

学位論文題名

アブラナ科野菜における高純度 F_1 採種を可能にする

自家不和合性限度に関する育種学的研究

学位論文内容の要旨

厳密な自家不和合性程度の評価法の開発

アブラナ科野菜の多くは、雑種強勢や生育斉一性の利点から、一代雑種 (F_1) 品種となっており、その種子は主に自家不和合性を利用し採種されている。アブラナ科植物の自家不和合性は、複対立 S (self-incompatibility) 遺伝子によって制御されているが、自家不和合性が完全ではなく、その程度が存在する事から、 F_1 純度 (採種された種子が F_1 になっている割合) が低下しうる。一方近年の農業の作業体系における機械化や労働集約化にともない、作物に対するさらなる生育斉一性の要求が高まっており、高純度種 F_1 子が厳しく求められるようになってきた。そこで安定した高純度 F_1 採種を可能にするために、安定して高い自家不和合性程度を有する親近交系統育成が不可欠である。これまで親近交系統の育成の際、自家不和合性程度は、主に人工交配での開花自家受粉による検定 (以降、人工不検) が用いられてきた。高い自家不和合性程度を有すると評価した親近交系統を用いてもなお、 F_1 種子純度が安定しない場合が認められ、その評価法として厳密性に欠けると判断された。そこでより厳密な自家不和合性程度の評価法として、実際の採種現場に近い状況を想定した、ミツバチを用いた虫媒受粉による検定法 (以降、虫媒不検) を考案し、アブラナ科野菜の *Brassica rapa* に属する 36 近交系統、*B. oleracea* に属する 25 近交系統、及び *Raphanus sativus* に属する 18 近交系統を材料に、その有用性を検討した。その結果、結実英率や一花当たり種子粒数はほとんどの供試系統において、虫媒不検の方が人工不検よりも高い値を示した。さらに人工不検で結実英率 20% 以下、一花当たり種子粒数 0.5 粒以下と、自家不和合性程度が高いと評価された系統において、虫媒不検では、*B. rapa* で結実英率 3~81%、一花当たり種子粒数 0.1~3.3 粒、*B. oleracea* で 3~48%、一花当たり種子粒数 0.1~1.8、*R. sativus* で結実英率 0~31%、一花当たり種子粒数 0.0~1.0 粒と、自家不和合性程度が高いものから低いものまで広範囲に亘って再評価された。また、虫媒不検においてもなお結実英率 10% 以下、一花当たり種子粒数 0.2 粒以下の高い自家不和合性程度を有すると評価された近交系統が存在し、その系統を用いた採種では、 F_1 純度が平均 99% 以上と、安定した高 F_1 純度の採種が可能になる事が示された。以上より虫媒不検は、人工不検に比べ明らかに自家不和合性程度を厳密に評価できる事が示された。そこで、虫媒不検を使用し、自家不和合性程度に関する解析を行った。

虫媒不検による自家不和合性程度の解析

虫媒不検により評価された自家不和合性程度と S 遺伝子との関係を調査した。調査した多くの S 遺伝子について、同一 S 遺伝子型を有する系統に自家不和合性程度が高いものから低いものまで存在することから、自家不和合性程度は、 S 遺伝子と独立に遺伝する事が示された。しかし、*B. rapa* の $S^{54}(r)$ 、 $S^4(r)$ 、*B. oleracea* の $S^2(o)$ をホモ接合型系統は結実英率 40% 以上、一花あたり種子粒数 1.1 粒以上と全体的に低い自家不和合性程度を示し、このような S 遺伝子型を有する系統は高純度 F_1 採種の親系統に使用できない可能性が示唆された。一方、*B. rapa* の $S^{53}(r)$ 、*B. oleracea* の $S^4(o)$ 、*R. sativus* の $S^{206}(s)$ 、 $S^{213}(s)$ をホモ接合型系統は結実英率 26% 以下、一花あたり種子粒数 0.5 粒以下と高い自家不和合性程度を示し、これらの S 遺伝子型を導入すること

