

集団選抜と RAPD-PCR 法を用いた宮崎在来野菜 ‘糸巻き大根’の新品種育成

中畑裕太郎¹, 田中祐樹¹, 熊本耕平², 銘苅大樹², 下中園周亮², 富永 寛³, 陳 蘭庄^{1,2*}

¹南九州大学 大学院園芸学 食品科学研究科; ²南九州大学環境園芸学部生物工学研究室;

³元宮崎県総合農業試験場

2015 年 10 月 1 日受付; 2016 年 2 月 1 日受理

New cultivar breeding of ‘Itomaki-Daikon’ of Miyazaki origin vegetable using mass selection and RADP-PCR methods

Yutaro Nakahata¹, Yuki Tanaka¹, Kohei Kumamoto², Taiki Mekaru²,
Shuhei Shimonakazono², Hiroshi Tominaga³, Lanzhuang Chen^{1,2*}

¹Graduated School of Horticultural And Food Sciences, Minami Kyushu University; ²Laboratory of Biotechnology,
Faculty of Environmental And Horticultural Sciences, Minami Kyushu University, 3764-1,
Tatenochi, Miyakonojo-shi, Miyazaki, 885-0035, Japan; ³Miyazaki Prefectural
Agriculture Experiment Station, Sadowara, Miyazaki, 880-0212, Japan

Received October 1, 2015; Accepted February 1, 2016

For the purpose of promoting Miyazaki economy and reviving the ‘Itomaki-Daikon’, up to now, a genealogy of “Itomaki-Daikon” and the other varieties collected from the neighboring prefectures was made in our laboratory using high efficient genome scanning method, and it was classified as 3 groups and 13 lines according to the mass selection method.

In this study, 1) using mass selection method, the pure degrees of the 13 lines were promoted. In general, the accommodate rates of RR (red leaf and red root in color) group were higher than that of MR (the mix of red and green leaves and red root in color) one. And more, in inner group level in 2014, the rates of 5 lines of RR were higher than that of the year before, however, all of the 5 lines of MR were decreased. For the reason analysis, it is considered as the changeable character of leaf color from M to R. Based on the recent two years’ results evaluated using roots only, it is clear that the accommodate rates of the lines in the two groups were increased gradually year by year, respectively. 2) In 2012, to comparing the accommodate rates of the selected lines with the mother line of starting seeds of 2007, we found that the new 13 lines showed the rates within 32.4 ~ 100% higher than 1.7 ~ 20.9% in the mother line. 3) On the other hand, the sugar contents in 13 lines, except the GW-LO, were higher than that of ‘Taibiyosobutori’, a variety of Takii, as a control. 4) For the analysis of genome DNA of the new 13 lines using RAPD-PCR method, there showed different band patterns among the lines, indicating that the new lines should be independent ones. And then, there were either same band patterns or somewhat different ones among the individual plants in inner lines. From the results that there showed the similar trend between the accommodate rates and the same DNA band rates, it is clear that genome DNA analysis can examine the efficiency of mass selection of ‘Itomaki-Daikon’, indirectly.

Key words: ‘Itomaki-Daikon’ (*Raphanus sativus* L.), mass selection method, RAPD-PCR, sugar content.

緒 言

‘糸巻き大根’ (*Raphanus sativus* L.) の来歴は定かではないが、古くから宮崎県西米良村とその近隣地域で栽培されてきた在来野菜であり、そのため米良大根とも呼ばれる。根の表皮に糸を巻きつけたような横条

*連絡著者: E-mail, lzchen@nankyudai.ac.jp

線が入ることから‘糸巻き大根’といわれている。その他に耐寒性が強く、味はやや辛味があるものの糖度が普通の大根よりも高い傾向がみられ、肉質が緻密で煮崩れしにくく、食感もカブのように軟らかいなどの特徴を持つ。古くから焼き畑農業が盛んであった西米良村では主要作物として栽培され（富永，2002），8月中旬頃に播種し，10月下旬から11月にかけて収穫を行う。‘糸巻き大根’は自花不和合性を持ち同株内の花同士でも不和合性を示すが，同じ系統内，もしくは同じアブラナ科内では和合性を示す。これにより長年，自然交配を繰り返し，根形は紡錘形，球形，長形など，様々に変化し，葉および根の色，最大の特徴でもある糸巻き現象も発現の有無などが著しく不安定になり，商品として均一なものを栽培することが困難となっている。その原因を究明するため，著者らは，近縁と思われる西米良村周辺の鹿児島県や佐賀県などの大根在来品種を用いて，HEGS法（high efficient genome scanning）（Kikuchi et al. 2003）による解析を行った。その結果，‘糸巻き大根’は近縁とされてきた‘横川大根’（鹿児島県）および‘女山大根’（佐賀県）とは別グループであることが判明した（田中ら，2011）。

