

研究成果

<p>テーマ1：吉野クズ・大和マナの機能性評価及び活用技術の開発 サブテーマ1-2： 大和マナの抗炎症機能等の評価及び栽培・食品への活用 小テーマ1-2c： F₁ハイブリッド大和マナの分子育種</p>
<p>サブテーマリーダー（所属、氏名、役職）： 奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 教授 高山誠司 研究従事者（所属、氏名、役職）： 奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 教授 高山誠司 奈良県農業総合センター 総括研究員 浅尾浩史、総括研究員 平浩一郎 ナント種苗㈱ 取締役技術顧問 梶田季生、研究開発部長 越智康治 （財）奈良県中小企業支援センター 地域結集型共同研究コア研究室 室長 野本享資、 研究員 團迫智子（H18.4～H21.3）</p>
<p>研究の概要、新規性及び目標 ①研究の概要 奈良県の伝統野菜である大和マナは、農家で個別に集団栽培・維持されてきたために遺伝的に不均質であり、形態や生育速度のバラツキが大きい、収穫後に黄化し易く流通が困難、夏期の収穫期間が短く周年栽培が困難、機能性成分の含量が不均質、など多くの問題を抱えていた。そこで、本テーマでは、これらの問題を解決するために、自家不和合性を利用した優れたF₁ハイブリッド品種を作出することを目的とした。また本育種では、自家不和合性S遺伝子に関する最新の知見を有効活用して効率的な育種を目指すと共に、黄化や自家不和合性の安定性に関わる遺伝子の解析を進め、広範なアブラナ科野菜類に適用可能な新育種技術を確立することを目指した。</p> <p>②研究の独自性・新規性 大和マナの機能性に着目した育種やF₁育種は従来行われておらず、初の試みであった。また、最新の解析技術を使用し大和マナの全S遺伝子を同定し、その中からF₁育種に適するS遺伝子を抽出し、それらに着目して計画的・効率的な育種を行う点に新規性・独自性があった。また、機能性成分としてイソチオシアネート（ITC）の含量、黄化の難易さを親株選抜の際の評価項目に加え、科学的に評価・解析した点も独自性があった。</p> <p>③研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に） 【フェーズⅠ】 県内で維持されてきた大和マナ7系統のS遺伝子を網羅的に決定する。安定な自家不和合性を与えるS遺伝子を選抜し、それらの簡易同定法を確立し、計画的に親株（S遺伝子ホモ株）の育種を進める。葉型等の諸形質に加え、黄化の程度、ITC含量等を評価し、選抜・自殖を繰り返して親株（自殖第4世代）10系統を得る。大和マナの黄化形質と連鎖するRAPDマーカーを探索する。さらに特定のS遺伝子が不安定な自家不和合性を付与する原因を解明する。</p> <p>【フェーズⅡ】 全国の類縁ツケナ類のS遺伝子を比較解析し、大和マナの来歴を明確化する。10系統の親株について、CO₂処理による大量自殖種子生産法を検討後、組合せ能力検定を行い、夏・冬期栽培に適したF₁品種を選定する。選定されたF₁品種について、効率的な三元交配による生産の成否を検討し、従来品に対する優位性を確認した後、品種登録申請する。黄化に連動して発現変動する遺伝子を同定すると共に、施肥量と黄化の関連について検討を加える。効率的自殖種子生産法開発に向けて、CO₂感受性を支配する遺伝子の解明を進める。フェーズⅢに向けて、より優れたF₁品種確立のための親株の育種を継続すると共に、ダイコンを材料に本プログラムで確立した新育種技術の有効性を検証する。</p>
<p>研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して）</p> <ul style="list-style-type: none"> ・今回SP11遺伝子を新たに解析対象に加えることでS遺伝子の網羅的な解析が初めて可能となった。この新手法により大和マナ7系統と類似のツケナ4系統の計11系統381個体のS遺伝子を解析できた。さらに、S遺伝子をクラスター解析することにより、大和マナの来歴も解明することができた。 ・ナント種苗㈱で維持されてきた大和マナから形態的に優れた11株を選抜して親株の作出を進めた。まず、安定性の期待されるS遺伝子を選定し、それらのPCRによる簡易同定法を確立した。11株の蕾受粉による自殖後代350個体の中から、同法により各S遺伝子をホモに持つ個体を選抜し、その中から黄化が遅く、ITC含量が高いなど優れた特性を持つ個体を選抜する操作を4世代に渡り繰り返し、親株候補としての自殖第4世代を10系統育成した。 ・CO₂処理とミツバチ交配による、親株候補の自殖種子大量調製法を検討した。また、親株候補間の組合せ能力検定を行い、夏・冬期栽培に適した生育速度の2組合せを選抜した。これらにつき三元交配と二元交配の比較試験、従来集団栽培品との比較試験を行い、平成22年3月に‘夏なら菜’‘冬なら菜’の2品種として品種登録申請した。 ・親株作出の際に分離した黄化の程度の異なる2系統を遺伝的に解析し、黄化しにくい形質と連鎖するRAPDマーカーを作出した。また、マイクロアレイ解析により黄化に伴って変動する遺伝子を探索した。さらに、施肥量と黄化変動遺伝子、SPAD値（クロロフィル量）、Fv/Fm値（光合成活性）の関連を解析した。 ・フェーズⅢに向けて、新たなS遺伝子型を持つ大和マナの親株を6系統を育成した。さらに、他のアブラナ科野菜の代表としてダイコンに着目し、そのS遺伝子の解析を開始した。

