

# Sハプロタイプに着目して育成したF1大和マナ品種

誌名	近畿中国四国農業研究
ISSN	13476238
著者名	浅尾,浩史 西本,登志 越智,康治 梶田,季生 高山,誠司
発行元	近畿中国四国農業研究協議会
巻/号	19号
掲載ページ	p. 15-19
発行年月	2011年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



[原 著]

Sハプロタイプに着目して育成したF<sub>1</sub>大和マナ品種  
(‘夏なら菜’ と ‘冬なら菜’)

浅尾 浩史・西本 登志・越智 康治\*・梶田 季生\*・高山 誠司\*\*

奈良県農業総合センター 634-0813 橿原市四条町

\*ナント種苗株式会社 633-2101 宇陀市大宇陀区

\*\*奈良先端科学技術大学院大学 630-0192 生駒市高山町

Breeding of F<sub>1</sub> Varieties of Yamato-mana (‘Natsunarana’ and  
‘Fuyunarana’) Based on the S-haplotype

Hiroshi ASAO, Toshi NISHIMOTO, Yasuharu OCHI\*, Sueo KAJITA\* and Seiji TAKAYAMA\*\*

Nara Prefectural Agricultural Experiment Station, Kashihara, Nara 634-0813

\*Nanto Seed Co., Ltd., Uda, Nara 633-2101

\*\*Nara Institute of Science and Technology, Ikoma, Nara 630-0192

Summary

Yamato-mana (*Brassica rapa* L. Oleifera Group), a traditional vegetable of Yamato, has some weak points: its growth is not uniform, and its outer leaves are liable to turn yellow after harvest. To overcome these disadvantages, we bred F<sub>1</sub> cultivars by use of the S haplotype, which controls self-incompatibility. By three-way crossing, we succeeded in the breeding of ‘Natsunarana’, which is suited for cultivation during the high-temperature season, and ‘Fuyunarana’, which is suited for the cultivation in the low-temperature season. Both cultivars were characterized by their uniform plant shapes; moreover, they were somewhat effective in preventing the yellowing of leaves than conventional cultivars. The period required for breeding of F<sub>1</sub> cultivars by three-way crossing was reduced by use of the S haplotype from the beginning of breeding.

(Received Feb. 9, 2011 ; Accepted Jun. 29, 2011)

奈良県の在来品種と位置づけられている大和マナ (*Brassica rapa* L. Oleifera Group)<sup>1)</sup> はツケナの一種で、奈良県は大和の伝統野菜と認定して、生産・販売支援に力を注いでいる。大和マナは、青菜独特のえぐみが少なく、生食や加熱など様々な料理法に適用できる長所を有するが、揃いが悪い点や収穫後の日持ちが悪いなどの欠点を有している。さらに、高温期は生育が早いため収穫適期が短く、低温期は生育が遅いため収穫までに長期間を要するといった欠点も有している。それらの欠点を克服するには自家不和合性を利用したF<sub>1</sub>品種の育成が有効であると考えられる。アブラナ科植物の自家不和合性は孢子体的に機能する1遺伝子座のSハプロタイプにより制御され、基本的に雌ずいと花粉が同一のSハプロタ

イプを表現型として共有する場合に不和合となる<sup>4)</sup>。著者らはこれまでに、大和マナ等のSハプロタイプを網羅的に解析して、品種・系統間の遺伝的関係を明らかにしてきた<sup>3)</sup>。自家不和合性を利用したF<sub>1</sub>品種の作出には、自家不和合性を制御しているSハプロタイプをホモに持つ幾つかの純系親系統の作出が必要である。採種効率を考えると、自殖が進むことで生じる自殖弱勢を防ぐことができる3元交配が、2元交配より有利である。しかし、3元交配でF<sub>1</sub>品種を育成するには、多くの純系親系統を用いた組合せ検定が必要となる。そこで、育種当初からSハプロタイプを同定しておけば、育成すべき純系親系統数を最小限にとどめることができる。さらに、同定したSハプロタイプの塩基配列に基づき設計したプライマーを用いたPCRによって、蕾受粉後のSハプロタイプをホモに持つ個体の識別が可能となる。

