系統選抜による宮崎県在来野菜「糸巻き大根」の再生および新品種育成へのアプローチ

田中佑樹[1]，熊本耕平[2]，石井修平[1]，西村佳子[1]，富永　寛[3]，陳　蘭莊（庄）[1,2*]

[1]大学院園芸学・食品科学研究科; [2]生物工学研究室; [3]元宮崎県総合農業試験場

2010年10月20日受付; 2011年1月25日受理

Approach to regeneration and new cultivar breeding of “Itomaki-Daikon” of Miyazaki origin vegetable using line selection method

Yuki Tanaka[1], Kohei Kumamoto[2], Shuhei Ishii[1], Yoshiko Nishimura[1], Hiroshi Tominaga[3], Lanzhuang Chen[1,2*]

[1]Grad. Sch. Horti. and Food Sci., Minami Kyushu University: *[2]Laboratory of Biotechnology, Faculty of Environ. and Horti. Sci., Minami Kyushu University, 3764-1, Tatenocho, Miyakonojyou-shi, Miyazaki 885-0035, Japan*: *[3]Miyazaki Prefecture Agricultural Experiment Station, Sadowara, Miyazaki, 880-0212, Japan*:

Received October 20, 2010; Accepted January 25, 2011

“Itomaki-Daikon” is a local radish variety in Miyazaki region, and mainly produced and consumed in Nishimera village by natural crossing propagation. It has many advantageous characters, for example, sweet taste, cold-tolerant, and so on. However, as natural crossing propagation for a long period, mutant mass rather than a variety exists and could not be shipped to the market as goods. For the purpose of promoting Miyazaki economy and reviving the vegetable, the “Itomaki-Daikon” was used in this study to try to breed new varieties using line selection method, to meet the increasing demand for the nuclear family and for processing. The following experiments were carried out in this study.

1. High Efficient Genome Scanning (HEGS) method was used to detect the differences among the lines and varieties in the area around Nishimera, and the results indicated that “Itomaki-Daikon” belonged to an independent group, which was considered as the same group of other local varieties. And a genealogy was also made based on HEGS band patterns.

2. During 4 years of line selection, the mutant mass of “Itomaki-Daikon” was divided into 3 groups with 13 lines. As the 3 groups including the type O (Oval), type T (Turnip) and type L (Long), are promising by some important characters for marketing, the selecting experiments are being in progress forward to variety registration right now.

3. The sugar contents of selected lines were measured, and the values were 4.9-6.9 (max 7.2) among the lines of RR (red leaf, red root) and MR (mixture of green and red leaves, red root) groups and higher than 4. 5 of “Taibyo-sobutori”, a popular variety of Takii Seed Company as a control in this study.

Key words: High Efficient Genome Scanning (HEGS) method, “Itomaki-Daikon” (*Raphanus sativus* L.), line selection method, sugar content.

緒　言

「糸巻き大根」（米良大根）（*Raphanus sativus* L.）は宮崎県西米良村の在来野菜で，来歴は定かではないが古くより西米良村とその近隣地区のみで栽培されてきたとされている．側根にそって赤い条線が発現することが最大の特徴であり，名前の由来もこの現象にある．他に糖度が高い，耐寒性が強い等の特徴がある（富永寛，2002）．「糸巻き大根」は自花不和合性をもち，同じ株内の花同士も不和合性を示すが，同じ集団内，または同じアブラナ科内では和合性を示す．このように，長年の自然交配により，糸巻き模様の発現の有無やその形態，根形も紡錘形，長形，球形など，様々に変化し，葉についても赤い色素が発現するものとしないものがあるなど，形質に関しては著しく不安定に

