（*B. campestris*）との種間交雑の影響が考えられ、南東北以南の品種ではこのような組合せが多いために変異性が大きいものと推察された。さらに、グルコシノレート含量の低減化や組成を改変するための新たな遺伝資源を探索するために、日本産ナタネの850品種・系統を含む *Brassica* 属6種の遺伝資源1,173点について

種子グルコシノレート进行调查した。その結果、ナタネでは総含量は 70.5~235.8 μ mol/g の範囲で変異していた。この結果は、日本品種には低グルコシノレート遺伝資源として利用されている品種 Bronowski のグルコシノレート含量 (15 μ mol/g) まで低減化した変異体は存在しないことを示していた。しかし、各グルコシノレート成分について見てみると、主要グルコシノレートである aliphatic 系の progoitrin 含量が著しく低下したナタネの変異体が見いだされた。この変異体の組成は *B. campestris* と非常に類似しており、その系譜上で在来ナタネ (*B. campestris*) との関わりが認められるため、progoitrin 合成を阻害する遺伝子は在来ナタネからの移入が推察された。他の *Brassica* 属植物においても、総グルコシノレート含量が低い系統や aliphatic 系主要グルコシノレート含量が低い系統が、また今回の調査では最も変異性が乏しかった indolyl 系の 4-hydroxy-glucobrassicin 含量が低下した系統が見いだされた。以上の結果から、*Brassica* 属のゲノム構成とグルコシノレート組成は密接に関係していることが確認された。*Brassica* 属植物は種間雑種が比較的容易に得られるため (Prakash and Hinata 1980)、これらの変異系統を利用し、種間交雑等でナタネに変異形質を導入することが可能と考えられる。例えば、aliphatic 系のグルコシノレート合成を制御し、カラシナのように sinigrin のみを蓄積するといった、これまでの品種には見られない全く新しいグルコシノレート組成を持つナタネを作出できる可能性があり、グルコシノレートに関する新たな育種の方向性が示唆される。今後は、総グルコシノレート含量のさらなる低減化と共に、グルコシノレート組成の改変も育種目標となろう。また、これらの変異系統はグルコシノレート合成系を明らかにするための有用な素材となり、合成系に関与する遺伝子を単離することにより、従来の育種法だけでなく、遺伝子工学技術を利用したグルコシノレート含量の低減化、組成の改変育種も可能になるものと思われる (GrootWassink 1994)。

これまで、低グルコシノレート個体の選抜は F_2 植物上の F_3 種子をバルクで検定していた。本研究により、発芽した半子葉を用いて F_2 個体レベルでグルコシノレート含量を評価できる簡易検定法を開発した。本検定法は、1) 種子と発芽子葉中のグルコシノレート含量はほとんど変わらないこと、2) グルコシノレートから遊離したグルコースは比色試薬を用いて吸光度による測定が可能なこと、3) グルコシノレート含量と遊離したグルコース含量とは相関が高いことを利用するものであり、簡便であることから育種現場での利用が可能である。本検定法を用いることで 1 世代早く低グルコシノレート個体を選抜する

ことができるため、本法はグルコシノレート含量の低減化育種を前進させるための有効な手段になるものと思われる。

低グルコシノレートの品種育成に関しては、日本の優良系統と外国の無エルシン酸・低グルコシノレート品種との交配から、日本で初めての無エルシン酸・低グルコシノレート形質を持つ多収系統の東北 90 号を育成した。東北 90 号のグルコシノレート含量は $15 \mu \text{mol/g}$ 程度であり、外国で最近育成された低グルコシノレート品種の含量と比べても遜色はない。また、東北 90 号はアサカノナタネと同じく中生種と考えられるが、アサカノナタネに比べて菌核病抵抗性に優れ、多収性を示すことから新品種として有望である。

