特 集 記 事

アブラナ科野菜における生殖形質の遺伝学的研究とその育種への展開

新倉 聡

(株) トーホク, 宇都宮市, 〒 321-3232

Genetic analysis of reproductive characteristics for the breeding of cruciferous vegetables

Satoshi Niikura

Tohoku Seed Co., Utsunomiya 321-3232, Japan

キーワード

自家不和合性程度, 自家不和合性検定, F_1 採種, F_1 純度, 虫媒受粉

I. はじめに

イネやコムギは世界的に見て、主食となる穀物であることに疑いはない。しかしヒトは主食を摂るだけでは、健康的でかつ文化的な食生活を送ることができない。現在世界中には数百種の野菜が存在し、副食として欠かせないものとなっている。その農業生産的側面としては、国内をとってみても、野菜作付け面積ではダイコン (39,000 ha)、キャベツ (33,500 ha)、ホウレンソウ (23,700 ha) 等を筆頭に (H.17 年度, 農林水産統計より)、多くの作付けが為されている。一方、文化的側面としては、第 1 に栄養的側面が挙げられる。加えて野菜は、ヒトの五感に訴え、食生活を豊かにする側面も持ち合わせている。例えば野菜の持つ味も、辛味・苦味・甘味・えぐ味・酸味・うま味など様々、また微生物の助けを得て、漬物という別のうま味を兼ね備えた食べ物にも変身する。野菜の持つ色は目を、固さ・歯触りは食感や音で口や耳を楽しませる。野菜の有する様々な側面が複雑に絡み合い、世界各地に多くの、かつユニークな食文化を形成している。その中でアブラナ科は 300 属 3000 種から成る重要な作物種であり、*Brassica napus* に属する油糧用ナタネ、世界中で栽培され *B. oleracea* に属するキャベツ、ブロッコリー、主に東アジアを中心に利用が為され多くの在来品種が発達している、*B. rapa* に属するハクサイ、カブ、ツケナ類ならびに *Raphanus sativus* に属するダイコン等約 40 種が特に重要品目として挙げられる (Rubatzky and Yamaguchi 1997)。

雑種強勢を利用した一代雑種育種法は、トウモロコシにおいて 20 世紀初頭アメリカで画期的な成功を収めて以来、多くの他殖性作物種に適用され、近年では自殖性作物のイネにも一代雑種品種が用いられるまでになった。

しかしその実用化にあたっては、一代雑種 (F_1) 種子の効率的な大量採種方法の存在が前提となり、何らかの生殖制御方法や受粉のコントロールが必要となる。生殖制御方法に関し、風媒性作物のイネやビートに加え、虫媒性作物のニンジン、タマネギについては雄性不稔性が用いられている。アブラナ科野菜には自家不和合性が用いられ、虫媒受粉により F_1 採種が為されるが、その利用は世界に先駆けて日本で行われ、すなわち、1949 年に伊藤庄次郎氏によりハクサイ F_1 品種「長岡交配 1 号」が育成された。その後現在まで多くのアブラナ科野菜が自家不和合性を、また数種のアブラナ科野菜は雄性不稔性を利用し、それぞれ採種された F_1 雑種品種となっている。

自家不和合性を利用した F_1 採種では、異なる *S* (Self-incompatibility) 遺伝子型を有し、何らかの方法で増殖された両親に当たる近交系統を、近隣に他アブラナ科植物が開花していない隔離された圃場で畝毎に交互に植え付け、媒介昆虫に訪花・受粉させる。その結実した種子が F_1 種子となる。しかしアブラナ科野菜の自家不和合性を利用した F_1 採種で、 F_1 純度 (採種種子中の F_1 種子の割合) が 100% であるのは希である。それは自家不和合性が完全でなく、その程度に高低差があり、また何らかの原因で相手親系統の花粉が受粉されにくい状況が生じることも誘因となって、自殖あるいは系統内交雑により結実するためである。例えば 1990 年代に国内外各地の圃場で採種された、ある自社ダイコン品種の F_1 純度は 66 ~ 100%, 平均 94% で、低 F_1 純度のロットは不良品として廃棄処分された。一方で、近年の急速な農業集約化に伴い、生産者からはより高純度の F_1 種子の需要が高まる傾向にあるが、それに対して現在十分な供給体制が整っているとは言えない状況にある。