で、高い自家不和合性程度を示す系統育成の可能性も示唆された。

さらに、*B. rapa*, *B. oleracea*, *R. sativus* について、 F_1 雑種、 F_2 集団ならびに F_3 系統を供試し、自家不和合性程度に関する遺伝解析を虫媒不検によって行った。高い自家不和合性程度は、*B. rapa* では複数の遺伝子に支配されており、 S 遺伝子座に連鎖する優性遺伝子ならびに S 遺伝子座とは独立の劣性遺伝子を同定した。*B. oleracea* では、複数の遺伝子に支配されており、 S 遺伝子あるいは強度に連鎖する劣性遺伝子ならびに S 遺伝子座と独立な劣性遺伝子を同定した。*R. sativus* では、 S 遺伝子座と組換え価 $27.2 \pm 7.3\%$ で連鎖する高い自家不和合性程度を支配する遺伝子 *HLSI-1* を同定した。

一方、人工不検により自家不和合性程度を評価・選抜し育成された F_1 品種の親近交系統内では、自家不和合性程度が分離していることが予想された。そこで既存 F_1 品種の親として用いられている 5 近交系統を 8~16 個体ずつ供試し、虫媒不検により再評価したところ、結実英率または種子収量の変動係数が $0.14 \sim 0.53$ と、系統によっては自家不和合性程度に大きな分離が認められた。さらにその変動係数と近交係数との間に 5%水準の有意な相関 ($r=0.92$) が認められ、近交係数の小さい系統程、自家不和合性程度の固定度が比較的低かった。次に、自殖またはきょうだい交配により F_7 まで世代を更新させた *B. rapa* に属するコマツナ市販 F_1 品種の親近交系統 Ko1-17 (近交係数: 0.908) について虫媒不検で自家不和合性程度を評価し再選抜し、選抜効果の有無を確認した。4 回の選抜・自殖を繰り返した結果、無選抜系統に比べ、虫媒不検による結実種子収量が低下し、採種試験による F_1 純度が 58.3% から 90.5% に有意に向上し、自家不和合性程度について選抜効果が認められた。

自家不和合性程度の変動に影響を与える要因解析

虫媒不検は自家不和合性程度をより厳密に評価できるが、隔離網室の設置が必要である上、開花期間中を通してミツバチを訪花させるため、選抜母本を用いて数多くの組合せの交配を行うことは事実上困難である。そのため選抜母本に対し人工不検においても厳密に評価できる条件を設定する必要があると考えられることから、自家不和合性程度の変動要因について解析し、人工不検を行う際の最適条件を探った。*B. rapa* に属する 6 近交系統を材料に、開花期間を通じて毎日人工不検を行い、各交配日の結実率を目的変数にし、系統、播種日、個体齢、交配日当日の最高気温、最低気温、平均気温、最高湿度、最低湿度、平均湿度を説明変数として重回帰分析を行った結果、その変動要因は系統により異なっており、特に高温や個体の老化が自家不和合性程度の低下に影響を与えていた。気温は 24°C 以上より自家不和合性の低下が認められ、 28°C 以上では一定の傾向は認められなかった。また交配日の前日の気温の上昇も自家不和合性程度に影響を与えていた。個体齢では、開花期の後半 4 分の 1 で最も自家不和合性程度が低下し、更に平均気温との正の交互作用が認められた。最高気温 26°C 以上、開花期間の後半 4 分の 1 という条件を満たすことで、人工不検でも厳密な自家不和合性程度の評価が可能になると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 上 田 一 郎

副 査 教 授 三 上 哲 夫

副 査 教 授 増 田 税

学 位 論 文 題 名

アブラナ科野菜における高純度 F_1 採種を可能にする 自家不和合性限度に関する育種学的研究

本論文は、図23、表30、プレート5、引用文献63を含み7章からなる136頁の和文論文である。ほかに参考文献4編が添えられている。

アブラナ科野菜の多くは、雑種強勢や生育斉一性の利点から、一代雑種 (F_1) 品種となっており、その種子は主に自家不和合性を利用し採種されている。アブラナ科植物の自家不和合性は、複対立 S (self-incompatibility) 遺伝子によって制御されているが、自家不和合性が完全ではなく、その程度が存在する事から、 F_1 純度 (採種された種子が F_1 になっている割合) が低下しうる。そこで安定した高純度 F_1 採種を可能にするために、安定して高い自家不和合性程度を有する親近交系統の育成が不可欠である。これまで親近交系統の育成の際、自家不和合性程度は、主に人工交配での開花自家受粉による検定 (以降、人工不検) が用いられてきた。しかし高い自家不和合性程度を有すると評価した親近交系統を用いてもなお、 F_1 種子純度が安定しない場合が認められ、その評価法として厳密性に欠けると判断された。そこで、①厳密な自家不和合性程度の評価法の開発、②自家不和合性程度の遺伝解析、③自家不和合性程度の変動に影響を与える要因解析を行う事を主な目的とした。