ナタネ油は食用油脂だけでなく、工業用油脂としても重要である。しかし、世界の主な育成品種のほとんどが食用油用であり、工業用油として重要な脂肪酸であるエルシン酸を低下させている。そこで、工業用油脂としての需要が高いエルシン酸含量を遺伝的改変によって高めた高エルシン酸系統の育成についても検討した。育種材料を探索するために、日本産および外国産のナタネ遺伝資源 1,114 点についての脂肪酸組成を調査したところ、エルシン酸については日本産のナタネで 56% の含有率を超える農林 16 号や九州 36 号が見いだされた。農林 16 号や九州 36 号は年次間での変動が小さく、遺伝的にも安定であることが明らかとなった。さらに、本高エルシン酸系統（農林 16 号）と外国の無エルシン酸・低グルコシノレート品種を交配して、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。その結果、エルシン酸含量が 56% 程度の高エルシン酸系統を選抜することができたが、低グルコシノレート形質を付与することはできなかった。各脂肪酸においても変異性が認められ、特にリノレン酸では通常の 40% 程度にまで低減した系統が見いだされた。リノレン酸は酸化しやすいために、外国ではその含量を低下させることも育種目標となっている。このことから、この系統はリノレン酸の低減化育種を行う上で貴重な遺伝資源になるものと考えられる。各脂肪酸間の相関関係は、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があるが、リノール酸やリノレン酸とは相関関係は見られない。また、リノール酸はオレイン酸やリノレン酸と相関関係が見られないことから、高エルシン酸系統とオレイン酸含量が高く、リノール酸とリノレン酸含量の和が低い系統とを交配することで、オレイン酸含量をエルシン酸合成経路に回すことができ、さらにエルシン酸含量を高めることが可能であると推察された。

ナタネは世界的には油糧用としての利用がほとんどであるが、我が国ではナバナとして

の野菜用にも利用される。しかし、ナタネの茎葉にはワックスが存在し、同じナバナとして利用されているワックスレスタイプの *B. campestris* よりも外観品質が劣る。そこで、ナタネ栽培の多様性および拡大を図る目的で、ワックスレス突然変異体を利用してナバナ用の品種はるの輝を育成した。この品種は従来のナバナ品種には見られないワックスレス形質を有するため、外観品質に優れている。また、育種目標である越冬性や食味についても当初の目標を達したといえる。はるの輝の優良形質であるワックスレス形質について遺伝分析を行ったところ、核由来の2対の劣性遺伝子に支配されていることが明らかとなった。はるの輝は晩生種であるために、今後は早生の作型に対応した新たな品種育成が必要であるが、ワックスレス形質が2対の劣性遺伝子に支配されていることは、はるの輝を育種材料として利用した際にワックスレス遺伝子型の選抜が容易であることを示している。また、本品種のワックス形質の発現を明らかにするために葉面上のエピクチクラワックスを走査型電子顕微鏡を用いて観察したところ、ワックスタイプの品種とは形態的に異なるものの、ワックスレスタイプである本品種においてもごく少量のエピクチクラワックスが存在することが明らかとなった。キャベツやブロッコリーのワックスレス個体は害虫に対して圃場抵抗性を示すことから、はるの輝の耐病虫性についても詳細に検討する必要がある。

以上のように、本研究はナタネの品質改良のために、日本で保存されているナタネ遺伝資源を中心に種子グルコシノレートおよび脂肪酸組成を評価すると共に、それらを利用した新たな油糧用ナタネ品種および野菜用ナタネ品種の育成を試みたものである。その育成系統の一部は品種として既に世にでており、一部は有望系統となっている。また、実際の育種に利用した変異形質以外にも、本研究において種々の変異形質を持つ系統が見いだされている。今後、これらの変異系統は実際の育種のみならず、基礎的形質の遺伝、形質発現等を明らかにすると共に、遺伝子単離のための素材として利用されることが期待される。

摘 要

本研究では、品質を基にした新形質を有する油糧用および野菜用のナタネ (*Brassica napus* L.) 品種の開発を目的として、油糧用ナタネについては種子に含まれるグルコシノレート成分の低減化やエルシン酸含量の向上について、野菜用ナタネについては植物体の表皮上に存在するワックス成分に着目して、日本で保存されている遺伝資源の評価を行うと共に、新品種育成のための遺伝・育種学的な研究を行った。