近年，食品の安全・安心の観点から地産地消の気運が高まり産業資源のひとつとして地域独自の農産物を育成する動きがある。島根県では，地生のハマダイコンを栽培品種化し，新たな地域の特産品とする試みがある（伴ら，2009）。‘糸巻き大根’にもこのような役割を担うことが期待されており，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いる（富永，2002）。さらに野菜茶業研究所も本格的に‘糸巻き大根’について調査を始めている（石田ら，2006）。著者らは2007年より安定した形質の‘糸巻き大根’の新系統を作出す

ることを目的に集団選抜法による新系統の育種を開始した。2007～2008年度は，著者ら独自の選抜基準により，4つのグループに分類した（熊本，2008）。それ以来，集団選抜法により本来の形質の復活と新系統の作出を行い，国の品種登録基準に準じた選抜で13の新系統を得ることに成功した（田中，2012）。本研究では，引き続き各系統の純度を高めるため，選抜された13の新系統を用いて，集団選抜を行うことによって形態学的に純度の高い系統の育成を試みた。さらに，これまで育成してきた13の新系統についてゲノムDNAレベルでの純度を確かめるため，各系統からDNAを抽出して，RAPD-PCR法（Randomly Amplified Polymorphic DNA-PCR）（陳ら，2012）を用いて検定を行った。

材料及び方法

1. 集団選抜法を用いた系統選抜育種

1) 供試材料：

宮崎在来野菜である‘糸巻き大根’（米良大根）（*Raphanus sativus* L.）から集団選抜法によって育成した13系統（田中ら，2011）を用いた。対照として，2007年に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’の種子を用いて，育成した13の新系統との比較に供試した（下中園，2013）。さらに，‘糸巻き大根’と比較するため，‘耐病総太り’（タキイ種苗）を用いた。実験は南九州大学環境園芸学部附属フィールドセンターで行われた。

2) 栽培および形質調査方法：

田中ら（2011）の方法に準じて栽培を行った。9月



図 1. 集団選抜法を用いた‘糸巻き大根’の栽培方法

A：殺虫剤を混ぜた播種と発芽，B：幼苗期，C：間引きを終えた大根，D：収穫直前の大根，E：収穫して形質調査に供試した大根。

10日前後に畝幅70cm，畝間50cmの畝に株間30cm，条間30cmの二条植えて播種し，12月中旬に収穫した。収穫物の形質調査は田中ら（2011）の方法に準じて行った（図1）。主に2つの選抜用規格，すなわち本研究室独自の選抜基準（表1）と農林水産省品種登録基準（表2）に従って，グループ分けと系統分けをした後，選抜基準に適合する株を選抜し，コールドルーム（5℃）にて保管した。

表1. ‘糸巻き大根’ における集団選抜用の形質評価基準一覧

葉色	根色	根型
R(面積の7割以上が赤)	R(赤が発現している)	T(カブ型)
M(赤と緑の比率が4:6～6:4)	W(完全に白)	S(球型)
G(面積の7割以上が緑)		L(長型)
		O(楕円型)
		LO(長楕円型)

葉色，根色，根型の順で「RR-T」と表記する。

表2. 農林水産省品種登録規格に基づく ‘糸巻き大根’ の13新系統の理想的な選抜基準

系統	理想葉色			理想根色			理想根型	理想根重	理想糸巻き
	大別	基本色	補充色	大別	基本色	補充色			
RR-O	R	②, ③	ii, iii, iv	R	②	vi, vii, viii	O	1kg 前後	1n
RR-T	R	②, ③	ii, iii, iv	R	②	vi, vii, viii	T	0.5kg 前後	1n
RR-L	R	②, ③	ii, iii, iv	R	②	vi, vii, viii	L	1.5kg 前後	1n
RR-S	R	②, ③	ii, iii, iv	R	②	vi, vii, viii	S	1kg 前後	1n
RR-LO	R	②, ③	ii, iii, iv	R	②	vi, vii, viii	LO	1.5kg 前後	1n
MR-O	M	②, ③	ii, iii	R	②	vi, vii, viii	O	1kg 前後	1n
MR-T	M	②, ③	ii, iii	R	②	vi, vii, viii	T	0.5kg 前後	1n
MR-L	M	②, ③	ii, iii	R	②	vi, vii, viii	L	1.5kg 前後	1n
MR-S	M	②, ③	ii, iii	R	②	vi, vii, viii	S	1kg 前後	1n
MR-LO	M	②, ③	ii, iii	R	②	vi, vii, viii	LO	1.5kg 前後	1n
GW-O	G	②, ③	i	W	②	i, ii	O	1kg 前後	2
GW-L	G	②, ③	i	W	②	i, ii	L	1.5kg 前後	2
GW-LO	G	②, ③	i	W	②	i, ii	LO	1.5kg 前後	2