本研究では、Sハプロタイプに着目して、ダイコンの葉に類似した、葉身部に不規則な楕円形をした頭葉と翼葉を有するという大和マナの草姿の特徴を損なわず、揃いが良くて収穫後の外葉が黄化しにくいF<sub>1</sub>品種の作出を試みた。

なお、本研究は、JST、奈良県地域結集型研究開発プログラム「古都奈良の新世紀植物機能活用技術の開発」の一環として実施した。

## 1 材料および方法

### 1) 純系親系統の育成

ナント種苗において集団栽培されている‘大和真菜’から、大和マナの特徴を有する草姿で旺盛な生育を示す11個体(YM1~11)を選抜した。選抜した11個体の‘大和真菜’の葉組織からDNeasy Plant Mini Kit (Qiagen)を用いてゲノムDNAを抽出した。ゲノムDNAからクラスI *SLG*対立遺伝子とクラスII *SP11*対立遺伝子をPCR増幅し<sup>6, 7, 8)</sup>、既報<sup>3)</sup>に従ってSハプロタイプを同定した。

2004年3月に蕾受粉を行った。同年5月に採種して、同年9月に播種した各系統200個体の中から、形質(葉の形、草丈、節間長、生育の早さ、葉色および黄化程度など)が優良で、Sハプロタイプをホモに持つS<sub>1</sub>個体(自殖第1代)を6個体ずつ選抜した。同時に、3元交配に用いる純系親系統を育成するために、異なるSハプロタイプを持ち、形態的にはほとんど同じである個体も選抜した。2005年、2006年および2007年に同様な作業を行い、S<sub>4</sub>の純系親系統を得た。

### 2) 組合わせ交配検定

2008年に5種類のSハプロタイプ(S<sub>26</sub>, S<sub>28</sub>, S<sub>60</sub>, S<sub>71</sub>, S<sub>72</sub>)を有する10系統のS<sub>4</sub>の純系親系統を、組合わせ交配検定に用いた。高温期と低温期に生育が適する2品種(‘夏なら菜’と‘冬なら菜’)を選抜して、下記の特性調査に用いた。

### 3) 特性調査

大和マナF<sub>1</sub>品種‘夏なら菜’と‘冬なら菜’、および固定種である‘大和真菜’を供試材料とした。2010年10月26日に播種し、播種後46日目の12月11日と、播種後56日目の12月21日に収穫して、草丈と株重を測定した。さらに、12月21日に収穫した各品種10株をポリ袋に入れ、10℃暗黒下で貯蔵し、0~12日目の各個体の最外葉におけるクロロフィル量(SPAD-502, ミノルタ)を測定した。黄化程度はクロロフィル量を示すSPAD値で表した。栽培は雨よけハウスで、条間15cm, 株間7.5cmの4条植えとし、10a当たり成分量で窒素15kg, リ

ン酸15kgおよびカリウム15kgを元肥として施用した。12月11日収穫分は3反復の各試験区から25個体ずつサンプリングして合計75個体を測定し、12月21日収穫分は3反復の各試験区から10個体ずつサンプリングして合計30個体を測定し、Tukey-Kramer法による多重検定を行った。