厳密な自家不和合性程度の評価法として、ミツバチを用いた虫媒受粉による検定法 (以降、虫媒不検) を考案し、アブラナ科野菜の *Brassica rapa* に属する 36 近交系統、*B. oleracea* に属する 25 近交系統、及び *Raphanus sativus* に属する 18 近交系統を材料に、その有用性を検討した。その結果、結実英率や一花当たり種子粒数はほとんどの供試系統において、虫媒不検の方が人工不検よりも高い値を示した。さらに人工不検で結実英率 20%以下と、自家不和合性程度が高いと評価された系統において、虫媒不検では、*B. rapa* で結実英率 3~81%、*B. oleracea* で 3~48%および *R. sativus* で 0~31%と、自家不和合性程度が高いものから低いものまで再評価された。また、虫媒不検においてもなお結実英率 10%以下、一

花当たり種子粒数 0.2 粒以下の、高い自家不和合性程度を有すると評価された近交系統が存在し、その系統を用いた採種では、 F_1 純度が平均 99%以上と、安定した高 F_1 純度の採種が可能になる事が示された。以上より虫媒不検は、人工不検に比べ明らかに自家不和合性程度を厳密に評価できる事が示された。

B. rapa, *B. oleracea*, *R. sativus* について、 F_1 雑種、 F_2 集団ならびに F_3 系統を供試し、自家不和合性程度に関する遺伝解析を虫媒不検によって行った。高い自家不和合性程度は、*B. rapa* では複数の遺伝子に支配されており、*S* 遺伝子座に連鎖する優性遺伝子ならびに *S* 遺伝子座とは独立の劣性遺伝子を同定した。*B. oleracea* では、複数の遺伝子に支配されており、*S* 遺伝子あるいは強度に連鎖する劣性遺伝子ならびに *S* 遺伝子座と独立な劣性遺伝子を同定した。*R. sativus* では、*S* 遺伝子座と組換え価 $27.2 \pm 7.3\%$ で連鎖する高い自家不和合性程度を支配する遺伝子 *HLSI-1* を同定した。また、虫媒不検により評価された自家不和合性程度と *S* 遺伝子との関係を調査した。いずれの種内においても調査した多くの *S* 遺伝子について、同一 *S* 遺伝子型を有する系統に自家不和合性程度が高いものから低いものまで存在することから、自家不和合性程度の殆どは、*S* 遺伝子と独立に遺伝する事が示された。

一方、虫媒不検は自家不和合性程度をより厳密に評価できるが、隔離網室の設置が必要であるため、選抜母本を用いて数多くの組合せの交配を行うことは事実上困難である。そのため選抜母本に対し人工不検においても厳密に評価できる条件を設定する必要があると考えられることから、自家不和合性程度の変動要因について解析し、人工不検を行う際の最適条件を探った。*B. rapa* に属する 6 近交系統を材料に、開花期間を通じて毎日人工不検を行い、各交配日の結実率を目的変数にし、播種日、個体齢、交配日当日の気温、湿度を説明変数として重回帰分析を行った結果、その変動要因は系統により異なっており、特に高温や個体の老化が自家不和合性程度の低下に影響を与えていた。気温は $26 \sim 28^\circ\text{C}$ において特に自家不和合性の低下が認められた。個体齢では、開花期の後半 4 分の 1 で最も自家不和合性程度が低下し、更に平均気温との正の交互作用が認められた。最高気温 26°C 以上、開花期間の後半 4 分の 1 という条件を満たすことで、人工不検でも厳密な自家不和合性程度の評価が可能になると考えられた。

以上の結果を応用する事で、安定した高 F_1 純度採種を可能にする親近交系統の育成が可能になる。よって、審査員一同は、堀崎 敦史氏が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。