*連絡著者：E-mail, lzchen@nankyudai.ac.jp

図1．宮崎県西米良村で生産されている「糸巻き大根」の一部に発現する表現型

なっており（図1），このことが商品価値の低下を招き，市場出荷を困難にしている．

近年，地域振興や地産地消の気運の高まりに伴い，地域独自の農産物を育成する動きが大きくなっており，島根県では，地生のハマダイコンを栽培化する試み（伴ら，2009）がある．「糸巻き大根」にもこのような役割を担うことが期待される．これまでに地元の宮崎県総合農業試験場などでは，プロジェクトを立ち上げて「糸巻き大根」への取り組みも行ってきている（富永，2002）．一方，国の野菜茶業試験場も本格的に「糸巻き大根」について調査を始めている（石田ら，2006）．このように，前述の問題点を解決するために，系統選抜などにより形質の安定した「糸巻き大根」を育成する努力が行われている．

そこで本研究では，宮崎在来野菜の振興を目的として1）近隣の大根とのDNA比較を行い，遺伝的変化の背景を解明する; 2）系統選抜育種による純系統「糸巻き大根」の作出; 3）系統選抜と連携した生育調査および成分分析を行い，一定の成果を得たので報告する．

材料および方法

1．近隣県の在来大根とのDNA比較

2007年に宮崎県総合農業試験場より提供された3種類の米良大根である「糸巻き大根」（宮崎県），米良長大根（宮崎県），米良白大根（宮崎県）とその近縁種とされる女山大根（佐賀県）および横川大根（鹿児島県），対照区として耐病総太り（タキイ種苗（株））をそれぞれ供試材料として用いた．DNeasy™ Plant Mini Kit（QIAGEN, Tokyo）を用いてそれぞれの葉片からDNAを抽出した．DNA解析にはHigh Efficient Genome Scanning（HEGS）法（Kikuchi, et al. 2003）を用いて解析を行った．

2．系統選抜育種

宮崎県総合農業試験場より提供された米良大根の1つである「糸巻き大根」の種子だけを2007年9月に南九州大学附属農場の露地圃場に播種し，系統選抜実験に供試した．栽培方法は，畝幅70 cm，畝間50 cmの畝に株間30 cm，条間30 cmの二条植え，1穴5粒播き，播種は毎年9月10日から20日の間に行い，12月中旬前後に収穫した．収穫時に生育調査と形質調査を行い，その時点で下記のような独自の選抜基準に基づき，分類，系統分けをした後，すぐに露地または温室内に系統ごとに植えなおした．2月中旬ごろに蕾が現れ始める時点で各系統の間に網で仕切りを設置した．2月下旬～3月上旬頃の開花が始まった時点より，系統内の異なる株間での授粉作業を開始した．自殖のための授粉なので，袋かけは行わず，授粉済みの花を判別するためにマジックペンで色をつけた．系統ごとに開花時期が異なるため，授粉作業は4月下旬まで継続して行った．その後は通常の管理をして7～8月の間に種を収穫，保存し9月の播種に備えた．2007年以降年1世代の栽培を続けた．2009年の作付けでは，形質で区別された「RR系」,「MR系」各40株,「GW系」各20株および「S系（特殊系）」各20株，他に横川大根（Y系）各20株，交配実験系6系統各20株と耐病総太り10株の栽培を行った．

選抜方法は2007年に研究室で独自に定めた規格（表1）に基づき，形質を区別し，さらに重量，根長，葉長，葉色を計測し，根形を目視により観察し，規格に適合するものを選び出した．また2009年には，同時に選抜された全系統について規格に適合した適合率を割り出し，系統の純化度の指標とした．

3．成分分析

糖度調査を系統選抜により淘汰するとされた個体の中から，形質などがほぼ同等のものを無作為に5個体選出し行った．調査は本来なら，系統選抜により有望とされた株を使用するべきだが，根部の一部を切り取って行うため，そのまま植え直すと雑菌がなど入りやすくなり，花が咲く前に枯死してしまうケースがあったため，上述のように行うこととした．調査方法は，まず根部を，長さを基準に三等分に切断し上部，中部，下部にわけ，中心から皮までを厚さ1 cmほどに切り出し，市販のおろし金ですりおろして，その搾り汁をデジタル糖度計（ATAGO ポケット糖度計PAL-1）