各アルファベットは表1に対応する。

葉色，根色で項目が複数あるものは，いずれかに適合するものを選抜した。

葉色について，基本色は①黄緑；②濃緑；③濃緑，補充色はi無；ii桃；iii赤；iv紫；v青紫。

根色について，基本色は①白；②乳白；③黄白，補充色はi無；ii淡緑；iii緑；iv黄；v灰；vi桃；vii赤；viii紫。

糸巻きについて，1：有；2：無，巻き方について，n：正常（表皮に赤糸）；r：反転（表皮に白糸）；c：コルク化。理想糸巻き方：1n。



図2. 集団選抜法を用いた ‘糸巻き大根’ の採種過程

A: コールドルームに置かれる種取用の大根，B: 春先に温室に植え直された種取用の大根，C: 抽苔し始めた大根，D: 各系統間を網で仕切られる。

3) 集団選抜法：

2月上旬中に、コールドルームで保管した種取用大根を露地に各系統（6～10本）移植し、各系統の間に網で仕切りを設置した（図2）、2月下旬～3月上旬の開花が始まった時点で、系統内の異なる個体間で受粉作業を開始した。系統ごとに開花時期が異なるため、受粉作業は4月下旬まで続いた。その後は通常の管理をし、7～8月の間に莢を収穫して十分に乾燥したあと、種子を脱穀し、デシケーター内で保存した。

2. 成分分析

コールドルームで45日間貯蔵した「糸巻き大根」の各系統と市販の青首ダイコン「耐病総太り」の中から、無作為に5個体選出し、糖度の計測に供試した。大根の根部を三等分して上部、中部、下部を市販のおろし金ですりおろした後、デジタル糖度計（POCKET REFRACTOMETER PAL-1, ATAGO）を用いてすりおろした大根の搾り汁の糖度を測定した。各部位の計測値の平均値を供試個体の全体の糖度とした。なお、2013年度に用いた「糸巻き大根」は供試可能なサンプル数の問題で10系統であった。

3. 選抜系統のゲノムDNA解析

1) 供試材料およびDNA抽出：

2014年に栽培して得られた「糸巻き大根」13系統から選抜基準に適合した個体を用いた。RRグループの5系統各6個体、MRグループの5系統各5～6個体、GW

グループの3系統各3個体を供試した。DNA抽出は1個体あたり100mgの葉を用い、液体窒素で凍結、粉碎した後DNeasy™ Plant Mini Kit（QIAGEN, Tokyo）で抽出を行った。

2) PCR によるDNA増幅：

PCRはEx Taq PCR Kit（タカラバイオ株式会社）を用い、反応液は抽出したDNA 1μlに10×Ex Tap Buffer（20mM）2.5μl, dNTP Mix（2.5mM each）1μl, プライマー 1μl, 超純水を加え25μlの反応液を作成した。OPERON社のプライマー 4種類（OPA-1, OPA-2, OPA-3, OPA-4）（表3）を用い、9800Fast Thermal Cycler（Applied Biosystem）でDNAの増幅を行った。ホットスタートで反応をはじめて、94℃で45秒間、36℃で1分間、72℃で1分間の反応を45サイクルで行った（陳ら、2012）。

表3. RAPD-PCR に使用したプライマー一覧

プライマー	塩基配列
OPA-1	5'-CAGGCCCTTC-3'
OPA-2	5'-TGCCGAGCTG-3'
OPB-1	5'-GTTTCGCTCC-3'
OPB-2	5'-TGATCCCTGG-3'

