

学位論文題名

α -トコフェロールおよびルテインを高含量に蓄積する
高機能性ダイズの育成に関する遺伝育種学的研究

学位論文内容の要旨

本研究では、ダイズ種子中に α -トコフェロール (α -Toc) とルテインの両機能性成分を高含量に蓄積する可能性を明らかにすることを目的としている。高 α -Toc 含量のダイズ品種「Keszthelyi A. S.」を母親, 高ルテイン含量のツルマメ系統「B09092」を父親として交配を行った。まず, 高 α -Toc 含量およびルテイン含量を少量の種子試料によって迅速かつ定量性良く分析する方法を確立した。この開発した方法を用いて, 登熟期のダイズ種子のトコフェロールおよびルテインの蓄積様式を調査した。次に, F_2 種子および F_2 個体 (F_3 種子) 集団を用い, α -Toc およびルテインそれぞれの高含量形質の遺伝分析を行った。また, 選抜した α -Toc 含量およびルテイン含量がともに高い F_2 系統を 1 回親として戻し交配を行い, α -Toc およびルテイン含量がともに高い B_1F_2 系統を選抜した。これらの系統を用いて栽培形質を調査・評価した。得られた結果は以下のように要約される。

1. ダイズ種子および登熟種子における α -Toc とルテインの抽出・定量

トコフェロールとルテインがそれぞれ紫外部および可視部の波長に特異的な吸収をもつことに着目し, 溶出勾配と測定波長を工夫し, 1 回の HPLC 分離によって α -Toc およびルテインを定量分析する方法を確立した。本法によって, 1 粒重が 40mg 程度の小粒の種子 (F_2 種子等) の一部分 (5~10mg) を削って α -Toc 含量およびルテイン含量を同時に定量し, 胚軸を含む残りの種子を播種して次代を養成することができた。また, 開発した方法を用いることにより, 完熟種子より多種類の成分を含むため従来の方法では目標ピークの同定が困難であった未熟種子の α -Toc 含量およびルテイン含量を安定して再現性良く定量することができた。

2. 登熟期のトコフェロールおよびルテインの蓄積様式の比較分析

高 α -Toc 含量のダイズ品種および普通品種ともビニールハウスおよび温室栽培において開花後 30 日から 60 日の完熟期までの間に, α -Toc 含量は徐々に増加した。高 α -Toc 含量の「Keszthelyi A. S.」では, 開花後 30 日から 45 日頃まで急激に増加し, その後, 穏やかな増加が続いた。「Toyokomachi」においても α -Toc 含量は開花後 30 日から 45 日頃まで増加したが, 増加の程度は「Keszthelyi A. S.」より緩やかであった。温室ではビニールハウスに比べ

て α -Toc 含量が高含量に経緯した。普通品種の「Toyokomachi」の δ -Toc 含量は、開花後 30 日から 35~40 日までの間に急激に上昇し、その後 60 日まで高含量で推移した。一方、高 α -Toc の品種「Keszthelyi A. S.」の δ -Toc 含量は、開花後 35 日から 45 日まで急激に減少し、完熟まで低含量のまま推移した。 γ -Toc 含量および総トコフェロール含量は、両品種とも開花後 30 日~60 日まで減少したが、ビニールハウスおよび温室の両栽培において、高 α -Toc 品種「Keszthelyi A. S.」の γ -Toc 含量の減少幅は、普通のダイズ品種「Toyokomachi」より大きかった。また、総トコフェロール含量は、 γ -Toc 含量と同じ減少傾向を示した。

ルテイン含量が高いツルマメ系統「GD50107-3」と「Hidaka 4」およびルテイン含量が低いダイズ品種「Keszthelyi A. S.」と「Toyokomachi」とも、ビニールハウスおよび温室の両栽培において、登熟が進むにつれてルテイン含量は徐々に減少した。しかし、ツルマメ 2 系統「GD50107-3」と「Hidaka 4」のルテイン含量の減少幅は、ダイズ 2 品種「Keszthelyi A. S.」と「Toyokomachi」より有意に小さく、ツルマメ 2 系統の完熟種子のルテイン含量はダイズ 2 品種のルテイン含量の 4 倍以上となった。