表1．「糸巻き大根」における系統選抜用の規格一覧

葉色	根色	根形
R（面積の7割以上が赤）	R（赤が発現している）	O（楕円形）
M（赤と緑の比率が6: 4～4: 6）	W（完全に白色）	T（カブ形）
G（面積の7割以上が緑）		L（長形）
		S（球形）
		LO（大型楕円形）

葉色，根色，根形の順で「RR-O」のように表記する．

で計測し，各部位の計測値の平均値を供試個体の糖度とし，5個体の平均を系統の平均値とした．

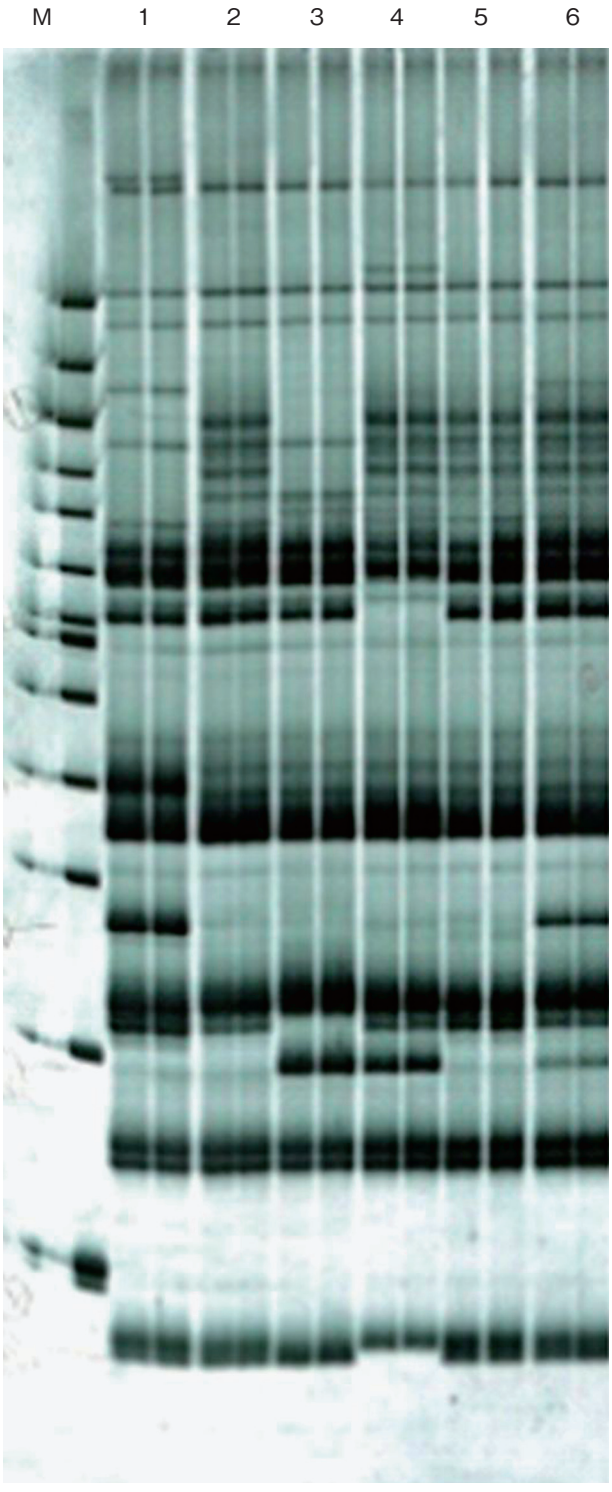


図2．HEGS法による「糸巻き大根」とその近縁種の電気泳動写真
M：λ/*Hind*Ⅲ; 1: 耐病総太り; 2:「糸巻き大根」; 3: 女山大根; 4: 横川大根; 5: 米良長大根; 6: 米良白大根.