（Operon 10-mer kit, オペロンテクノロジー社）

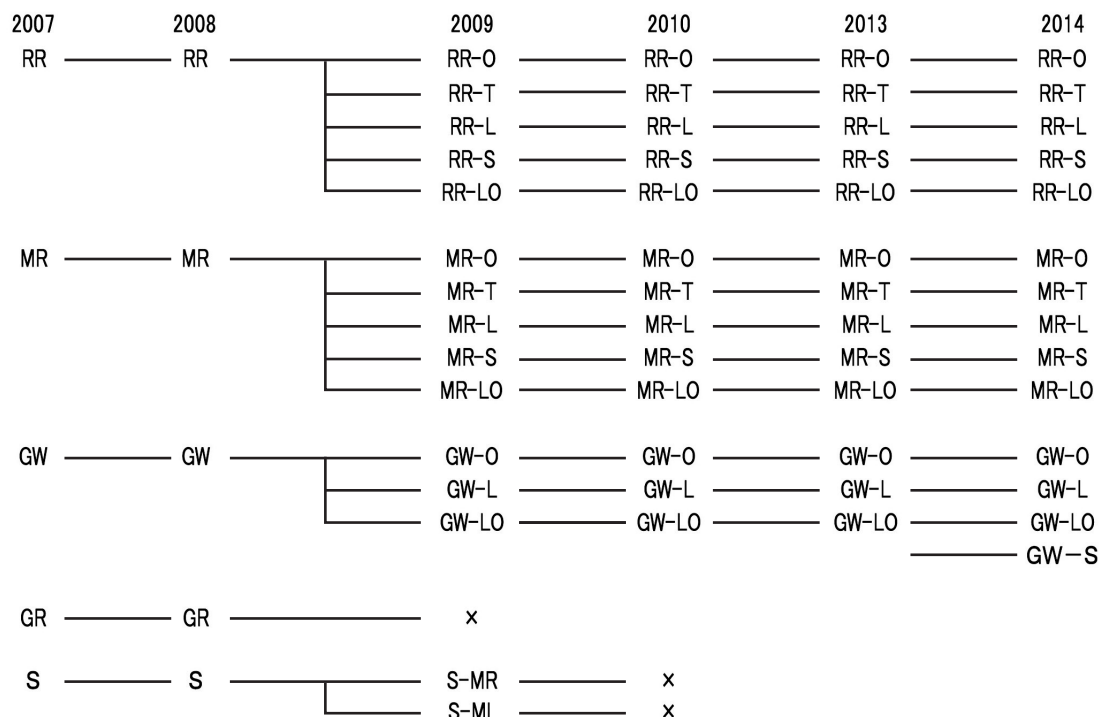


図3. 2007～2014年度までの「糸巻き大根」新系統の育成経過

GRグループは2008年度で淘汰；Sグループは2009年度で淘汰；GWグループでは、2014年度にGW-Sが復活。

3) PCR産物の電気泳動：

PCR産物5 μ lと試料緩衝液1 μ lを混合し、1.5%アガロースゲルの試料溝に注ぎ、100Vで20分間電気泳動した。また、分子量マーカー溶液 (λ /Hind III, NIPPON GENE 濃度は0.05 μ g/ μ l) 1 μ lと試料緩衝液5 μ lとを混合してPCR産物と共に電気泳動した。電気泳動後、ゲルを臭化エチジウムのTAE溶液で15分間染色し、紫外線照射して、増幅させたDNA断片のパターンを解析した。パターンの比較は系統間と系統内でそれぞれ行った。

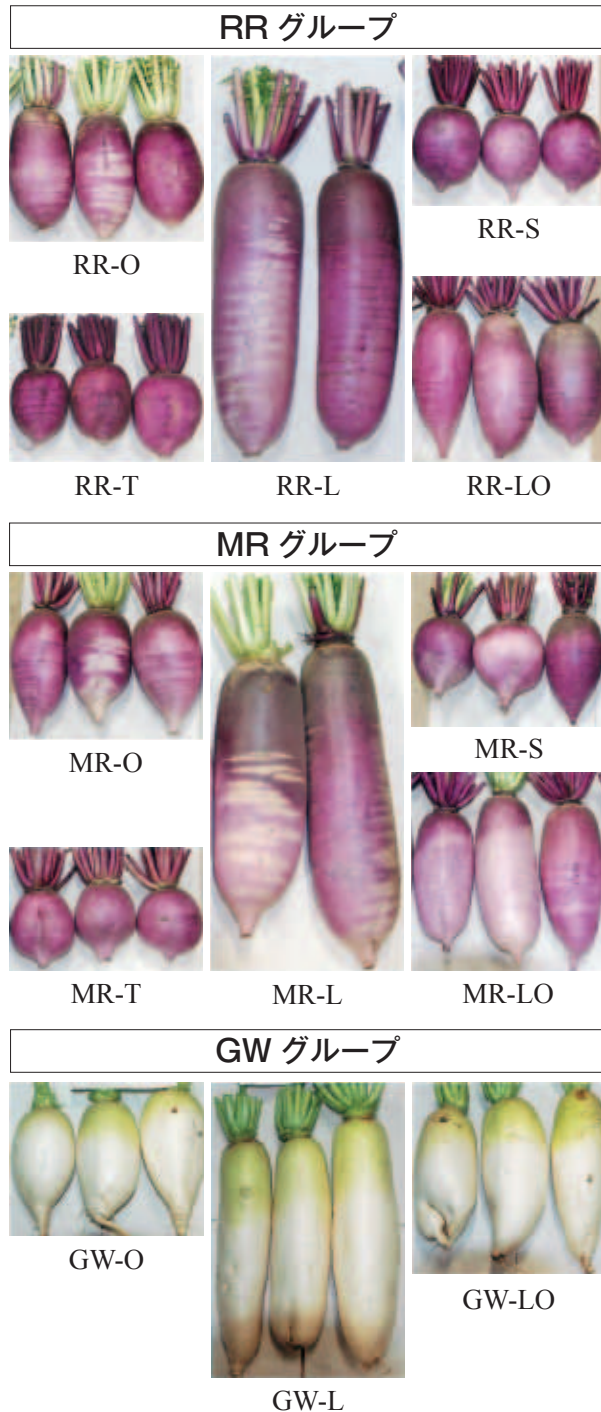


図 4. 集団選抜法を用いて選抜された 3 グループ 13 系統の ‘糸巻き大根’