3. α -Toc 含量およびルテイン含量の頻度分布

F_2 種子および F_2 個体別の F_3 種子における α -Toc 含量およびルテイン含量の頻度分布は、それぞれ、広い範囲に連続分布し、多くの F_2 種子および F_2 個体 (F_3 種子) の α -Toc 含量は両親の中間値より低い「B09092」の含量に近い値を示した。少数の F_2 種子および F_2 個体が高 α -Toc 品種「Keszthelyi A. S.」の含量並みかそれ以上の α -Toc 含量を示した。ルテイン含量は α -Toc 含量の分布と同様に、両親の中間値より低い母親の「Keszthelyi A. S.」の含量に近い値を示した。一方、極少数の F_2 種子および F_2 個体のルテイン含量が高ルテイン系統の「B09092」並みかそれ以上の含量を示した。

4. α -Toc 含量およびルテイン含量の遺伝分析

F_2 種子および F_2 個体 (F_3 種子) の α -Toc 含量およびルテイン含量の広・狭義の遺伝率は高いことから、高 α -Toc 含量および高ルテイン含量の両形質とも安定して後代に遺伝することが示唆された。 F_2 個体 (F_3 種子) 世代において、 α -Toc 含量およびルテイン含量の間の表現型相関および遺伝相関は、両方とも有意な正の相関となった。 F_2 種子と F_2 個体 (F_3 種子) の α -Toc 含量の間およびルテイン含量の間に有意な正の相関を認めた。また、 F_2 種子および F_2 個体 (F_3 種子) の両集団において、 α -Toc 含量とルテイン含量の間に有意な正の相関が認められた。 α -Toc およびルテインを同時に高含量に蓄積した F_2 種子および F_2 個体が出現した。

5. α -Toc 含量とルテイン含量がともに高い F_2 および B_1F_2 系統の選抜・評価

α -Toc 含量およびルテイン含量がともに高い F_2 および B_1F_2 を、それぞれ 5 系統を選抜した。 F_2 系統 (F_3 種子) の α -Toc 含量およびルテイン含量と百粒重との間に相関関係は認められなかった。これら選抜した系統は、157~229 粒の多数の種子を生産し、開花・結実においても特に植物生理的な異常は認められなかった。これらの系統の一部にツルマメに由来する硬実性が

認められたが、戻し交配をくり返すことにより、後代の粒重、吸水性（硬実性）および種皮色などをダイズ型にすることができると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 喜多村 啓 介

副 査 教 授 三 上 哲 夫

副 査 准教授 阿 部 純

学 位 論 文 題 名

α -トコフェロールおよびルテインを高含量に蓄積する 高機能性ダイズの育成に関する遺伝育種学的研究

(本論文は 6 章 131 頁からなる和文論文であり、図 39, 表 13 および要約を含む)

本研究では、ダイズ種子中に α -トコフェロール (α -Toc) とルテインの両機能性成分を高含量に蓄積する可能性を明らかにすることを目的としている。高 α -Toc 含量のダイズ品種「Keszthelyi A. S.」を母親、高ルテイン含量のツルマメ系統「B09092」を父親として交配を行った。まず、高 α -Toc 含量およびルテイン含量を少量の種子試料によって迅速かつ定量性良く分析する方法を確立した。この開発した方法を用いて、登熟期のダイズ種子のトコフェロールおよびルテインの蓄積様式を調査した。次に、 F_2 種子および F_2 個体 (F_3 種子) 集団を用い、 α -Toc およびルテインそれぞれの高含量形質の遺伝分析を行った。また、選抜した α -Toc 含量およびルテイン含量がともに高い F_2 系統を 1 回親として戻し交配を行い、 α -Toc およびルテイン含量がともに高い B_1F_2 系統を選抜した。これらの系統を用いて栽培形質を調査・評価した。得られた結果は以下のように要約される。

1. ダイズ種子および未熟種子における α -Toc とルテインの抽出・定量

本研究で開発した方法によって、1 粒重が 40mg 程度の小粒の種子 (F_2 種子等) の一部分 (5~10mg) を削って α -Toc 含量およびルテイン含量を同時に定量することができた。また、開発した方法を用いることにより、完熟種子より多種類の成分を含むため従来の方法では目標ピークの同定が困難な未熟種子の α -Toc 含量およびルテイン含量を安定して再現性良く定量することができた。

