

氏名	(つばきのぶいち) 椿 信一
授与学位	博士 (生物資源科学)
学位授与年月日	平成27年 3月20日
学位授与の根拠法規	学位規則第4条第1項
研究科専攻	秋田県立大学大学院生物資源科学研究科 博士後期課程 生物資源科学専攻
学位論文題目	秋田県におけるダイコン地方品種の育成と、 それに関わる諸形質の遺伝・育種学的研究
指導教員	准教授 高橋 秀和
論文審査委員	主査 准教授 高橋 秀和 副査 教授 赤木 宏守 准教授 吉田 康徳

## 論文内容要旨

### [研究の背景と目的]

近年、地域の独自性に基づく地域活性化の取り組みとして、野菜の地方品種に注目が集まっている。地方品種とは、一代雑種育種法が開発される以前から、それぞれの地域で栽培と採種が続けられてきた固定種（在来種）を指し、地域の気候に適合した遺伝資源である。しかし、形状や品質等にばらつきが多いため、生産規模の拡大に伴って、種苗メーカーが育成した F<sub>1</sub> 品種に徐々に置き換わり、種子は採種せずに購入するものへと移り変わり、地方品種の多くは失われていった。秋田県には、今日でも、数種のダイコン地方品種が現存しているが、そのほとんどは、生産者が少なく、一般にはその特性が知られていない。

本研究は、秋田県で維持・保存されてきたダイコン地方品種を発掘・活用し、品種育成を通じた地域の活性化、さらには秋田県農業への貢献を目的として遂行した。はじめに、秋田県のダイコン地方品種を収集し、他の地方品種と比較することで、その特性を明らかにし、その長所ならびに改良すべき点を整理した（試験 1）。次に、根部が赤色や紫色に着色する辛味ダイコン品種の育成に向け、これまで研究の進んでいなかったアントシアニン系色素の遺伝解析を行った（試験 2）。最後に、以上の試験結果を踏まえ、地方品種を活用した秋田県オリジナル品種の育成を行った（試験 3）。

（試験 1）秋田県におけるダイコン地方品種の特性調査

### [材料および方法]

秋田県の 8 地方品種（図 1）を中心に、他県の 44 地方品種およびわが国に古くから自生するハマダイコン系の 3 品種ならびに対照品種として、国外の 10 品種を供試した。供試品種は 2012 年に秋田県農業試験場内露地ほ場において、一般的な秋冬どりダイコンの栽培方法に沿って栽培した。各品種 3～5 個体について野菜品種特性分類審査基準（農林水産省）に従って 33 形質について評価し、UPGMA 法により品種間の遺伝距離を求め、系統樹を作成した。また、根部搾汁液に含まれるイソチオシアネート（辛味成分）を、ガスクロマトグラフで分離・定量した。一方、DNA の分析には、各品種から形態的に固定している 1 個体を選び、新葉から DNA を抽出し、公開されているダイコンの SSR (マイクロサテライト) マーカーの遺伝地図から 8 マーカーを選び、フラグメント解析を行った（図 5）。

### [結果と考察]

供試品種の根重には、最大 1,786 g の‘阿波新晩生’から最小 90 g の‘京都薬味’まで大きな変異があり、この根重には、根部硬度、根部乾物率および根部糖度との間に負の相関関係 ( $r=-0.86$ ,  $r=-0.78$ ,  $r=-0.63$ ) があった（図 3）。秋田県内の 8 地方品種は、根重が小さく、根部の硬度、乾物率および糖度がいずれも高く、冬期間の野外でも凍結せずに、生存した親株から種子を得てきた結果生じた特徴と推測された。表現型を基にしたクラスター分析の結果、本県の地方品種は、日本自生系と、日本系の大きく 2 つに分類された（図 2）。一方、SSR マーカーを基にした遺伝解析では、表現型の揃っている固定種であっても、多殖性のダイコンにおいては、遺伝的に固定していなかった（図 6）。SSR マーカーによる系統樹は表現型の場合と異なり、欧州系とそれ以

外の品種群に分かれた（データ省略）。日本、日本自生および中国の品種が同一クラスターとなった理由として、ダイコンの維持が集団で行われることが関係するものと考えられ、目的の遺伝子は固定（ホモ接合）しているものの、それ以外の遺伝子はある程度ヘテロ接合であるとみられた。しかし、各地域に特異的なアレルもあり、品種識別に利用できるものを見いだした（図7）。