結果及び考察

1) 集団選抜法を用いた系統選抜育種

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、2つの選抜基準を基に行った2008年度の選抜では、15系統が存在していたが (熊本, 2008), 2009年度で2系統が淘汰され、2010年度から2014年現在までの13系統で選抜を続けた (図3, 図4) (田中, 2012; 下中園, 2013)。

13の新系統選抜について、年度ごとに収穫時に形質調査を行ってきたが、最近5か年の各系統の基準適合率データを表4に示した。全体として、RRグループはMRグループより適合率が高かった。また、2014年度のグループ内の適合率はRR-O, RR-T, RR-L, RR-S, RR-LOの5系統とも前年度に比べて増加したが、MR系統に関しては、5系統すべてが減少した。その原因は葉色がMからRへ変わったことにある。葉色のMはもともと緑色と赤色が混在する意味合いであったが、幼苗期から成熟期までの間に、その割合が常に変化するだけではなく、時折、緑色または赤色に変わり安定しない形質であった。適合率は主に葉色と根形により評価されるので、MRグループの葉色が不安定なことが、適合率全体に影響し、前年度に比べて低下した原因となったと考えられる。また、それはMRグループの全体の適合率がRRより低くなった原因でもあると考えられる。

その中で2013年度には、適合率は前年度より大きく下がった。それを解明するため、葉色と根形を合せて評価した適合率と根形のみで評価した適合率を比較した (図5)。全ての系統において、根形のみで評価した適合率は、葉色と根形を合せて評価した適合率と比較して同等以上であった。グループ別に見ると、RRとGWでは、RR-LOを除いて、根形のみでの評価は葉色と根形を合せた評価より同等または微増であった。一方、MRグループでは、全ての系統が大きく増加した。このことは、遺伝的に不安定な葉色を除いて、遺伝的に安定な根形だけを評価した場合、集団選抜法によって確実に形質が安定し、選抜効果が向上していると考えられた。

集団選抜効果を総合的に検証するため、定期的に育種開始した時点の種子を播いて栽培し、13の新系統との比較を行った。2012年度に行った比較実験結果を表5に示した。115個体の集団から17系統が出現した。集団選抜法によって育成した13の新系統のうち、MR-Sが母集団の中から現れなかった。この結果からもMRグループの変化、特に葉色が安定しなく激しく変化することが分かった。また、13の新系統の選抜効果 (純度向上) について、‘糸巻き大根’ 母集団の割合と2014年度の13の新系統の調査結果を比べると、MR-Sを除いた12系統では、母集団の1.7%~20.9%に対して、32.4%~100%まで上がっていた (表4)。一方、MR-Sについては、母集団では出現しなかったのに対して、2014年度では 16.3%であった。さらに2010年~2014年の結果を見ると、MR-Sは16.3%から81.3%まで変動した。この結果もMRグループの変動の激しさが葉色に

表4. 集団選抜法による ‘糸巻き大根’ の13新系統の適合率の経年経過

系統	2010			2011			2012			2013			2014		
	収穫数	適合数	適合率	収穫数	適合数	適合率	収穫数	適合数	適合率	収穫数	適合数	適合率	収穫数	適合数	適合率
RR-O	19	6	31.6	33	15	45.5	52	26	50.0	50	44	88.0	43	42	97.7
RR-T	16	6	37.5	36	18	50.0	54	38	70.4	16	12	75.0	33	26	78.8
RR-L	17	7	41.2	39	20	51.3	59	59	100.0	36	21	58.3	40	29	72.5
RR-S	20	6	30.0	36	12	33.3	55	44	80.0	28	15	53.6	51	40	78.4
RR-LO	18	6	33.3	34	10	29.4	45	35	77.8	58	17	29.3	43	38	88.3
MR-O	17	6	35.3	39	17	43.6	45	20	44.4	5	3	60.0	38	17	44.7
MR-T	18	5	27.8	35	10	28.8	60	54	90.0	34	20	58.8	52	28	53.8
MR-L	20	6	30.0	36	16	44.4	46	28	60.9	45	29	64.4	36	17	47.2
MR-S	17	6	32.3	29	10	34.5	46	32	69.6	48	39	81.3	55	9	16.3
MR-LO	19	5	26.3	38	10	26.3	54	40	74.1	31	20	64.5	37	12	32.4
GW-O	18	4	22.2	18	6	33.3	51	22	43.1	51	38	74.5	53	53	100.0
GW-L	17	6	35.3	15	8	53.3	40	40	100.0	42	38	90.5	43	42	97.7
GW-LO	18	5	27.8	17	5	29.4	58	51	91.1	52	40	76.9	49	46	93.9