1. グルコシノレート成分の遺伝的変異性と品種育成に関する育種学的研究

これまで、日本ではグルコシノレート含量の低減化に関する研究は実施されておらず、日本品種に含まれるグルコシノレート含量や組成も不明であった。そこで、HPLC に大気圧化学イオン化質量分析計を接続したシステムを用いてグルコシノレートの分離・同定を行った。このシステムを用いて容易に 10 種のグルコシノレートが同定された。次に、現在までに育成された日本産ナタネ品種のグルコシノレート成分に基づく変異性を解析し、品種間差異を明らかにすると共に、北東北から北海道に適応する品種はその他の地域に適応する品種に比べて変異性が乏しいといった地理的な変異が存在することを明らかにした。また、グルコシノレート含量の低減化や組成の改変のための新たな遺伝資源を探索するために、日本産ナタネ 850 品種・系統を含む *Brassica* 属 6 種の遺伝資源 1,173 点について種子グルコシノレートを調査した。その結果、ナタネでは総含量は 70.5~235.8 μ mol/g の範囲で変異していることを明らかにすると共に、主要グルコシノレートである progoitrin 含量が著しく低下したナタネの変異体を見いだした。他の *Brassica* 属植物にも変異系統が見いだされ、これらの遺伝資源を利用することでグルコシノレート組成の改変に関する新たな育種の方向性を示した。さらに、発芽した半子葉を用いて F_2 個体でグルコシノレート含量を評価できる検定法を開発し、グルコシノレート含量の低減化育種のための早期選抜に道を開いた。実際の品種育成に関しては、日本の優良系統と外国の無エルシン酸・低グルコシノレート品種との交配から、日本で初めての無エルシン酸・低グルコシノレート形質を持つ多収系統の東北 90 号を育成した。

2. 脂肪酸組成の遺伝的変異性と高エルシン産品種育成に関する育種学的研究

工業用油脂としての需要が高いエルシン酸含量を遺伝的改変によって高めた高エルシン酸系統の育成を試みた。まず、育種材料の探索のために日本産および外国産のナタネ遺伝資源 1,114 点についての脂肪酸組成を調査した。その結果、各脂肪酸において変異性が見られ、特にエルシン酸では日本産のナタネで 56% の含有率を超える農林 16 号や九州 36 号が見いだされた。

各脂肪酸間の相関関係は、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があるが、リノール酸やリノレン酸とは相関は見られない。また、リノール酸はオレイン酸やリノレン酸と相関が見られないことから、高エルシン酸系統とオレイン酸含量が高く、リノール酸とリノレン酸含量の和が低い系統とを交配することでオレイン酸含量をエルシン酸合成の系へ回すことができるため、さらにエルシン酸含量を高めることが可能であると推察された。また、見いだされた高エルシン酸系統は年次間での変動が小さいことから、遺伝的に安定であることが明らかとなった。さらに、本高エルシン酸系統と外国の無エルシン酸・低グルコシノレート品種を交配して、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。その結果、エルシン酸含量が 56% 程度の高エルシン酸系統を選抜することができたが、低グルコシノレート形質を付与することはできなかった。

3. ナバナ優良品種の育成と遺伝育種学的研究

ナタネ栽培の多様性を図る目的で、ワックスレス突然変異体を利用して外観品質および越冬性に優れた良食味のナバナ用品種はるの輝を育成した。この品種の優良形質であるワックスレス形質について遺伝分析を行ったところ、核に由来する 2 対の劣性遺伝子に支配されていることが明らかとなった。また、本新品種のワックス形質の発現を明らかにするために、葉面上のエピクチクラワックスを走査型電子顕微鏡を用いて観察したところ、ワックスタイプの品種とは形態的に異なるものの、ワックスレスタイプである本品種においてもごく少量のエピクチクラワックスが存在することが明らかとなった。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、終始懇切な指導を賜った岩手大学教授海妻矩彦博士ならびに岩手大学教授江尻慎一郎博士に心より感謝の意を表する。また、本論文において校閲の労をとられた弘前大学教授新関 稔博士、山形大学教授笹原健夫博士ならびに岩手大学教授遠藤元庸博士に厚くお礼申し上げます。岩手大学教授高畑義人博士には、本論文の完成に至るまで多大な指導と有益な教授を賜った。ここに深く謝意を表したい。また、東北農業試験場作物開発部長番場宏治博士には、本論文を取りまとめるに当たり終始変わらぬ激励と助言をいただいた。東北農業試験場奥山善直資源作物育種研究室長（現農業研究センター資源作物育種研究室長）には本研究の端緒を与えられ、同千葉一美資源作物育種研究室長には特段の配慮をいただいた。心から深謝申し上げます。中国農業試験場星野次汪博士には終始温情ある激励と助言を賜った。研究の遂行に当たっては、東北農業試験場作物開発部西部幸男前部長、同育種工学研究室長日高 操博士、同品質評価研究室長佐藤暁子博士には格別の便宜と指導をいただき、同池田順一博士、渡辺 満氏には有益な助言をいただいた。ワックス成分の組織学的研究に当たっては、茨城大学教授松田智明博士に指導と助言を賜った。また、地域適応性および特性検定試験を行うに当たっては、青森県畑作園芸試験場、岩手県園芸試験場、秋田県農業試験場、宮城県園芸試験場、新潟県園芸試験場、岐阜県総合農業試験場ならびに鹿児島県農業試験場の担当者に協力を得た。さらに、東北農業試験場盛岡試験地の職員の方々には終始変わらぬ激励をいただいた。