‘松館しぼり’は、辛味ダイコン用品種で、他品種とは異なる日本自生系グループに分類され、自生種から改良されたか、栽培種との交雑種と考えられた（図2）。他の辛味ダイコン栽培種と比較すると、‘京都薬味’に次いでイソチオシアネートが多く、スクロースの比率が最も高い等、その長所が明らかになった（図4）。

‘大館’と‘沼山’は、干しダイコン用の品種で、根首部が鮮やかな紫色や緑色で、他の地方品種にない特性があった（図1）。比較的高いイソチオシアネート含量とスクロース含量を持つため（データ省略）、辛味ダイコンとしての利用や、育種素材として有用性が見いだされた。

‘秋田三八’は、比較的軟らかい地方品種であるが、‘総太り宮重’と比べると硬く、根部糖度も高いため、漬物加工用以外にも煮食用等、多彩な利用方法に適応できると思われた。特徴的な短く詰まった根形（図1）を生かして、伝統野菜として復活させるのに有用な品種と考えられた。

‘秋田’、‘川尻’、‘改良秋田’および‘関口’では肉質の硬さと糖度の高さが確認された（図3）。‘関口’のす入りしにくい特性を生かし、‘いぶりがっこ’（いぶりたくあん漬）用品種の育種素材としての利用が期待された。

#### （試験2）アントシアニン系色素の遺伝解析

##### 【材料および方法】

根部の表皮および表層が紫色、赤色および白色の個体を選び、自殖を繰り返して4つの固定系統を育成した（図8）。それらを相互に交配したF<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>世代を、2013～2015年に秋田県農業試験場内露地ほ場で栽培し、収穫物の根色を調べた。F<sub>2</sub>世代の分離比が期待値に適合するかどうかは、 $\chi^2$ 検定で分析した。DNAは、新葉から抽出し、両親で多型のあるSSRマーカーを用い、PCR増幅産物をアガロースゲル電気泳動法で分画して、遺伝子型を決めた（図9）。

##### 【結果と考察】

‘紫’×‘白A’のF<sub>1</sub>は紫色のみ、F<sub>2</sub>では紫色：白色が3：1に分離したことから、この形質に関する遺伝様式は、紫色が白色に対して優性の単因子（R遺伝子）によるものとみられた（図8、表1）。また、‘紫’×‘赤’のF<sub>1</sub>は紫色のみ、F<sub>2</sub>では紫色：赤色が3：1に分離したことから、この形質に関する遺伝様式は、紫色が赤色に対して優性の単因子（E遺伝子）によるものとみられた（図8、表1）。しかし、‘紫’×‘白B’のF<sub>2</sub>では紫色：赤色：白色が2対の独立した対立遺伝子による補足遺伝の分離比9：3：4に適合せず、2対の対立遺伝子が組み換え価20%で連鎖していることが示唆された（図8、表1）。

SSRマーカーを利用した遺伝解析の結果、RおよびE遺伝子は、第1連鎖群に連鎖して座乗していた（図10）。これまで、ダイコンの着色に関する遺伝子は2種（RおよびE遺伝子）の補足遺伝であることが知られていたが、それらが座乗する連鎖群およびそれらが連鎖していることは本研究が初の報告である。

#### （試験3）地方品種を活用した秋田県オリジナル品種の育成

##### ① 加工用ダイコン F<sub>1</sub> 品種‘秋田いぶりこまち’（2003）

‘いぶりがっこ’には長期保存に適した肉質の硬い品種が求められている。そこで肉質が硬く、歯ざわりの良い‘秋田’と、同じく肉質が硬い‘山形’を組み合わせてF<sub>1</sub>品種を育成した。‘秋田いぶりこまち’は対照の‘山形’と比べて均一性が高い（図11）ことは評価されたが、栽培条件によっては、す入りや空洞が入る場合がある（表2）ことから、普及面積は拡大していない。