主な成果

具体的な成果内容：

- ・大和マナ7系統と類似ツケナ類4系統より、計31種類のS遺伝子を同定した。クラスター解析により、大和マナが遺伝的に近く、奈良県独自の固有種として維持されてきた来歴が確認された。
- ・S遺伝子の簡易同定法を確立し、ナント種苗(株)で維持されてきた大和マナから、安定したS₂₆、S₂₈、S₆₀、S₇₁、S₇₂遺伝子をホモに持ち、耐黄化性・高機能性など優れた特性を持つ親株を10系統作出した。
- ・有効なCO₂処理条件（3%,1hr, 2週間）を決定し、親株の自殖種子の大量生産法を確立した。
- ・組合せ能力検定により、夏・冬期栽培に適し優れた特性を持つF₁候補を2組選抜した。さらに三元交配の有効性、従来品に対する優位性を確認し「夏なら菜」「冬なら菜」として品種登録申請した。
- ・耐黄化性と連鎖するRAPDマーカーと、黄化に先行して上昇する老化関連SAGI2遺伝子を同定した。さらに栽培時の施肥量の調整により、新F₁品種のSAGI2誘導と黄化を抑制しうることを見出した。
- ・特定のS遺伝子の機能が不安定となる要因を特定し、育種に有効なS遺伝子を選定する際の基準を確立した。また、CO₂処理に対して高感受性を付与する劣性遺伝子の存在を確認した。

特許件数：1件 品種登録出願：2件 論文数：4件 口頭発表件数：21件

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

- ・新たなS遺伝子解析法の導入により、大和マナを含むほぼ全てのツケナ類のS遺伝子解析が初めて可能となった。S遺伝子がツケナ類の来歴解析に利用出来ることも本研究で初めて示された。
- ・抗炎症性成分に富む大和マナの優れたF₁株が2品種が育成され、周年栽培も可能となった。また、安定なS遺伝子に着目した計画的な育種により、効率的なF₁育種が可能となることが実証された。
- ・大和マナ集団に耐黄化性遺伝子の存在が初めて見出され、「夏なら菜」の育種に有効利用された。

2 実用化に向けた波及効果

- ・本研究で確立したF₁育種技術は、広範なアブラナ科野菜類に適用可能な技術となると期待される。
- ・SAGI2遺伝子の黄化の分子マーカーとしての有効性が示され、今後他植物への応用が期待される。
- ・本研究で見出したCO₂高感受性を支配する遺伝子の実体が解明され、自家不和合性の効率的な打破方法が確立されれば、広範な植物のF₁育種に利用可能な基盤技術となることが期待される。

残された課題と対応方針について

- ・継続して作出している「大和マナ」の親系統の中から、さらに優れたF₁株の選抜・育種。
- ・本研究で確立したF₁育種技術の、ダイコンなど他品目への応用。
- ・耐黄化性遺伝子やCO₂高感受性遺伝子の実体解明と育種への適用。

	J S T 負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	17年度	18年度	19年度	20年度	21年度	22年度	小計	17年度	18年度	19年度	20年度	21年度	22年度	小計	
人件費	75	4,735	5,143	6,033	6,080	3,653	25,719	1,321	8,510	8,942	7,358	6,598	4,859	37,588	63,307
設備費	5,493	5,486	7,417	3,941	492	2,293	25,122	113	3,885	3,966	4,037	4,072	3,695	19,768	44,890
その他 研究費*	1,367	10,729	8,649	7,429	11,544	2,466	42,184	1,088	465	518	498	544	1,128	4,241	46,425
旅費	26	225	254	188	108	38	839	0	0	0	0	0	0	0	839
その他	9	1,403	991	1,151	1,077	995	5,626	0	0	0	0	466	0	466	6,092
小計	6,970	22,578	22,454	18,742	19,301	9,445	99,490	2,522	12,860	13,426	11,893	11,680	9,682	62,063	161,553

代表的な設備名と仕様【既存（事業開始前）の設備含む】

J S T 負担による設備：ガスクロマトグラフ飛行時間型質量分析装置（LECO社製PegasusIV型）、飛行時間型精密質量測定装置（定量仕様、ウォーターズ社製LCT-Premier TYPE MB）

地域負担による設備：PCR、培養室（7.5m², SANYO）、クリーンベンチ（MP-850, NK system）、ハウス（間口6m、奥行き28m）2棟、採種用網室（間口4m、奥行き17m）2棟、（間口4m、奥行き15m）1棟、（間口4m、奥行き12m）1棟、（間口4m、奥行き7m）4棟、（間口4m、奥行き5m）1棟、炭酸ガス処理装置1式（間口4m、奥行き7m用）