適合率 (%) : (適合数 / 収穫数) × 100

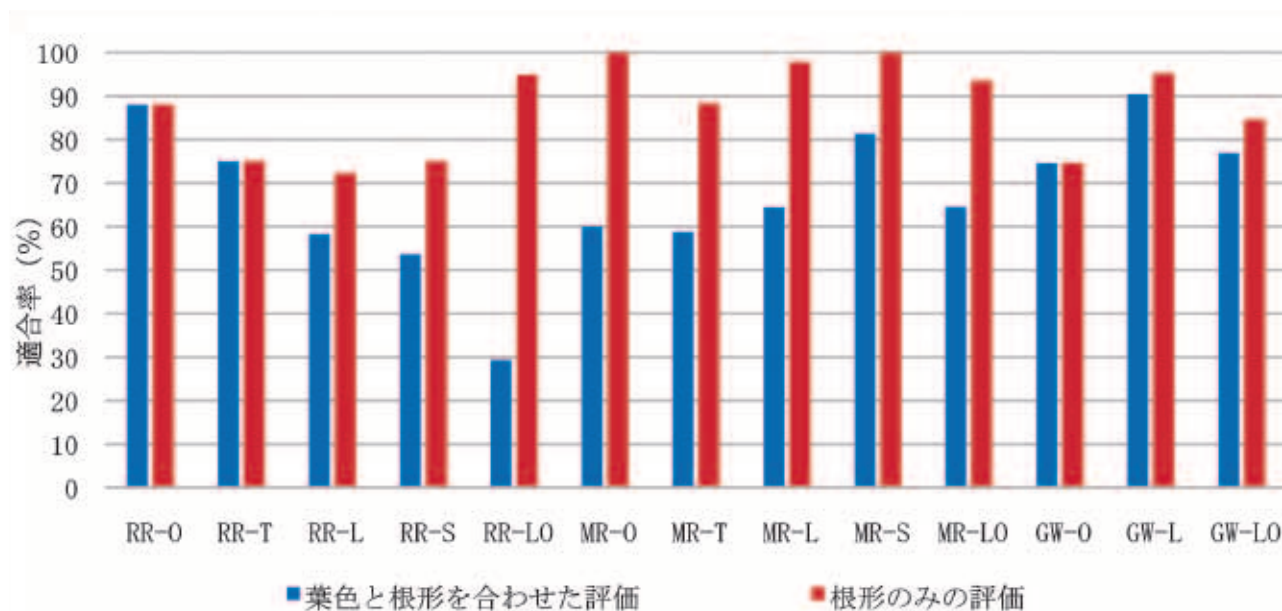


図5. 2013年度における ‘糸巻き大根’ 13の新系統の形質別評価結果

表5. ‘糸巻き大根’ 母集団における13の新系統の占める割合

系統	割合 (%)	系統	割合 (%)
RR-O	18.3	GW-O	1.7
RR-T	20.9	GW-L	6.1
RR-L	7.0	GW-LO	1.7
RR-S	3.5	GW-T	6.1
RR-LO	11.3	GW-S	0.9
MR-O	1.7	GR-T	4.3
MR-T	7.8	GR-O	0.9
MR-L	2.6		
MR-S	0.0	MW-L	0.9
MR-LO	4.3		

省略記号は表1に参照。2007年度の ‘糸巻き大根’ の種子を使用、2012年に調査したデータ。N=115.

表6. ‘糸巻き大根’ 新系統と青首ダイコンの糖度調査 (2013年度)

系統	上部	中部	下部	平均
RR-O	4.6	4.1	4.5	4.4
RR-S	4.3	4.8	4.0	4.4
RR-LO	5.8	4.3	2.8	4.3
MR-O	5.0	4.5	4.0	4.5
MR-L	5.2	5.3	4.6	5.0
MR-S	4.8	3.1	3.1	3.7
MR-LO	4.7	3.8	3.9	4.1
GW-O	5.6	4.0	4.2	4.6
GW-L	4.6	4.6	4.3	4.5
GW-LO	3.7	3.4	2.5	3.2
青首ダイコン	3.7	3.5	2.9	3.4

*平均は上部、中部および下部の平均値を示す。

よるものと考えられる。

2) 成分分析

13の新系統のうち、GW-LO以外の系統はいずれも青首ダイコン(3.4)よりも糖度が高かった(表6)。特にMR-Lは高い糖度であった(5.0)。GW-LOは青首ダイコンとはほぼ同じ数値でまた部位での比較にも差がみられなかった。GW-LOは形態的にも成分的にも青首ダイコンと類似していることが推測される。各系統の糖度を部位別にみると、上中部は高く、下部は低い傾向にあったが、その差は系統間で大きく異なった。今後品種登録に備え、重要な形質である糖度の調査は、系統毎に細かに調査しなければならないと考えられた。一般的に糖度は系統内で大きく変化するものではないため、毎年同じような調査をする必要がないが、時期や部位などを考慮して調査することで、品種登録に際して、より消費者や流通業者に詳細な情報を提供することができる。