##### ② 加工用ダイコン F<sub>1</sub> 品種‘秋農試39号’（2011）

‘いぶりがっこ’用ダイコン品種の第2弾として育成した。肉質の硬さと均一性に加え、す入りや空洞が入らない（表2、図11）。ことから、‘秋農試39号’は県内で‘いぶりがっこ’を生産販売している大手5業者のうち2業者に採用され、2014年では、栽培面積で20ha、およそ70万本の製品が市場に出荷されている。

##### ③ 辛味ダイコン F<sub>1</sub> 品種‘あきたおにしぼり’（2002）

‘松館しぼり’は、イソチオシアネートやスクロース含量の比率および収量を考慮すると全国でもトップクラスの辛味ダイコンである（試験1）が、固定種であることから根形やイソチオシアネート含量にばらつきがあった。そこで、‘松館しぼり’系統内のF<sub>1</sub>品種‘あきたおにしぼり’を育成した（図14）。根形だけでなく、イソチオシアネート含量や糖組成においても均一性が高く（図12、図13）、JAが取り扱う商品名「松館しぼり大根」の全量に‘あきたおにしぼり’が採用され、栽培面積は3ha程、推定10万本程度が県内および県外に出荷されている。

##### ④ 紫色の辛味ダイコン F<sub>1</sub> 品種‘秋試交8号’（2015 予定）

試験 2 において確かめられた、アントシアニン系色素の遺伝様式を、実際の育種に応用して根の表皮、皮層、内部共に淡紫色を呈するダイコンおろし用の辛味ダイコン F<sub>1</sub> 品種を育成した (図 14 省略)。色以外は‘あきたおにしぼり’とほとんど変わらず、辛味も強いいため、従来の白色品種と共に出荷することで有利販売に繋がると期待される。

[まとめ]

秋田県で維持・保存されてきたダイコン地方品種の中から、他県には見られない特徴・育種素材を見出した。しかし、地方品種は固定種であり、他殖性であるダイコンでは、表現型がばらつくことが改良すべき点であるため、一代雑種育種法により F<sub>1</sub> 品種化してこれを解決した。これまで育成したダイコンの地方品種は、いずれもオリジナル性、均一性に優れ、品質が安定している。「いぶりがっこ」の原料として、あるいは辛味ダイコンとして、本県の野菜生産拡大の一翼を担うことが期待される。