以上の各位に対し、衷心より感謝の意を表する。

引用文献

- 阿部芳郎 (1988) 油脂の定義と組成 “油脂・油糧ハンドブック” 阿部芳郎 (監修) 幸書房 東京, 2-12.
- Albrecht S., C. Möllers and G. Röbbelen (1995) Selection in vitro for erucic-acid content in segregating populations of microspore-derived embryoids of *Brassica napus*. Plant Breeding 114 : 210-214.
- Auld D. L., M. K. Heikkinen, D. A. Erickson, J. L. Sernyk and J. E. Romero (1992) Rapeseed mutants with reduced levels of polyunsaturated fatty acids and increased levels of oleic acid. Crop Sci. 32 : 657-662.
- Baker, E. A. (1982) Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In “The plant cuticle” Cutler, D. F., Alvin, K. L., Price, C. E. (eds.), Academic Press, London, 139-165.
- Birch, A. N. E., D. W. Griffiths, R. J. Hopkins, W. H. M. Smith and R. G. McKinlay (1992) Glucosinolate responses of swede, kale, forage and oilseed rape to root damage by turnip root fly (*Delia floralis*) larvae. J. Sci. Food Agric. 60 : 1-9.
- Bjerg, B. and Sorensen, H. (1987) Quantitative analysis of glucosinolates and HPLC of intact glucosinolates. In “Glucosinolates in rapeseeds : Analytical aspects” Wathelet J-P. (ed.), Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 125-150.
- Bodnaryk, R. P. (1992) Leaf epicuticular wax, an antixenotic factor in Brassicaceae that affects the rate and pattern of feeding of flea beetles, *Phyllotreta cruciferae* (Goeze). Can. J. Plant Sci. 72 : 1295-1303.
- Buzza, G. C. (1995) Plant Breeding. In “*Brassica* Oilseeds : Production and Utilization” Kimber, D. and D. I. McGregor (eds.), CAB International, Oxon, 153-175.
- Canvin, D. T. (1965) The biosynthesis of long chain fatty acids in the developing castor bean. Can. J. Bot. 43 : 49-62.
- Chavadej, S., N. Brisson, J. N. McNeil and V. De Luca (1994) Redirection of tryptophan leads to production of low indole glucosinolate canola. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91 : 2166-2170.