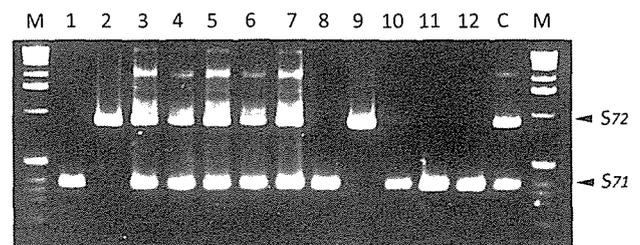
## 2 結 果

### 1) 純系親系統の育成

形質が優良であるとして選抜した10系統の純系親系統は、5種類のSハプロタイプ(S<sub>26</sub>, S<sub>28</sub>, S<sub>60</sub>, S<sub>71</sub>, S<sub>72</sub>)を有していた。S<sub>26</sub>, S<sub>28</sub>, S<sub>71</sub>およびS<sub>72</sub>はクラスIに、S<sub>60</sub>はクラスIIに属するSハプロタイプであった。S<sub>71</sub>とS<sub>72</sub>を特異的に増幅させるプライマーを設計して、3種類のプライマーを用いたPCRを行うことによって、YM4系統(S<sub>71</sub>/S<sub>72</sub>)の自殖後代におけるSハプロタイプのホモの個体(S<sub>71</sub>/S<sub>71</sub>あるいはS<sub>72</sub>/S<sub>72</sub>)とヘテロの個体(S<sub>71</sub>/S<sub>72</sub>)を識別することに成功した(第1図)。他の系統においても同様にして、自殖後代におけるSハプロタイプのホモの個体とヘテロの個体を識別した。

### 2) 組合わせ交配検定

高温期の栽培に適する品種を育成するために、Sハプロタイプは異なるが形態的に類似しているYM4-1-1-2(S<sub>71</sub>/S<sub>71</sub>)とYM4-9-10-7(S<sub>72</sub>/S<sub>72</sub>)を交配した後代を胚珠親とし、組合わせ能力が高かったYM10-13-3-3(S<sub>26</sub>/S<sub>26</sub>)を花粉親としてF<sub>1</sub>品種‘夏なら菜’を作出した。‘夏なら菜’はSハプロタイプヘテロ個体(S<sub>26</sub>/S<sub>71</sub>)



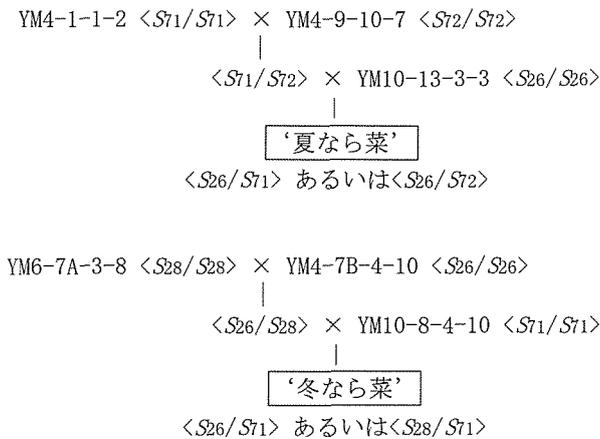
第1図 YM4系統の自殖後代のPCRによるホモ・ヘテロの判別

M: 1kbマーカー, C: YM4系統(S<sub>71</sub>/S<sub>72</sub>)

1, 8, 10, 11, 12: S<sub>71</sub>のホモ個体, 2, 9: S<sub>72</sub>のホモ個体

5'-GATGCGAGACTCCAATAACA-3', 5'-ATCCAAGGGTTCAGACCAAAA-3', 5'-CCGTGTTTTATTTAAGAGAAAGAGCT-3'の3種類のプライマーを用いてPCRを行い、PCR産物を1.5%アガロースゲルで電気泳動した。

PCRは、94℃・1minの熱変性後、94℃・30secの熱変性、60℃・30secのアニーリング、72℃・1minの伸長反応を40サイクル行い、最後に72℃・7minで反応させた。