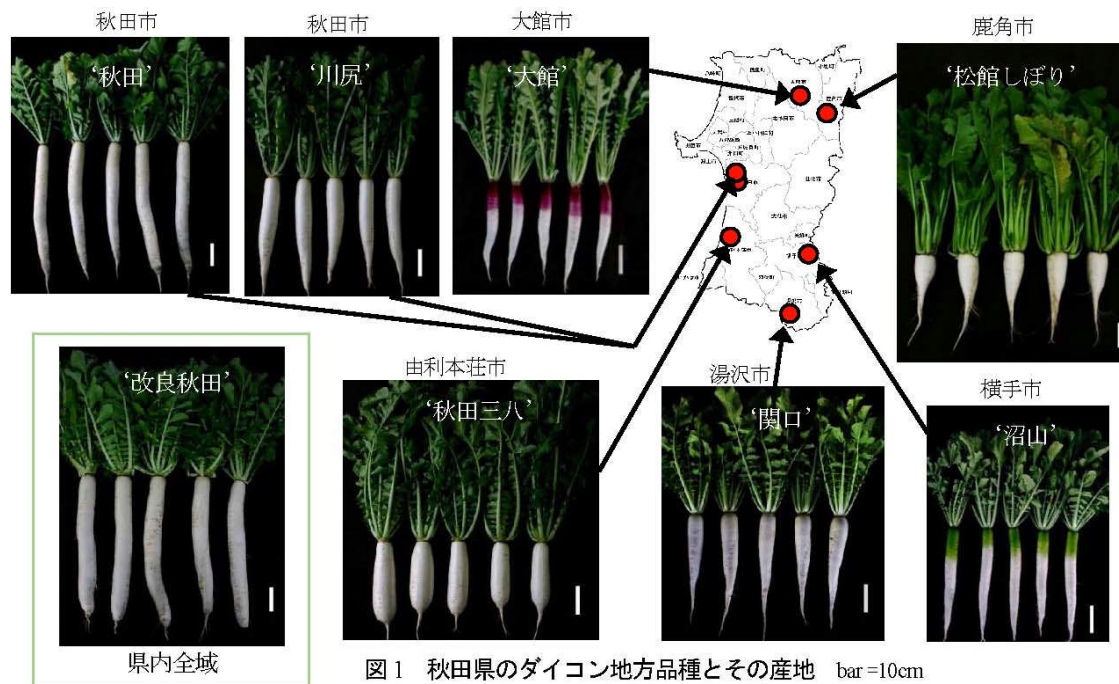


図 1 秋田県のダイコン地方品種とその産地 bar=10cm

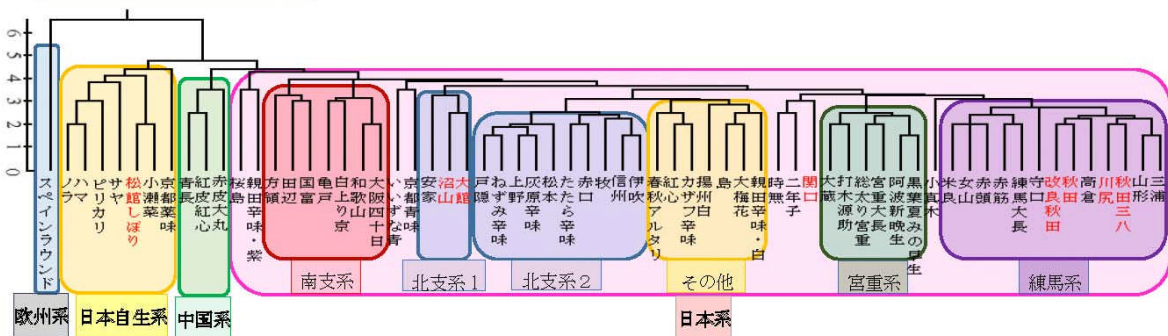


図 2 表現型を基にしたクラスター分析によるダイコン品種 65 品種の系統樹 n=5 赤文字は秋田県地方品種

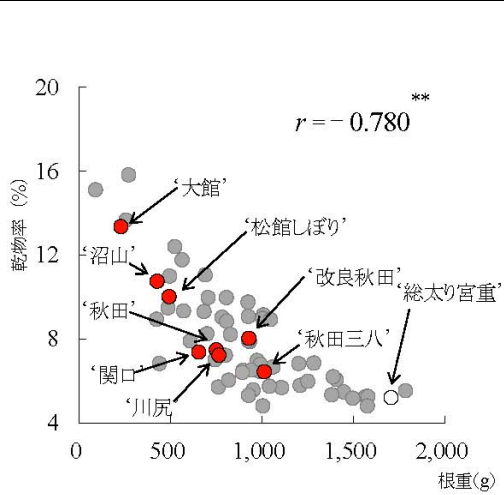


図3 ダイコン供試品種の根重と乾物率の関係  
赤丸は秋田県地方品種 \*\*:p<0.01 (n=65)

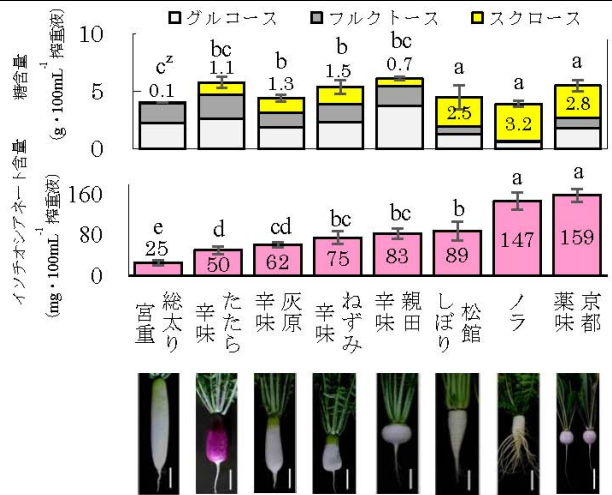


図4 辛味ダイコン各品種のイソチオシアネート含量と糖含量<sup>z</sup> Tukeyの多重検定により、イソチオシアネートおよびスクロース含量の間において同符号間には5%水準で有意差なし(n=5) bar=標準偏差