そこで第 II 章では、まず自家不和合性関連形質の研究を振り返る。第 III 章では本研究の中心課題であり、 F_1 純度の高低に直接影響する自家不和合性程度の新たな、かつ厳密な評価法開発について述べる。なおそこで得られ

た結論は、厳しい選抜圧の下で安定した高い自家不和合性程度を示す系統育成が不可欠である、ということであった。最後に第IV章ではアブラナ科 F_1 採種に際し、自家不和合性程度以外に必要な研究について述べる。

II. 自家不和合性関連形質

① S 遺伝子 (ハプロタイプ)

アブラナ科の自家不和合性は孢子体型として作用する S 遺伝子座に存在する一連の複対立遺伝子が関与し、花粉管の伸長・非伸長がその花粉の由来した植物体 (孢子体) の遺伝子型により決まるとされる (Bateman 1955)。 S 遺伝子ホモ型系統間総当たり交雑による対立性検定の結果、これまでアブラナ科の各種において同定された S 対立遺伝子数は *B. oleracea* のキャベツで 31 (Ockendon 1982)、ケールで 23 (全てキャベツで同定されたもの) と同一の S 対立遺伝子; Thompson and Taylor 1966)、 *B. rapa* で 31 (Nou *et al.* 1993)、 *Sinapis arvensis* で 35 (Stevens and Kay 1989)、 *R. raphanistrum* で 25 ~ 34 (Sampson 1967)、 *R. sativus* の野生集団で 22 (Karron *et al.* 1990)、 *R. sativus* の近交系統ならびに在来品種において 37 (新倉・松浦 1999) である。アブラナ科の S 遺伝子座乗遺伝子単離は、 *B. oleracea* の柱頭から免疫化学的手法により S 遺伝子特異的な抗原の発見後、 S 糖タンパク質が見いだされたことが契機となった (Nasrallah and Wallace 1967, Nishio and Hinata 1978)。 *B. oleracea* と *B. rapa* において S 遺伝子座上に位置する SLG (S -locus glycoprotein) 遺伝子が単離され、その後も *Brassica* 属数種において SLG 遺伝子が単離されているが、それらの推定アミノ酸配列は種間・種内を問わず高い相同性を有することが観察されている (Nasrallah *et al.* 1985, 1987, Takayama *et al.* 1987)。また S 遺伝子座上には SLG 遺伝子と密接に連鎖した SRK (S -receptor kinase) 遺伝子が座乗し、同一 S 対立遺伝子の SLG 遺伝子と相同性の高い S -領域を有することが報告されている (Delorme *et al.* 1995, Stein *et al.* 1991, Goring and Rothstein 1992)。 *R. sativus* においても、 *B. oleracea* の相同性配列を利用した S 遺伝子座上の SLG が単離され、その後複数の SLG が単離・同定された (Niikura and Matsuura 1997, Sakamoto *et al.* 1998)。なお分子生物学的研究の詳細に関しては、他の総説 (Watanabe *et al.* 2003, 高崎 2006) を参照してもらうこととし、ここでは育種的に重要な事項のみを解説する。

ある個体の S 遺伝子型を同定するには、総当たり交雑や既知 S 遺伝子ホモ型系統との検定交配あるいは柱頭の S 糖タンパク質の等電点電気泳動 (Nishio and Hinata 1978, Nou *et al.* 1993, 岡崎・日向 1984) が必要であった。しかしいずれの方法もその個体が抽苔・開花して初めて実験可能となる。その後、PCR-RFLP 法による多型性に富んだ SLG 遺伝子の配列に基づいた S 遺伝子型の同定が *B. oleracea*, *B. rapa* ならびに *R. sativus* で報告されている