3) DNA解析

図6は集団選抜で得られた新系統間の電気泳動の結果の一例を示した。全ての系統で、本研究で使用した4種類のプライマーにおいて、バンドパターンが検出

され、そのパターンはそれぞれ異なっていた。このことから集団選抜で得られた新系統はそれぞれ独自の形質を持っており、独立した系統として成立していることが示唆された。

集団選抜で得られた系統内では個体間でバンドパターンが完全に一致するものもあれば、一致していないものもあった(図7)。また、系統内で最も多く現れたバンドパターンを基に、バンドパターンの一致率を算出した結果、最高値はRR-T, RR-S, MR-L, GW-O, GW-Lで100%となり、最低値はMR-Sの40%であった(表7)。DNA解析は2014年度だけに行ったので、2014年度の形質調査の適合率(表4)との相関を検討してみた。葉色と根形を合わせた適合率に対してバンドパターンの一致率に関しては、それぞれRRグループでは、72.5~97.7に66.7~100%、MRグループでは、16.3~53.8に40.0~100%、GWグループでは、93.9~100%に66.7~100%であった。これらの結果から、葉色が安定と思われたRRとGWグループは形質調査の結果と比較しても傾向的にほぼ一致していたことが認められた。一方、葉色が不安定なMRグループにはそのギャップがあったが、同じ年度ではない2013年度に実施した根形のための形質調査結果である88.2~98.3%(図5)と比較してみると、ほぼ一致する

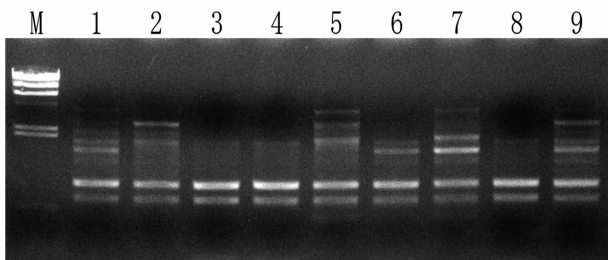


図6. ‘糸巻き大根’ RR, MR, GW 各グループ間での DAN 多型 (1 例)

M: λ /Hind III; 1: RR-O; 2: RR-L; 3: RR-LO; 4: MR-O; 5: MR-L; 6: MR-LO; 7: GW-O; 8: GW-L; 9: GW-LO; プライマー: OPA-1.

表7. ‘糸巻き大根’ の13新系統の系統内における バンドパターンの一致率 (%)

系統	一致率	系統	一致率	系統	一致率
RR-O	66.7	MR-O	66.7	GW-O	100.0
RR-T	100.0	MR-T	66.7	GW-L	100.0
RR-L	83.3	MR-L	100.0	GW-LO	66.7
RR-S	100.0	MR-S	40.0		
RR-LO	66.7	MR-LO	83.3		

一致率: (系統内で最も多く見られたパターン/系統内の全てのバンドパターン) $\times$ 100

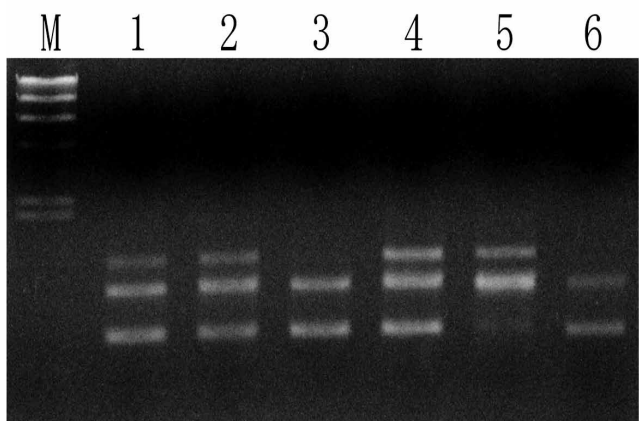
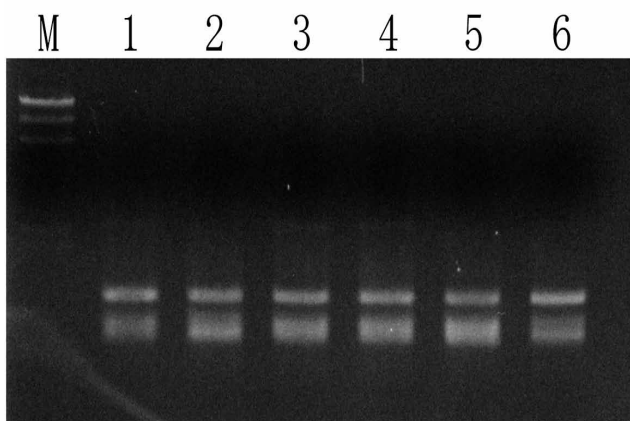


図7. ‘糸巻き大根’ 系統内における DNA 多型

左図は RR-S で、M: λ /Hind III; 1~6: RR-S-1~6, 右図は MR-O で、M: λ /Hind III; 1~6, プライマー: OPA-2

ことが分かった。このことから、系統内の差異が縮小して行っていることが示唆された。以上の結果から、集団選抜による「糸巻き大根」の選抜は順調に進んでいることがゲノムDNAレベルでも明らかになり、集団選抜の効率はDNAレベルからおおよその証明ができた。より詳細で確実なデータを得るには、さらに多くのプライマーを用いて、より詳しい分析を行う必要がある。