- Downey, R. K. and B. Harvey (1963) Methods of breeding for oil quality in rape. *Can. J. Plant Sci.* 43 : 271-275.
- and B. M. Craig (1964) Genetic control of fatty acid biosynthesis in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Amer. Oil Chemists' Soc.* 41 : 475-478.
- and G. Röbbelen (1989) Brassica species. *In* "Oil crops of the world" Röbbelen G., R. K. Downey and A. Ashri (eds.), McGRAW-HILL, New York, 339-362.
- Dungey, S. G., J. P. Sang, N. E. Rothnie, M. V. Palmer, D. G. Burke, B. R. Knox, E. G. Williams, E. P. Hilliard and P. A. Salisbury (1988) Glucosinolates in the pollen of rapeseed and indian mustard. *Phytochemistry* 27 : 815-817.
- Eagles, J., Fenwick, G. R. and Heaney, R. K. (1981) Gas chromatography chemical ionization mass spectrometry of glucosinolate derivatives. *Biomed. Mass Spectrom.* 8 : 278-282.
- Eigenbrode, S. D., K. A. Stoner, A. M. Shelton and W. C. Kain (1991) Characteristics of glossy leaf waxes associated with resistance to diamondback moth (*Lepidoptera: Plutellidae*) in *Brassica oleracea*. *J. Econ. Entomol.* 84 : 1609-1618.
- Ellis, P. R., R. Singh, D. A. C. Pink, J. R. Lynn and P. L. Saw (1996) Resistance to *Brevicoryne brassicae* in horticultural brassicas. *Euphytica* 88 : 85-96.
- 遠藤武男、平岩 進、柴田悖次、菅原 俐 (1986) ナタネ農林登録品種の脂肪酸組成. 東北農業研究 39 : 117-118.
- Evans, E. and P., Bilborrow (1989) A comparison of rapid- (X-ray fluorescence, Near infrared reflectance) and glucose-release method for the determination of the glucosinolate content of oilseed rape (*Brassica oleracea* L.). *J. Sci. Food Agric.* 49 : 297-305.
- FAO/WHO 合同専門委員会報告 (1980) "人間の栄養における食用油脂の役割" 金田尚志 (監訳) 医師薬出版 東京, 81-83.
- Fenwick, G. R., Eagles, J. Gmelin, R. and Rakow, D. (1980) The mass spectra of glucosinolates and desulphoglucosinolates. *Biomed. Mass Spectrom.* 7 : 410-412.
- , G. R., Eagles, J. Gmelin, R. and Rakow, D. (1981) The chemical ionization mass spectra of glucosinolates (mustard oil glycosides) and desulphoglucosinolates. *A*

- useful aid for structural analysis. Biomed. Mass Spectrom. 8 : 265-269.
- , G. R., Eagles, J. and Self, R. (1982) The fast atom bombardment mass spectra of glucosinolates and glucosinolate mixtures. Org. Mass Spectrom. 17 : 544-546.
- Friedt W. and Lühs W (1995) Development in the breeding of rapeseed oil for industrial purposes. Proceeding of 9th International Rapeseed Congress 2 : 437-448.
- 藤川琢馬 (1988) なたね油 “油脂・油糧ハンドブック” 阿部芳郎 (監修) 幸書房 東京, 230-250.
- Gland, A., G. Röbbelen and W. Thies (1981) Variation of alkenyl glucosinolates in seeds of *Brassica* species. Z. Pflanzenzüchtg. 87 : 96-110.
- GrootWassink, J. W. D. (1994) The challenge of reducing glucosinolate levels in canora. “PBI Bulletin Feb.” Nat. Res. Council Canada. 1-4.
- Gülz, P.-G. (1994) Epicuticular leaf waxes in the evolution of the plant kingdom. J. Plant Physiol. 143 : 453-464.
- Harvey, B. L. and R. K. Downey (1964) The inheritance of erucic acid content in rapeseed (*Brassica napus*). Can. J. Plant Sci. 44 : 104-111.
- Heaney, R. K., E. A. Spinks and G. R. Fenwick (1988) Improved method for the determination if the total glucosinolate content of rapeseed by determination of enzymically released glucose. Analyst 113 : 1515-1518.
- Heath D. W. and E. D. Earle (1995) Synthesis of high erucic acid rapeseed (*Brassica napus* L.) somatic hybrids with improved agronomic characters. Theor. Appl. Genet. 91 : 1129-1136.
- Heeremans, C. E. M., Van Der Hoeven, R. A. M., and Niessen, W. M. A. (1989) Specific screening methods for glucosinolates in sprout extracts using on-line thermospray liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J. Chromatogra. 472 : 219-229.
- Helboe, P., Olsen, O. and Sorensen, H. (1980) Separation of glucosinolates by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 197 : 199-205.
- Hogge, L. R., D. W. Reed and E. W. Underhill (1988) The identification of desulfo-glucosinolates using thermospray liquid chromatography / mass spectrometry. J. Chromato. Sci. 26 : 348-351.