(Brace *et al.* 1993, Nishio *et al.* 1994, Niikura and Matsuura 1998, Niikura 2002)。この S 遺伝子の PCR-RFLP 法開発により、栄養生長時点での S 遺伝子型同定が可能となり、検定交配等の必要が無くなった。このことで育種家は、希望する S 遺伝子型個体のみ定植あるいは選抜することができ、試験圃場や採種温室の効率的利用が可能となり育種効率が飛躍的に向上した。

②自家不和合性の打破—近交系統の増殖

自家不和合性は数種の化学的あるいは温度処理、例えば、エーテル、水酸化加里溶液といった有機溶媒 (建部 1968)、NaCl 溶液 (Tao and Yang 1986, Monterio and Gableman 1988)、高温 (Matsubara 1980, Okazaki and Hinata 1987) 等により打破できることが知られている。加えて *B. rapa* で 3 ~ 5% CO_2 ガス処理により打破されること、その打破程度 (CO_2 反応性) に系統間差が存在することも明らかにされている (Nakanishi *et al.* 1969, Nakanishi and Hinata 1973, 1975)。 *R. sativus* においても同様に CO_2 反応性において系統間差が存在し、高 CO_2 反応性は S 遺伝子とは独立の劣性一因子に支配されていること、その応答器官は雌蕊 (柱頭) 側であることが明らかにされた (Niikura and Matsuura 2000)。自家不和合性発現前の蕾に人工的に自家受粉を行う‘蕾受粉’での原種増殖は多大な労力を必要とする。現在では、特に CO_2 による自家不和合性打破現象を利用した F_1 品種の両親となる近交系統の増殖が行われ、大幅な労力軽減が為されている (木村・藤田 1988)。

③自家不和合性程度

アブラナ科の孢子体型自家不和合性は、その程度に遺伝的変異が存在することが知られている (治田 1962, Ruffio-Chable *et al.* 1997, 新倉・松浦 1999, 以後‘自家不和合性程度’と表記する)。また *B. rapa* には完全な自家不和合性を示す系統も存在し、 S 遺伝子とは独立の m 遺伝子支配であることが示唆されている (Hinata *et al.* 1983)。一方では、 S 遺伝子が直接関与して自家不和合性程度を低下させる場合 (Goring *et al.* 1993, Tantikanjana *et al.* 1993) も報告されている。自家不和合性程度の遺伝的変異を S 対立遺伝子との関係で解析した研究には *B. oleracea* の近交系統や *R. sativus* の近交系統ならびに在来品種を用いた報告がされており (Ruffio-Chable *et al.* 1997, 新倉・松浦 1999)、先の CO_2 反応性とともにもその多くの部分が S 遺伝子とは独立の遺伝因子に依ることが明らかとなっている (図 1, Niikura 2002 から作図)。これにより自家不和合性を用いたアブラナ科 F_1 採種には、柱頭上での認識反応として作用する S 遺伝子に加え、 CO_2 反応性や自家不和合性程度等、自家受精～結実に絡む様々な要因の研究が不可欠となった。

自家不和合性程度を支配する遺伝因子は、 *B. oleracea* における単一因子による例 (Thompson and Taylor 1971)

図1. いわゆる自家不和合性の概念図。外側の円が自家不和合性全体を指す。左ではそれがすべてS遺伝子により示されているが、そうではなく、右の様にS遺伝子は自家不和合性の中の、主に柱頭上の認識反応として作用するので、自家受精～結実するか否かは、CO₂反応性、自家不和合性程度等様々な要因が絡む。斜線部は未知の部分。