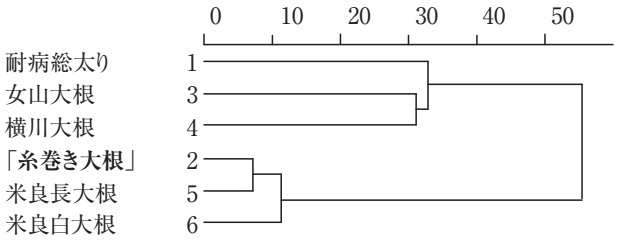


図3．HEGS法解析による「糸巻き大根」と近縁種の系統樹

表2．HEGS法による「糸巻き大根」と近縁種とのDNAパターンの多型性

系統名	多型あり	多型なし	特異的多型
耐病総太り	29	30	2
「糸巻き大根」	35	24	0
女山大根	30	29	3
横川大根	24	35	1
米良長大根	43	16	0
米良白大根	41	18	0

16のプライマーを用いて全部で59の多型DNAパターンを示した．
多型あり: 59の多型DNAパターンの中で現れた多型数．
多型なし: 59の多型DNAパターンの中で現れなかった多型数．
特異的多型: 59の多型DNAパターンの中で単一系統のみに現れた多型数．

結果および考察

1．近隣県の在来大根とのDNA比較

HEGS法による解析の結果，供試した6系統の間で多型の差異が認められた（図2，表2）．さらに，それに基づき系統樹を作成した（図3）結果，「糸巻き大根」，米良長大根および米良白大根は近縁であることが認められた．一方で，これまで近縁と思われていた女山大根と横川大根は，むしろ耐病総太りに近縁で，「糸巻き大根」とは別系統であることが認められた．これは，「糸巻き大根」が近隣の在来野菜とは異なる経緯でこの地区にもたらされたことを示唆しているが，今回の実験では比較対象の品種が少数であるため，近隣の大根とのDNA比較による遺伝的背景を正確に解明するためには，今後さらに多くの品種との比較が必要であると考える．また，山岸ら（2009）が行ったように近隣地区の野生ハマダイコンとのDNA比較により起源を解明する手法を用いることも検討すべきと考える．

2．系統選抜育種

2007年度から2009年度までに行った選抜により得られた系統を図4に示した．2007年度の選抜により4系統（RR，MR，GW，GR）の「糸巻き大根」に大別し，これらを基に行った2008年度の選抜では15系統（RR，MR各5系統，GW3系統，S2系統．S系統はRR，MR，GWの各系統から根色，葉色に特異な表現形を持つものを抽出して2つの系統に大別したもの）となったが，

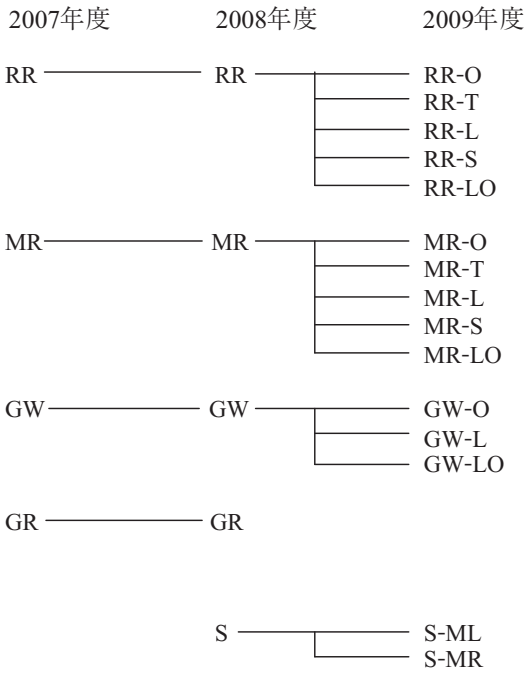
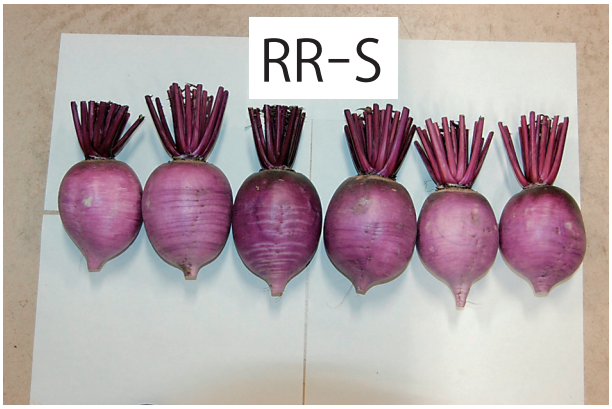