2014年度には、今までになかった系統が新たな根型としてGW-Sの出現がみられた(図3)。今後、14の新系統について、さらに集団選抜を継続しつつ、選抜の効果を形質調査だけではなく、RAPD-PCRやSSR-PCR(田中ら, 2008)法を用いたDNA解析を併用して、近い将来に、純度の上がった系統から、順次に品種として登録する予定である。

要 約

宮崎県在来野菜「糸巻き大根」は、宮崎県西米良村一帯で伝統的な山の斜面での焼き畑栽培で代々栽培・消費されている。しかし、採種体制がないため、形状が揃いで商品として均一なものを栽培することが困難となっている。そこで、著者らは2007年より集団選抜法による「糸巻き大根」の育種を開始し、これまで、HEGS法による「糸巻き大根」の分類を明らかにしたうえで、集団選抜法によってそれらを3グループ13の新系統を選抜している。本研究では、著者らが独自の選抜基準と農林水産省品種登録基準に従って、集団選抜法による13の新系統の純度向上を図った。全体として、RRグループはMRグループより適合率(純度)が高かった。また、2014年度のグループ内の適合率はRR-O, RR-T, RR-L, RR-S, RR-LOの5系統とも前年度に比べて増加したが、MR系統に関しては、5系統すべてが減少した。その原因は遺伝的に変化の激しい形質である葉色のMからRへ変わったことにある。最近2か年の根形だけを評価した結果からMRとRRのそれぞれのグループでは、年度毎に適合率がそれぞれ上がっていることが明らかとなっている。また、2012年に最初の母集団(2007年度採種)の種子を播いて収穫した大根の形質を調査した結果、13の新系統の占める割合(適合率)は、MR-Sを除いて、残りの12系統では、母集団の1.7%~20.9%に対して、32.4%~100%までに上がった。糖度を調査した結果、13の新系統のうち、GW-LO以外の系統は対照区の青首ダイコンより糖度が高かった。また、13の新系統のRAPD-PCRによるDNA解析を行った結果、全ての系統でバンドパターンが異なっており、13の新系統はそれぞれ独立した系統であることが示唆された。系統内では、個体間にバンドパターンが完全に一致する系統と一致しない系統があった。また、このバンドパターンの一致率は、形質調査(適合率)の結果と比較しても傾向的に一致しており、集団選抜の効果はDNAレベルでも証明することができた。

謝 辞

南九州大学環境園芸学部附属フィールドセンターにおいて実験栽培を終始サポートしていただいた環境園芸学部蔬菜園芸学研究室の川信修治教授、技能職員梅田知季氏、ならびに生物工学研究室内の皆様に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 石田正彦・吉秋斎・畠山勝徳・永田茂穂・永友文彦(2006) 南九州におけるアブラナ科野菜在来種の調査と収集. 植物遺伝資源探索導入調査報告書 22: 37~45.
- 2) 田中佑樹(2012) 集団選抜法及びHEGS-RAPD-PCR法を用いた宮崎在来野菜『糸巻き大根』品種改良に関する育種学的研究 南九州大学大学院修士論文
- 3) 田中佑樹・熊本耕平・石井修平・西村佳子・富永寛・陳蘭庄(庄)(2011) 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へのアプローチ 南九州大学研報 41A: 37-42.
- 4) 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.
- 5) 農林水産省品種登録ホームページ 農林水産植物種類別審査基準 <http://www.hinsyu.maff.go.jp/info/sinsakijun/tokusei/1528.doc>
- 6) 農林水産省 統計情報 報告書 野菜生産出荷統計 だいこん http://www.maff.go.jp/j/tokei/sokuhou/syukaku_syutou_10/
- 7) 熊本耕平(2009) 宮崎在来作物である米良大根の系統選抜に関する育種学的研究 南九州大学園芸学部 卒業論文
- 8) 下中園周亮(2013) 集団選抜を用いた宮崎在来野菜『糸巻き大根』の品種改良に関する研究 南九州大学環境園芸学部 卒業論文
- 9) Kikuchi, S., Taketa, S., Ichii, M. and Kawasaki, S.(2003) Efficient fine mapping of the naked caryopsis gene (nua) by HEGS (High Efficient Genome Scanning)/AFLP in barley. *Theor. Appl. Genet.* 108: 73-78.
- 10) 田中義弘・石田正彦・畠山勝徳・吉秋斎・松本哲(2008) 桜島大根のSSRマーカーによる品種維持のための品種鑑別 九州農業研究 70: 174.
- 11) 陳蘭庄・石井修平・田中佑樹・西村佳子・富永寛(2012) 宮崎在来野菜「佐土原」ナスにおけるRAPD-PCR法による品種鑑別 南九州大学研究報告 42A: 51-55.

- 12) 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
園芸学研究 **8**: 413-417.