- 石井現相、西条了康、水谷純也 (1988) FD-MS と HPLC によるキャベツ根部と大根のグルコシノレートの測定. 日農化誌 62 : 1221-1223.
- Josefsson, E. and L. -, Appelqvist (1968) Glucosinolates in seed of rape and turnip rape as affected by variety and environment. J. Sci. Food Agric. 19 : 564-570.
- 鍵 護 (1991) カナダナタネ (カノーラ) 品種改良の足どり. 油脂 44 : 29-33.
- 加藤忠司、青木和彦、山西弘恭 (1995) 冬期ハウス栽培ホウレンソウのビタミンC、 β -カロテン、トコフェロールおよびシュウ酸含有量に対する外気低温の影響. 土肥誌. 66 : 563-565.
- 川岸舜朗 (1985) グルコシノレート—その酵素分解および分解物の反応性と毒性. 日食工会誌. 32 : 836-846.
- Kondra, Z. P. and B. R. Stefansson (1970) Inheritance of the major glucosinolates of rapeseed (*Brassica napus*) meal. Can. J. Plant Sci. 50 : 643-647.
- 李 正日、高柳謙治、志賀敏夫 (1974 a) ナタネの脂肪酸組成改良育種に関する研究 I. アジア産・ヨーロッパ産ナタネ品種の脂肪酸組成. 農技研報 D. 25 : 1-16.
- 、斉藤正志、志賀敏夫、高柳謙治、杉山信太郎 (1974 b) ナタネの脂肪酸組成改良育種に関する研究 II. 日本品種への Zero-erucic acid 遺伝子の導入. 農技研報 D. 25 : 17-30.
- (1976) ナタネ (*Brassica napus* L.) の脂肪酸組成に関する育種学的研究. 東京農大審査学位論文 (博士). 15-24.
- Magrath, R., C. Herron, A. Giamoustaris and R. Mithen (1993) The inheritance of aliphatic glucosinolates in *Brassica napus*. Plant Breeding 111 : 55-72.
- 松尾 登 (1989) 油脂 (中性脂肪) の分類と構成脂肪酸 “改訂版 油脂” 松尾 登・長谷川恭子 (編) 女子栄養大学出版部 東京, 15-22.
- 松尾 武 (1991) エルカ酸の特性と応用. 油脂 44 : 50-53.
- 松本達郎 (1977) 飼料中のグルコシノレートと家畜・家禽への影響. 日畜会報. 48 : 691-700.
- McDanell, R., A. E. M. McLean, A. B. Hanley, R. K. Heaney and G. R. Fenwick (1988) Chemical and biological properties of indole glucosinolates (glucobrassicins) : A review. Food Chem. Toxic. 26 : 59-70.

- McGregor, D. I. and R. K. Downey (1975) A rapid and simple method for identifying low glucosinolate rapeseed. *Can. J. Plant Sci.* 55 : 191-196.
- (1988) Glucosinolate content of developing rapeseed (*Brassica napus* L. 'Midas') seedlings. *Can. J. Plant Sci.* 68 : 367-380.
- Mcwhorter, C. G. (1993) Epicuticular wax on Johnson grass (*Sorghum halepense*) leaves. *Weed Sci.* 41 : 475-482.
- Mellon, F. A., Chapman, J. R. and Pratt, J. A. E. (1987) : Theromospray liquid chromatography-mass spectrometry in food and agricultural research. *J. Chromatogr.* 394 : 209-222.
- Miller, R. W., C. H. Van Etten, C. McGrew, I. A. Wolff and Q. Jones (1976) Amino acid composition of seed meals from forty-one species of cruciferae. *J. Agr. Food Chem.* 10 : 426-430.
- Mithen, R. (1992) Leaf glucosinolate profiles and their relationship to pest and disease resistance in oilseed rape. *Euphytica* 63 : 71-83.
- Mo, J., W. Li and J. Wang (1992) Inheritance and agronomic performance of the Waxless character in *Brassica napus* L. *Plant Breeding* 108 : 256-259.
- , Y. Qin and R. P. Bodnaryk (1995) Inheritance of the Waxless character of *Brassica napus* Nilla glossy. *Can. J. Plant Sci.* 75 : 893-894.
- 仲林寛明、太平幸次、藤原彰夫 (1972) アブラナ属植物に含まれる isothiocyanate および oxazolidinethion 含量について. 宇大農学術報告. 8 : 1-8.
- (1974) *B. napus* L. および近縁種の種子中における抗甲状腺物質含量について. 宇大農学術報告. 9 : 1-5.
- Nagao, A. and M. Yamazaki (1983) Lipid of sunflower seeds produced in Japan. *JAOCs.* 60 : 1654-1658.
- Namai, H., T. Kaji and T. Hosoda (1972) Interspecific and intervarietal variations in content of oxazolidinethione in seed meals of cruciferous crops. *Jpn. J. Genet.* 47 : 319-327.
- and T. Hosoda (1975) Interspecific and intervarietal variations in content of volatile isothiocyanate in seed meals of cruciferous crops. *Jpn. J. Genet.* 50 : 43-51.