図4．2007～2009年度までの選抜による系統選抜の手順
GR系：2008年度の選抜において系統の特徴的な表現型が失われたため淘汰．S系：2009年度の選抜において系統の特徴的な表現型が失われたため淘汰．



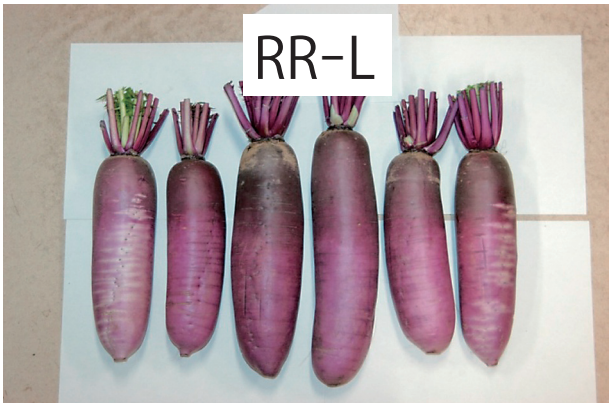


図5．2009年度作「糸巻き大根」に見る抜効果の一例

表3-1．2009年度作「糸巻き大根」における収穫個体の規格適合率

系統名	収穫数	適合数	適合率（%）
RR-O	42	14	33.3
RR-T	39	8	20.5
RR-L	39	18	46.2
RR-S	40	9	22.5
RR-LO	40	7	17.5
MR-O	38	14	36.8
MR-T	39	5	12.8
MR-L	39	10	25.6
MR-S	40	6	15.0
MR-LO	40	5	12.5
GW-O	20	3	15.0
GW-L	20	5	25.0
GW-LO	20	4	20.0

適合率: 規格適合個体数/収穫数×100%．系統名は1文字目が葉色，2文字目が根色，-の後ろ全てが根形を表す．それぞれのアルファベットの意味は表1に準ずる．

表3-2．2009年度作「糸巻き大根」の収穫調査

系統名	根長（cm）	根周（cm）	葉長（cm）	根重（kg）
RR-O	16.6± 4.4	30.1±4.9	44.6±6.8	1.0±0.4
RR-T	14.0± 3.8	30.4±4.6	36.9±5.9	0.8±0.3
RR-L	26.1± 6.1	30.3±4.0	41.2±5.5	1.5±0.6
RR-S	18.1± 2.9	36.2±3.5	41.7±5.1	1.2±0.3
RR-LO	21.9± 4.9	34.9±5.5	44.2±5.6	1.5±0.8
MR-O	21.5± 5.5	33.8±4.7	43.9±6.1	1.4±0.5
MR-T	15.4± 5.0	30.3±8.1	34.1±6.8	0.9±0.7
MR-L	30.9± 7.0	33.1±4.9	44.5±7.0	2.0±0.7
MR-S	23.0± 4.2	37.1±4.7	49.5±4.3	1.5±0.5
MR-LO	26.4± 6.8	37.4±6.2	53.6±6.6	2.1±1.0
GW-O	27.8± 6.5	37.0±6.2	50.3±6.4	2.0±1.0
GW-L	33.8±11.6	32.8±8.4	50.7±5.8	2.4±1.4
GW-LO	26.8± 6.9	35.8±5.1	48.7±5.2	2.0±0.9