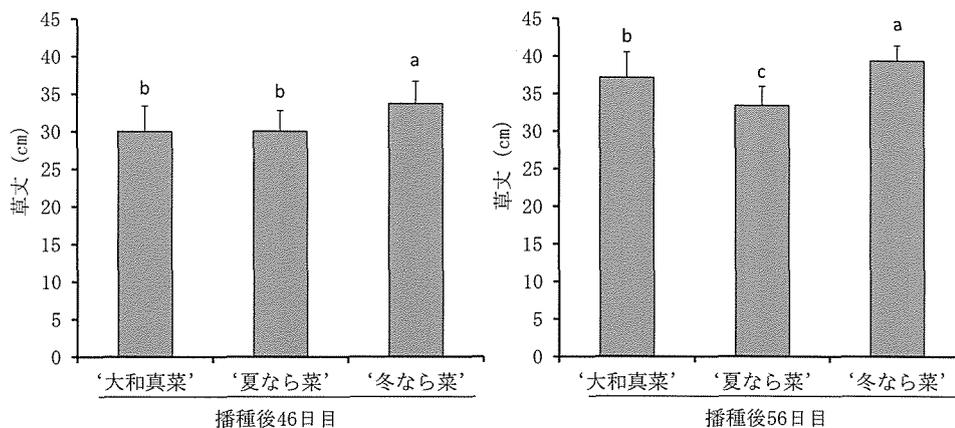


第2図 Sハプロタイプに着目した3元交配によるF<sub>1</sub>大和マナ品種の育成

あるいはS<sub>26</sub>/S<sub>72</sub>で構成されていた(第2図)。また、低温期の栽培に適する品種を育成するために、Sハプロタイプは異なるが形態的に類似しているYM6-7A-3-8(S<sub>28</sub>/S<sub>28</sub>)とYM4-7B-4-10(S<sub>26</sub>/S<sub>26</sub>)を交配した後代を胚珠親とし、組み合わせ能力が高かったYM10-8-4-10(S<sub>71</sub>/S<sub>71</sub>)を花粉親としてF<sub>1</sub>品種‘冬なら菜’を作出した。‘冬なら菜’はSハプロタイプヘテロ個体(S<sub>26</sub>/S<sub>71</sub>あるいはS<sub>28</sub>/S<sub>71</sub>)で構成されていた(第2図)。

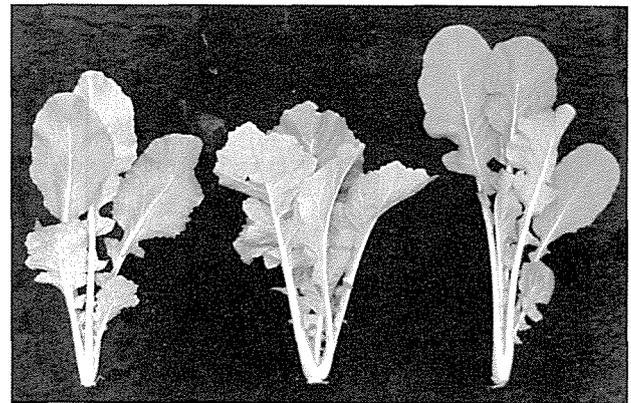
第1表 F<sub>1</sub>大和マナ品種の育成経過

年度	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
世代	S <sub>0</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>1</sub>	F <sub>1</sub>
備考	母集団	蕾受粉による純系親系統の育成		CO <sub>2</sub> 施用による純系親系統の育成		組み合わせ交配検定	試験栽培と採種	品種登録出願‘夏なら菜’‘冬なら菜’



第4図 各品種における草丈の推移

2010年10月26日に播種し、12月11日(播種後46日目)と12月21日(播種後56日目)に収穫  
 図中の縦棒は標準偏差(播種後46日目はn=75, 播種後56日目はn=30)  
 異なる文字間にはTukey-Kramer法により1%水準で有意差あり



第3図 各品種の外観の違い(播種後56日目)

第3図 各品種の外観の違い(播種後56日目)