- New principles of ion-exchange techniques suitable to sample preparation and group separation of natural products prior to liquid chromatography. J. Lic. Chromato. 7: 691-707.
- 農業技術研究所遺伝第2研究室(1970)昭和45年度育種基礎研究成績書—ナタネ—, 96-104.
- 農業研究センター(1987)総合農業試験研究成績・計画概要集—作物生産・冬作物—, I-1-20.
- 農業生物資源研究所(1990)ナタネ, “植物遺伝資源配布目録”農林水産省農業生物資源研究所 茨城, 824-846.
- 農林水産技術会議事務局・福島県農試(1973)なたね育種試験事業の経過と業績, 1-5.
- 農林水産省食品流通局野菜振興課(1996)“野菜生産状況標識調査結果(平成6年産)” 41-42.
- 農林水産省統計情報部(1996)農作物生産 なたね “国際農林水産統計” 農林水産省 東京, 67-68.
- 農林水産省統計情報部(1996)農作物の部 工芸作物 “第71次農林水産省統計表” 農林水産省 東京, 143.
- 奥山善直(1991)作物育種と食品加工(13) なたね, 農及園, 66: 433-437.
- 、石田正彦(1992 a) ナタネ無エルシン酸・低グルコシノレート品種及び高エルシン酸品種の育成, “新需要創出のための生物機能の開発・利用技術の開発に関する総合研究 平成3年度研究報告” 農林水産技術会議事務局, 260-261.
- (1992 b) 育種による脂質の改質, 油化学 41: 956-959.
- 、遠藤武男、菅原 俐、柴田悖次、平岩 進、金子一郎、斉藤正志、馬場 知、杉山 信太郎(1993) ナタネ無エルシン酸新品種「アサカノナタネ」の育成, 東北農試研報, 87, 1-20.
- 、柴田悖次、遠藤武男、菅原 俐、平岩 進、金子一郎(1994) ナタネ無エルシン酸新品種「キザキノナタネ」の育成, 東北農試研報, 88, 1-13.
- Prakash, S. and K. Hinata (1980) Taxonomy, cytogenetics and origin of crop *Brassica*, a review. Opera Bot. 55: 1-57.
- Price, C. E. (1982) A review of the factors influencing the penetration of pesticides

- through plant leaves. In "The plant cuticle" Cutler, D.F.; Alvin, K.L.; Price, C.E. (eds.), Academic Press, London, 237-252.
- Röbbelen, G. and W. Thies (1980) Variation in rapeseed glucosinolates and breeding for improved meal quality. In "Brassica crops and wild allies" Tsunoda, S., K. Hinata and C. Gómez-Campo (eds.), Japan scientific societies press, Tokyo, 285-299.
- Rücker, B. and G. Röbbelen (1994) Inheritance of total and individual glucosinolate contents in seeds of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). Plant Breeding 113 : 206-216.
- and G. Röbbelen (1995) Development of high oleic acid rapeseed. Proceeding of 9th International Rapeseed congress 2 : 389-391.
- Sang, J. P., Minchinton, I. R., Johnstone, P., K. and Truscott, R. J. W. (1984) Glucosinolate profiles in the seed, root and leaf tissue of cabbage, mustard, rapeseed, radish and swede. Can. J. Plant Sci. 64 : 77-93.
- and P. A. Salisbury (1988) Glucosinolate profiles of international rapeseed lines (*Brassica napus* and *Brassica campestris*). J. Sci. Food Agric. 45 : 255-261.
- 坂入 実 (1993) 液体クロマトグラフ/質量分析計のインターフェースとしての大気圧イオン化法. 分析 12 : 36-40.
- Scarth R. (1995) Developments in the breeding of edible oil in *Brassica napus* and *B. rapa*. Proceeding of 9th International Rapeseed congress 2 : 377-382
- Sernyk, L (1992) Catalogue of oilseed rape cultivars. Agrigenetics company madison laboratories, Madison, 1-14.
- 柴田悖次、金子一郎 (1980) なたねの良質脂肪酸組成雑種集団の養成. "変異の拡大による雑種集団の養成に関する研究 (育種研究報告 B)" 農林水産技術会議事務局, 128-134.
- 志賀敏夫 (1971) 品種の伝来と育種. "現代農業技術双書ナタネ" 家の光協会, 東京, 34-45.
- 、高柳謙治、李 正日、斉藤正志 (1974) ナタネの脂肪酸組成改良育種に関する研究 Ⅲ. ナタネ種子油の脂肪酸間相関. 育種, 24 : 291-297.
- (1981) ナタネ品種の基本特性. "畑作全書" 雑穀 (編) 農文協 東京, 522-524.