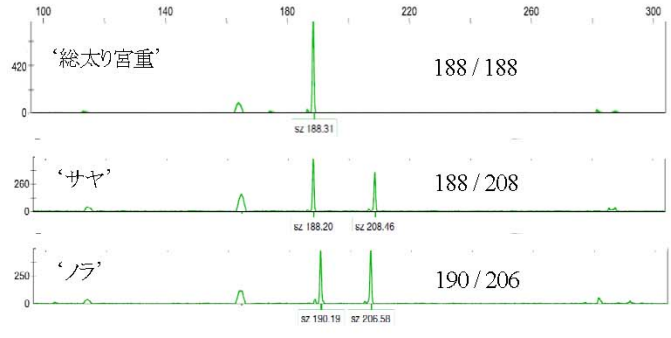


図5 フラグメント解析による3品種の対立遺伝子型  
数値は遺伝子型を塩基数(bp)で示したもの(マーカー:RSS2661)

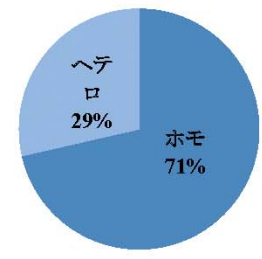


図6 供試全品種における、対立遺伝子のホモ接合度(マーカー:RSS2661)

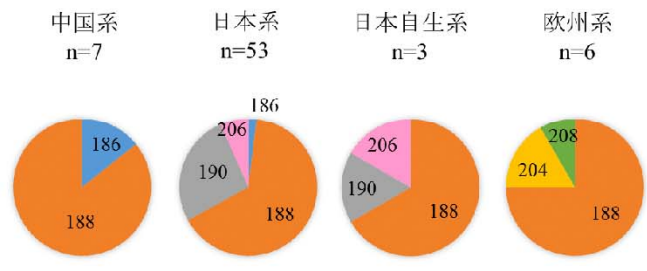


図7 各系統群で確認された対立遺伝子(アリル)の割合  
数値は遺伝子型を塩基数(bp)で示したもの(マーカー:RSS2661)



図8 F1世代におけるダイコンの根色

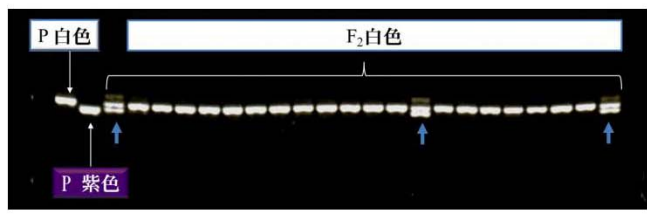


図9 電気泳動による、'白'×'紫'のF2世代における、白色個体の遺伝子型 青い矢印がヘテロ個体、その他は、親の白色ホモ個体と同じバンドパターンを示す(マーカー:RSS3362)

表1 F<sub>2</sub>世代におけるダイコン根色の分離比

組み合わせ	観測値			分離比	理論値			$\chi^2$	P
	紫	赤	白		紫	赤	白		
紫 × 白A	500	176	676	(3:1)	507	169	0.39	0.53	
白A × 紫	724	238	962	(3:1)	722	241	0.03	0.85	
紫 × 赤	180	55	235	(3:1)	176	59	0.32	0.57	
赤 × 紫	166	59	225	(3:1)	169	56	0.18	0.67	
紫 × 白B	190	17	80	(9:3:4)	161	54	72	31.19	0.00
				(42:6:16)	189	26	72	3.97	0.14
白B × 紫	322	60	131	(9:3:4)	289	96	128	17.55	0.00
				(42:6:16)	339	46	128	5.01	0.08

‘白A’は紫色から分離固定, ‘白B’は赤色から分離固定した系統.  
分離比 42:6:16 は組み換え価 20% で連鎖していると仮定した場合.