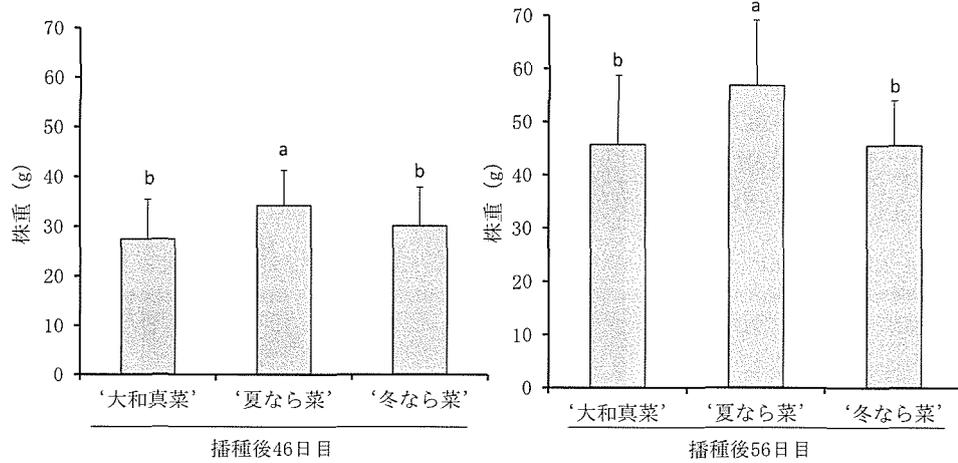
### 3) 特性調査

2010年3月23日にF<sub>1</sub>大和マナ品種である‘夏なら菜’(第24703号)と‘冬なら菜’(第24702号)を品種登録出願した。両品種(第3図)の育成経過は第1表に示したとおりである。

播種後46日目と56日目において、‘冬なら菜’は‘大和真菜’や‘夏なら菜’と比較して有意に草丈が大きかった(第4図)。また、播種後56日目において、‘夏なら菜’は‘大和真菜’や‘冬なら菜’と比較して草丈は有意に小さ

かった。一方、株重は、播種後46日目と56日目において、‘夏なら菜’は‘大和真菜’や‘冬なら菜’と比較して有意に大きかった(第5図)。各品種における草丈と株重のばらつきを示す変動係数は、播種後46日目と56日目において、‘大和真菜’の値が‘夏なら菜’と‘冬なら菜’の値よりも大きかった(第2表)。F<sub>1</sub>大和マナ品種の葉の形態を固定種である‘大和真菜’と比較すると、‘夏なら菜’の葉は倒卵型で葉柄は短かく、‘冬なら菜’の葉はへら型で葉幅と葉柄は長くて立性度が高かった。

‘大和真菜’のSPAD値と比較して、貯蔵日数



第5図 各品種における株重の推移

2010年10月26日に播種し、12月11日（播種後46日目）と12月21日（播種後56日目）に収穫  
 図中の縦棒は標準偏差（播種後46日目はn = 75, 播種後56日目はn = 30）  
 異なる文字間にはTukey-Kramer法により1%水準で有意差あり

第2表 各品種における草丈と株重の変動係数 (%)

品種	播種後46日目 <sup>z</sup>		播種後56日目 <sup>y</sup>	
	草丈	株重	草丈	株重
‘大和真菜’	11.3	29.0	9.1	28.4
‘夏なら菜’	9.1	20.6	7.5	21.7
‘冬なら菜’	8.7	25.8	5.1	18.6