±は標準偏差（SD）．系統名は1文字目が葉色，2文字目が根色，-の後ろ全てが根形を表す．それぞれのアルファベットの意味は表1に準ずる．

GR系と命名した系統については，この2008年度の選抜において系統の特徴的な表現型が失われたため淘汰した．また，S系統についても2009年度の選抜において，系統の特徴であった形質がほぼ発現しない状態となったため，今後は栽培を行わず淘汰する方針である．残りの13系統については，今後も淘汰する系統が出る可能性があると考え，引き続き，系統選抜していく予定である．

各系統の規格適合率を表3-1に，選抜効果の一例を図5にそれぞれ示した．適合率はRR-Lが46.2％と高く，ついでMR-O，RR-Oがそれぞれ36.8％，33.3％であった．しかし，低いものではMR-LOおよびMR-Tがそれぞれ12.5％と12.8％であり，今後改善が見込めな

表4．2009年度作「糸巻き大根」の糖度調査

系統名	糖度	系統名	糖度	系統名	糖度
RR-O	6.2±1.0	MR-O	5.2±0.7	GW-O	4.6±0.4
RR-T	6.9±0.5	MR-T	5.6±0.2	GW-L	4.8±0.3
RR-L	5.1±0.3	MR-L	5.3±0.3	GW-LO	4.5±0.3
RR-S	5.8±0.3	MR-S	5.7±0.3	耐病総太り	4.5±0.4
RR-LO	6.2±0.3	MR-LO	4.6±0.3		

±は標準誤差（SE），系統名は1文字目が葉色，2文字目が根色，-の後ろ全てが根形を表す．それぞれのアルファベットの意味は表1に準ずる．

ければ淘汰も検討する必要があると考える．

各系統の収穫時の調査結果を表3-2に示した．根長ではRR，MR，GW共にL系が約26～34cmと有意に高い値を示し，RR，MRにおいてはT系が約14～15cmと有意に低い値を示した．根周ではS，LO系が約35～37cmと有意に高い値を示した．RRではS，LO系以外では差異は認められなかったが，MRではT系が約30cmと有意に低い値を示した．根重ではL，LO系が約1.5～2.0kgと有意に高い値を示し，T系が約0.8～0.9kgと有意に低い値を示した．この結果より，系統ごとにある程度の特色が現れてきていると考えられる．今後の選抜においては，これらを参考に外見的特徴に加え，生態的特長を組み合わせ，品種登録を視野に入れた選抜を継続するのが望ましいと思われる．

3．成分分析

糖度調査の結果を表4に示した．糖度はRR-Tの6.9が最も高く，RR，MR共に4.6～6.9と比較対象とした耐病総太りの4.5を上回る結果となったが，GW系については4.5～4.8と耐病総太りとあまり差がなかった．しかし，今回の実験においては糖の詳細な分析は行っていないため，この差を生んだ要因が何であるかは定かではないため，この部分については今後詳しい実験を行う必要があると考えられる．

上記より，HEGS法による解析の結果，これまで近縁とされてきた近隣県の在来大根とは別系統であると判明した．

系統選抜において，2007年の選抜の結果，4系統であったものが2009年には13系統まで増加した．また，規格適合率においても最高で46.2％になり，系統間差はあるものの，純化度は上がってきている．