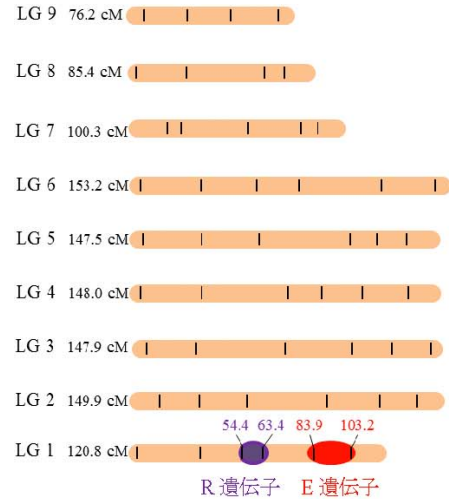


図10 R および E 遺伝子の染色体座乗位置

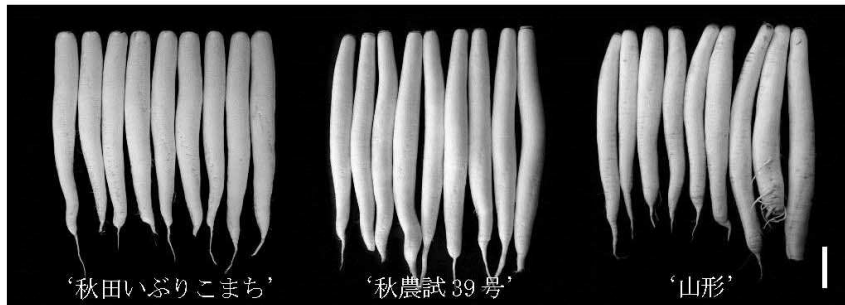


図11 加工用ダイコン育成品種の根部形状比較 bar=10cm

表2 加工用ダイコン育成品種の根部形態特性

品種名	根重 (kg)	根長 (cm)	硬度 (kg·cm <sup>2</sup> )	糖度 (°Brix)	良根 <sup>z</sup> (%)	不良根 <sup>y</sup>			
						分岐根 (%)	小根 <sup>x</sup> (%)	す入り根 (%)	空洞根 (%)
秋田いぶりこまち	1.41 ± 0.20 <sup>w</sup> a <sup>v</sup>	54.9 ± 4.9 a	4.0 ± 0.2 b	5.9 ± 0.3 a	35.0	10.0	0.0	30.0	46.7
秋農試39号	1.32 ± 0.27 ab	57.6 ± 6.7 a	4.4 ± 0.2 a	5.5 ± 0.3 b	95.0	5.0	0.0	0.0	0.0
山形	1.28 ± 0.38 b	50.9 ± 7.0 b	4.1 ± 0.4 b	5.3 ± 0.4 c	73.3	8.3	1.7	11.7	6.7

<sup>z</sup>収穫した全個体から分岐根, 小根, す入り根および空洞根を不良根として除いた残りの正常な根  
<sup>y</sup>不良根の各項目は重複している場合があり, 必ずしも項目の合計値と, 不良根の総数値は一致しない  
<sup>x</sup>根重が0.5kg以下      <sup>w</sup>平均値±標準偏差(n=60)      <sup>v</sup>Tukeyの多重検定により, 同符号間には5%水準で有意差なし