2. 登熟期のトコフェロールおよびルテインの蓄積様式の比較分析

高 α -Toc 含量のダイズ品種および普通品種ともビニールハウスおよび温室栽培において開花後 30 日から 60 日の完熟期までの間に、 α -Toc 含量は徐々に増加した。高 α -Toc 含量の「Keszthelyi A. S.」では、開花後 30 日から 45 日頃まで急激に増加し、その後、穏やかな増加が続いた。「Toyokomachi」においても α -Toc 含量は開花後 30 日から 45 日頃まで増加したが、増加の程度は「Keszthelyi A. S.」より緩やかであった。温室ではビニールハウスに比べて α -Toc 含量が高含量に経緯した。普通品種の「Toyokomachi」の δ -Toc 含量は、開花後 30 日から 35~40 日までの間に急激に上昇し、その後 60 日まで高含量で推移した。一方、高 α -Toc の品種「Keszthelyi A. S.」の δ -Toc 含量は、開

花後 35 日から 45 日まで急激に減少し、完熟まで低含量のまま推移した。 γ -Toc 含量および総トコフェロール含量は、両品種とも開花後 30 日～60 日まで減少したが、ビニールハウスおよび温室の両栽培において、高 α -Toc 品種「Keszthelyi A. S.」の γ -Toc 含量の減少幅は、普通のダイズ品種「Toyokomachi」より大きかった。また、総トコフェロール含量は、 γ -Toc 含量と同じ減少傾向を示した。

ルテイン含量が高いツルマメ系統「GD50107-3」と「Hidaka 4」およびルテイン含量が低いダイズ品種「Keszthelyi A. S.」と「Toyokomachi」とも、ビニールハウスおよび温室の両栽培において、登熟が進むにつれてルテイン含量は徐々に減少した。しかし、ツルマメ 2 系統のルテイン含量の減少幅は、ダイズ 2 品種より有意に小さく、ツルマメ 2 系統の完熟種子のルテイン含量はダイズ 2 品種のルテイン含量の 4 倍以上となった。

3. α -Toc 含量およびルテイン含量の頻度分布

F_2 種子および F_2 個体別の F_3 種子における α -Toc 含量およびルテイン含量の頻度分布は、それぞれ、広い範囲に連続分布し、多くの F_2 種子および F_2 個体 (F_3 種子) の α -Toc 含量は両親の中間値より低い「B09092」の含量に近い値を示した。少数の F_2 種子および F_2 個体が高 α -Toc 品種「Keszthelyi A. S.」の含量並みかそれ以上の α -Toc 含量を示した。ルテイン含量は α -Toc 含量の分布と同様に、両親の中間値より低い母親の「Keszthelyi A. S.」の含量に近い値を示した。一方、極少数の F_2 種子および F_2 個体のルテイン含量が高ルテイン系統の「B09092」並みかそれ以上の含量を示した。

4. α -Toc 含量およびルテイン含量の遺伝分析

F_2 種子および F_2 個体 (F_3 種子) の α -Toc 含量およびルテイン含量の広・狭義の遺伝率は高いことから、高 α -Toc 含量および高ルテイン含量の両形質とも安定して後代に遺伝することが示唆された。 F_2 個体 (F_3 種子) 世代において、 α -Toc 含量およびルテイン含量の間の表現型相関および遺伝相関は、両方とも有意な正の相関となった。また、 F_2 種子および F_2 個体 (F_3 種子) の両集団において、 α -Toc 含量とルテイン含量の間に有意な正の相関が認められた。 α -Toc およびルテインを同時に高含量に蓄積した F_2 種子および F_2 個体が出現した。

5. α -Toc 含量とルテイン含量がともに高い F_2 および B_1F_2 系統の選抜・評価

α -Toc 含量およびルテイン含量がともに高い F_2 および B_1F_2 を、それぞれ 5 系統を選抜した。 F_2 系統 (F_3 種子) の α -Toc 含量およびルテイン含量と百粒重との間に相関関係は認められなかった。これら選抜した系統は、157～229 粒の多数の種子を生産し、開花・結実においても特に植物生理的な異常は認められなかった。

評価：

本研究は、 α -Toc 含量およびルテイン含量を少量の種子試料によって迅速かつ定量性良く分析する方法を開発した。また、高 α -Toc ダイズ品種および高ルテインツルマメ系統との交配後代種子を用いて、 α -Toc 含量およびルテイン含量に関する遺伝的特性を明らかにした。さらに、 α -Toc 含量とルテイン含量がともに高い F_2 および B_1F_2 を数個体選抜し、成分含量と粒重に関係がないことや生育等に生理的な異常を示さないことを示した。 α -Toc およびルテインをとともに高含量に蓄積する高機能性ダイズの育成が可能であることを初めて明らかにした。これらの成果はダイズの成

分改変品種の実用化に重要な道筋を立てるものであり、学術的に高く評価できる。

よって、審査員一同は、王 紹東氏が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。