- (1989) ナタネ. “植物遺伝資源集成4” 松尾孝嶺(監修) 講談社サイエンティフィック 東京, 1340-1345.
- 篠原捨喜(1959) 十字科作物を中心とした抽苔開花現象の種生態学的研究特に登熟中の種子に起る春化現象とその役割について. 静岡県農試特報, 6: 1-139.
- Stoner, K. A. (1990) Glossy leaf wax and plant resistance to insects in *Brassica oleracea* under natural infestation. *Environmental Entomology* 19: 730-739.
- 杉山信太郎(1972) 朝鮮種なたねの由来について. 育種, 22: 291-297.
- Takagi, Y. A. B. M. M. Hossain, T. Yanagita and S. Kusaba (1989) High linolenic acid mutant in soybean induced by X-ray Irradiation. *Japan J. Breed.* 39: 403-409.
- 高柳謙治(1976) ナタネ種子油の脂肪酸組成とその改良 —講座 作物の育種とその生理 12—, 農技, 31: 21-26.
- 谷口道子、松田智明、長南信雄(1995) 麦類の地上部器官における表皮系の構造と機能. 第1報 葉身のエピクチクラワックスの形態. 日作東北支部報, 38: 109-112.
- 田代 亨(1995) 種子油脂の遺伝的変異と改良. “種子のバイオサイエンス” 種子生理化学研究会(編) 学会出版センター 東京, 205-211.
- The International Organization for Standardization (1992) Rapeseed-Determination of glucosinolates content. ISO, 9167-1: 1992 (2), 1-9.
- Thies, W (1983) Complex formation between glucosinolates and tetrachloropalladate (II) and its utilization in plant breeding. *Fette Seifen Anstrichm.* 84: 338-342.
- Tholen, J. T., S. Shifeng and R. J. W. Truscott (1989) The thymol method for glucosinolate determination. *J. Sci. Food Agric.* 49: 157-165.
- Tholen, J. T., G. Buzza, D. I. McGregor and R. J. W. Truscott (1993) Measurement of the glucosinolate content in rapeseed using the TRUBLUGLU meter. *Plant Breeding* 110: 137-143.
- Thompson, K. F. (1972) Cytoplasmic male-sterility in oil-seed rape. *Heredity* 29: 253-257.
- 戸田幹彦(1989) ハクラン. “植物遺伝資源集成3” 松尾孝嶺(監修) 講談社サイエンティフィック 東京, 881-882.
- 東京青果物情報センター(1995) 平成4年 東京都中央卸売市場青果物流通年報(野菜編)

内山秀文、三浦謹一郎、熊谷 泉、高井信治 (1991) 大気圧化学イオン化 (APCI) LC/MS によるアミノ酸 PTH 誘導体の分析. 生産研究 43 : 359-362.

Underhill, E. W. (1980) Glucosinolates. In "Encyclopedia of plant physiology Vol.8" Bell, E. A. and B. V. Charlwood (eds.), Springer-Verlag, New York, 493-511.

和光純薬 (1991) グルコース測定用グルコース C II - テストワコー (ムタロターゼ・GOD 法) 取扱説明書. 大阪, 1-4.

Yamazaki, M. and A. Nagao (1993) Fatty acid composition of rapeseed oils of Japanese old type varieties. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 40 : 888-894.

柳田雅芳、佐藤久六、那須曠正 (1976) ナタネ新品種「トワダナタネ」について. 青畑園試研報. 1 : 63-72.

油脂編集部 (1992) 変動する工業用油脂 高エルシン産ナタネ油. 油脂 45 : 28-29.

Zhao, F., E. J. Evans, P. E. Bilsborrow and J. K. Syers (1994) Influence of nitrogen and sulphur on the glucosinolate profile of rapeseed (*Brassica napus* L). J. Sci. Food Agric. 64. 295-304.