選抜系統の成分分析については，糖度を計測した結果，最高平均値で6.9と耐病総太りの4.5と比較して有意に高い値を示した．

選抜系統は最初に掲げた育種目標であった，O系: 根部が楕円形で重量1.0kg前後，T系: 根部がカブ形で重量1kg未満，L系: 根部が長形で重量1.5kg前後，S系: 根部が球形で重量1.0kg前後，LO系: 根部が長楕円形で重量2.0kg前後，にそれぞれ育成している．葉色，根色については，RR系: 葉は面積の7割以上が赤，根も赤，MR系: 葉は赤と緑が半々，根は赤，GW系: 葉は面積の7割以上が緑，根は白，の3系統が順調に育成している．これらの形質については，当初の目標通りに育成しているが，GR系: 葉は面積の7割以上が緑，根は赤，はその形質が失われたため，淘汰された．これらの中でもRR，MRおよびGWのO系，T系，L系の各系統は糖度や重量などの諸形質からO系: 一般家庭向け．生食および調理用，T系: 1～2人家族向け．生食および調理用，L系: 生食，調理および加工用，として品種確立することを目標に系統選抜を継続していきたいと考える．

今後はこれらの結果を踏まえて，選抜規格の標準化を図り，調査方法にも改善を加え，成分分析についても，糖類の詳細な分析のほか，ビタミン，その他の成分の調査なども行い，より詳細な品種特性の割り出しを行う必要があると考えており，今後の実験研究に生かしながら，品種登録を目指したい．

要　約

「糸巻き大根」は宮崎県在来野菜として主に宮崎県西米良村一帯で栽培・消費され，また自然交配によって繁殖されている．「糸巻き大根」には，甘味が強い，耐寒性が強いなどの優れた特徴を持つ．しかしながら，長年の自然交配での繁殖により，品種というよりむしろ変異体集団として栽培されており，商品として市場に出荷できる状況ではないのが現状である．そこで，本研究では宮崎県在来野菜の再生と宮崎の経済の振興を目的として，「糸巻き大根」を取り上げ，日増しに増える核家族や食品加工のニーズに応えるべく系統選抜手法を用いて新しい品種の育成を試みた．まず，HEGS法を用いて「糸巻き大根」と西米良村周辺と近隣県の在来品種との差異を解析した．その結果，「糸巻き大根」は近縁とされてきた在来品種とは別グループであることが判明した．また，供試した全ての在来野菜品種や系統の系統図もHEGSパターンに基づいて作成した．約4年間の系統選抜実験を通して，最初に供試した「糸巻き大根」変異体集団は3グループ13系統に大別され，系統規格への適合率は最大で46.2％となった．3グループそれぞれのO系，T系，L系については諸形質，市場性が有望な系統として品種登録に向けて系統選抜実験を継続中である．系統選抜された系統について，糖度測定を行った結果，平均値はRR，MR系が4.6～6.9（最大値7.2）となり，対照区とした耐病総太りの4.5より高いことが判明した．

謝　辞

南九州大学付属農場の圃場での実験栽培を終始サ

ポートしていただいた旧蔬菜生理生態研究室の川信修治准教授，技能職員梅田知季氏，ならびに研究室の皆様に厚く御礼申し上げます.

引用文献

1）伴琢也，小林伸雄，本谷弘志，門脇正行，松本伸吾（2009）ハマダイコンの栽培と利用について 園芸研 **8**: 413-417.

2）山岸博，山下陽子（2009）細胞質雄性不稔－稔性回復系の遺伝子を用いた京都府在来大根‘佐波賀’の起源の解明 園芸研 **8**: 1-6.

3）富永寛（2002）糸巻きダイコン「都道府県別地方野菜大全」第1刷 芹澤正和監修 pp.308-309 タキイ種苗（株）出版部.

4）Kikuchi, S., Taketa, S., Ichii, M. and Kawasaki, S.（2003）Efficient fine mapping of the naked cargopsis gene（nua）by HEGS（High Efficient Genome Scanning）/AFLP in barley. *Theor. Appl. Genet.* **108**: 73-78.

5）石田正彦，吉秋斎，畠山勝徳，永田茂穂，長友文彦（2006）南九州におけるアブラナ科野菜在来種の調査と収集．植探報 **22**: 37-45.