<sup>z</sup> n=75

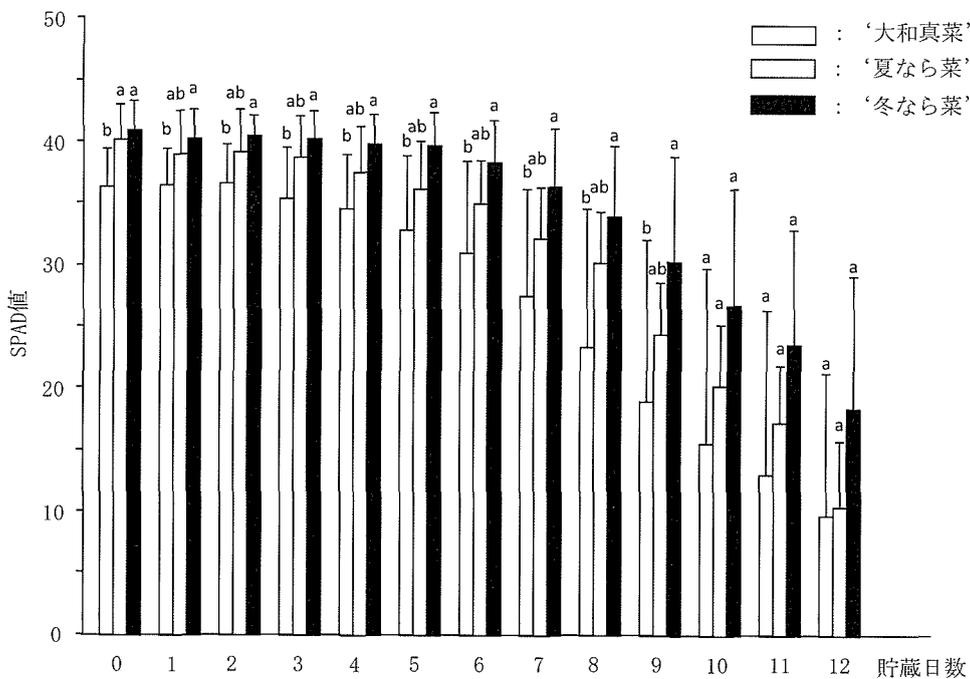
<sup>y</sup> n=30

0～9日目の‘冬なら菜’のSPAD値は有意に高かった（第6図）。しかし、貯蔵日数1～12日目において、‘大和真菜’と‘夏なら菜’の間に、‘夏なら菜’と‘冬なら菜’の間にはいずれもSPAD値に有意差は認められなかった。一方、店頭での黄化が気にならないSPAD値は30以上であり、SPAD値30を維持している貯蔵日数は、‘大和真菜’で6日目、‘夏なら菜’で8日目および‘冬なら菜’で9日目であった。

また、SPAD値のばらつきを示す変動係数は、貯蔵日数1日目を除いて、‘大和真菜’が最も大きく、この傾向は貯蔵日数6日目以降で顕著であった（第7図）。

### 3 考 察

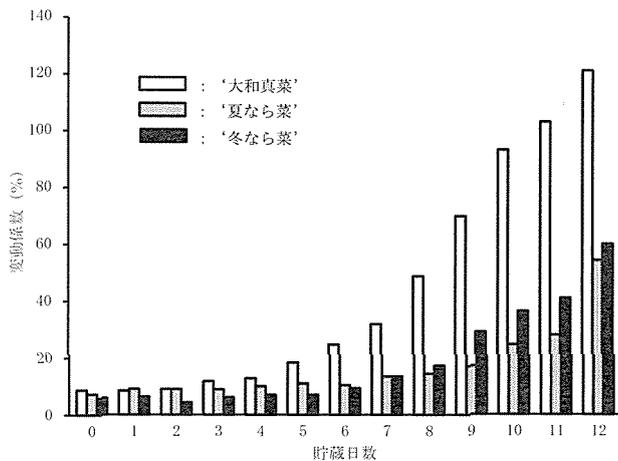
自家不和合性を利用したF<sub>1</sub>育種を目指す場合、S<sub>H</sub>