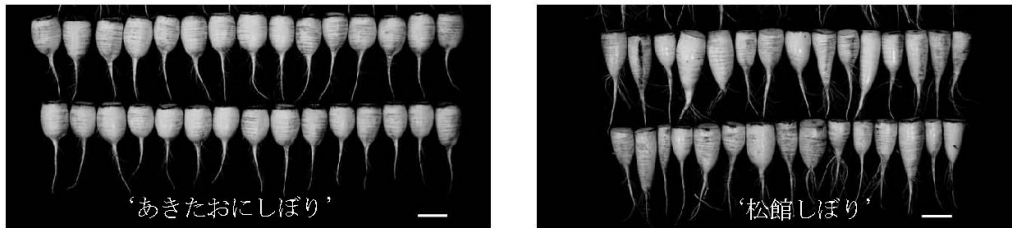


図12 ‘あきたおにしぼり’および‘松館しぼり’の根部形状と根部のそりい (n=30) bar=10cm

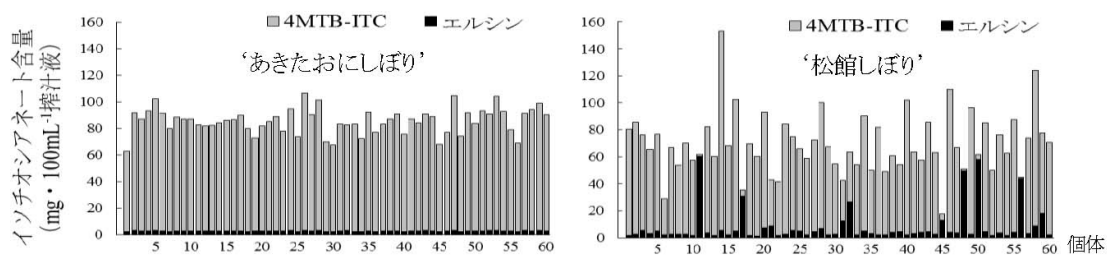


図13 ‘あきたおにしぼり’および‘松館しぼり’のイソチオシアネート含量の個体間差 (n=60)

## 論文審査結果要旨

本研究は、これまで秋田県内で栽培されてきたダイコンの地方品種に着目し、これらを用いた秋田県独自（オリジナル）の品種育成を目標に、秋田県農業試験場において実施されてきた研究事業および秋田県立大学大学院生物資源科学研究科において取り組んだ分子生物学的な技法による基礎的研究から構成されている。

地方品種とは、その地域の食文化などに関係の深い固定種、一般には在来種というものを指す。これらの品種は地域固有の有用な遺伝資源であるため、秋田県農業試験場ではこれまでに様々な地方品種の評価および保存が進められてきた。

本研究は、秋田県内のダイコン地方品種と他県の地方品種を秋田県農業試験場の圃場で一斉に播種して、生育途中および収穫後に様々な形態形質を評価することからはじまり、栽培は実験計画法に基づく、統計的な解析に適合するデザインで実施されている（試験1）。

ダイコンの主な用途は根部であるが、供試材料の根部は形、大きさ、着色等が様々であった。その中で、根重には連続的な変異があること、根部の乾物重は根重に比べて変異が小さいことから、根部の水分含量に影響されていることなどを見出している。

形態形質を基にクラスター分析を行い、地方品種の系譜を辿る試みがされ、‘松館しぼり’は‘ハマダイコン’と同じ日本自生種のグループに属することを見出している。また、マイクロサテライト（SSR）マーカーに基づくクラスター分析から、地方品種と‘ハマダイコン’のような日本自生種との間の遺伝的な距離は大きくない、または両者間で遺伝的な交流（交雑）があったことを考察している。すなわちダイコンの地方品種のゲノムは、形態形質に関わる特定の遺伝子群はホモ接合（固定）化されているものの、それら以外はヘテロ接合性が高いという新しい知見を見出している。

つぎに本研究は、根部が赤色や紫色に着色するダイコンの品種育成に向けて、これまで研究の進んでいなかったアントシアニン系色素の遺伝解析を実施して、ダイコンの根部の着色は2種の補足遺伝子（遺伝子Rと遺伝子E）で説明できること、これらの遺伝子は同一連鎖群に連鎖して座乗することを明らかにしている（試験2）。

これまで2種の遺伝子の連鎖が報告されなかった理由として、他殖性であるダイコンにおいて遺伝子Eを劣性ホモ接合で持つ個体を見出せなかったことが挙げられ、本研究では何年もかけて多数の交雑後代から目的の遺伝子型の個体を選抜したことが導いた成果と評価する。

最後に本研究は、秋田県内の地方品種を利用した新しい地方品種‘秋田いぶりこまち’、‘秋農試39号’、‘あきたおにしぼり’および‘秋試交8号’の特性等を解析している（試験3）。例えば、固定種内のF<sub>1</sub>品種である‘秋農試39号’に雑種強勢を生じる理由として、試験1で見出した高いヘテロ接合性を持つことで説明される。また、‘あきたおにしぼり’の着色品種である‘秋試交8号’は試験2で見出した遺伝現象が利用されている点など基礎的な研究が事業としての品種育成に結びついている。

以上の論文審査をまとめると、本研究は、供試材料の準備、実験計画法に基づくデータの収集・解析等、緻密に根気強く研究を進めた結果、研究目標を十分に達成している。

本論文の公開審査会は平成27年2月18日に実施し、予備審査会（平成26年12月25日）で指摘された発表内容および論文内容について十分な改善および適切な改稿がされているため、博士の学位を授与するに妥当と認定した。