第6図 10℃での暗黒貯蔵が各品種の最外葉の黄化に及ぼす影響

図中の縦棒は標準偏差（n = 10）

貯蔵日数が同じ場合における異なる文字間ではTukey-Kramer法により5%水準で有意差あり



第7図 各品種の最外葉における貯蔵日数毎のSPAD値の変動係数

供試個体数は各品種10個体

プロタイプをあらかじめ同定した上で育種を開始すれば、育成する純系親系統数は最小限でよく、短期間に計画的な3元交配によるF<sub>1</sub>品種の育成が可能となる。しかし、これまでに育種当初からSハプロタイプに着目して品種が育成された報告例はない。大和の伝統野菜の一つである大和マナは、集団採種されているための欠点である不揃い性や収穫後の品質低下が改良されれば、需要が増え、生産も振興されると期待される。そこで、集団採種されている大和マナから形質が優良である個体を選抜するとともに、Sハプロタイプの塩基配列を同定し、自殖後代でSハプロタイプをホモに持つ個体を適切なプライマーを用いたPCRで選抜した。さらに、最初から3元交配による育種を目指して、形態的にはほとんど同じでSハプロタイプが異なる個体を選抜することによって、組合わせ交配検定を効率化でき、F<sub>1</sub>品種育成までの年限を短縮することに成功した。本手法は自家不和合性を利用したF<sub>1</sub>育種に一石を投じるものであると思われる。

大和マナの周年栽培を想定すると、夏季の高温期に時間をかけてゆっくりと生育させて収穫適期を拡大することや、冬季の低温期に生育を早めて栽培時期を短縮することが重要である。本研究において、高温期の栽培に適する‘夏なら菜’と、低温期の栽培に適する‘冬なら菜’を同時に育成したことで、大和マナの作期拡大に貢献できるであろう。また、F<sub>1</sub>品種の草丈と株重の変動係数が、‘大和真菜’よりも小さく、生育の揃いが良いことが示された。さらに、F<sub>1</sub>品種の貯蔵期間中の黄化程度が、固定種である‘大和真菜’と比較して店頭レベルで優れていると推定されることから、育成したF<sub>1</sub>品種は、

‘大和真菜’が改良された優良な品種であると考えられる。

著者らはこれまでに、大和マナの来歴を検証し<sup>5)</sup>、奈良県内6か所の異なる地域で集団採種された大和マナ系統から31種類のSハプロタイプ(27種類のクラスIと4種類のクラスII)を同定しており<sup>2)</sup>、今後多くのSハプロタイプに着目することによって、さらに優良なF<sub>1</sub>品種の育成が期待できる。

## 4 摘 要

大和の伝統野菜の一つである大和マナは、揃いが悪い点や収穫後の外葉が黄化しやすいなどの欠点を有している。そこで、それらの欠点を克服するために、自家不和合性を制御しているSハプロタイプに着目してF<sub>1</sub>品種の育成に取り組んだ。3元交配によって、高温期の栽培に適する‘夏なら菜’と低温期の栽培に適する‘冬なら菜’のF<sub>1</sub>品種の育成に成功した。両品種とも草姿と生育の揃いがよく、黄化しにくい特徴を有していた。また、育種当初からSハプロタイプに着目することによって、3元交配によるF<sub>1</sub>育種にかかる年限を短縮することができた。

## 引用文献

- 1) 青葉 高：園学雑，32，65-72，1964.
- 2) 浅尾浩史・奥山恵里・矢野健太郎・西本登志・北條雅也・越智康治・梶田季生・高山誠司：園学研，7(4)，505-510，2008.
- 3) 浅尾浩史・奥山恵里・矢野健太郎・西本登志・北條雅也・高山誠司：近畿中国四国農研，14，41-46，2009.
- 4) Bateman, A.J：Heredity, 9, 53-68, 1955.
- 5) 西本登志・北條雅也・浅尾浩史・米田祥二・後藤公美・堀川大輔・黒住 徹：奈良農総セ研報，39，42-46，2008.
- 6) Nishio, T., M. Kusaba, M. Watanabe and K. Hinata：Theor. Appl. Genet., 92, 388-394, 1996.
- 7) Sakamoto, K., M. Kusaba and T. Nishio：Mol. Gen. Genet., 258, 397-403, 1998.
- 8) Shiba, H., M. Iwano, T. Entani, K. Ishimoto, H. Shimosato, F. Che, Y. Satta, A. Ito, Y. Takada, M. Watanabe, A. Isogai and S. Takayama：Plant Cell, 14, 491-504, 2002.