や *B. oleracea*, *B. rapa*, *R. sativus* において複数の遺伝子に支配されている例 (Nasrallah and Wallace 1967, Richards and Thurling 1973, Litzow and Asher 1983) が報告されている。これら研究における自家不和合性程度の評価は、ある個体のあるステージにおける開花した花に人工的に自家受粉を行い、その結実程度から評価する方法（以後人工不検と表記、なおここで言う‘不検’とは自家不和合性程度の検定を略した一語である）が採られた。しかし育種現場において、この方法で高い評価を得て育成された近交系統を用いた採種ですら、結果的に低F₁純度であった経験を幾度もしてきた (Niikura *et al.* 2002)。また花粉管伸長程度と自家不和合性程度には高い相関があるとする例 (Wallace 1979) と逆に相関が認められないとする例がある (Ruffio-Chable *et al.* 1997)。これは前者が主に自家不和合性程度が低い材料と後者はより高い自家不和合性程度と花粉管伸長数との関係を論じたためと考えられる。これらの状況から高F₁純度採種を達成するには、より効果的な検定方法開発と、安定した高い自家不和合性程度を示す系統育成が必要と考えられ、その方向へと研究は進展した。なお以後の研究は、当然の事ながら筆者単独で行ったものではなく、(株)トーホク育種部採種形質研究グループ内で出されたアイディア・議論に基づくものであることをここに付記しておく。

III. 高自家不和合性程度の選抜法

①虫媒受粉による自家不和合性程度の検定（虫媒不検）

より採種現場に近い、ミツバチを用いた方法で検定してはどうか、との考えに至り、‘虫媒不検’と称する検定方法を考案した (Horisaki *et al.* 2003, Horisaki and Niikura 2004)。虫媒不検では、隔離網室内に、ある1系統のみを抽苔・開花させ、ミツバチの巣箱を設置し、訪花させる。開花終了後、結実英率（結実英数／開花数×100）あるいは種子収量を調査し、その個体の自家不和合性程度の評価値とする。ここでは結実英率あるいは種子収量が低い個体ほど自家不和合性程度が高いと判断できる。図2に

図2. アブラナ科各種において、人工不検と虫媒不検を用いて評価した結実英率の関係。 *B. rapa* のデータは Horisaki and Niikura (2004) より引用。

アブラナ科各種における、人工不検と虫媒不検の結実英率の関係を示す。この実験では、ほとんどの供試系統が直線 $Y=X$ よりも上方に位置したこと、加えて人工不検で結実英率10%以下の比較的自家不和合性程度が高いと判断された系統において、虫媒不検では2.7～81.0%と自家不和合性程度が高～低まで再評価できたことから、いずれの種でも、人工不検より厳しく自家不和合性程度を評価できていたと考えられる。また各種とも虫媒不検においてもなお高い自家不和合性程度を示す系統が存在し、それらは安定して高いF₁純度の採種実績を有する系統であった (図2の丸囲み部)。また虫媒不検を用いた結実英率に関する遺伝子分析を行った結果、*B. rapa* においては、高い自家不和合性程度を支配する遺伝子は少なくとも2座、劣性あるいは不完全優性の遺伝子、*B. oleracea* では少なくとも2座のいずれも劣性遺伝子、ダイコンでは優性の1遺伝子の存在が示唆された (Horisaki *et al.* 2003, Horisaki and Niikura 2004, 2007)。現在、高自家不和合性カブ近交系統を一回親に用いて、虫媒不検によりハクサイ、ツケナ類について、高い自家不和合性程度を示し、優れた農業形質を有する系統を選抜・育成中である (新倉 2005)。

2001年 *Brassica rapa* のあるツケナ類F₁品種を材料に、実験採種圃場を設定した。圃場には両親である近交系統TU0-505およびTU0-20を条間75cm、株間45cmとし、畝毎に交互に栽植した。当初はF₁純度の空間的な変動を確認する目的で、約24aの圃場全体を3.6m×4.5mの区画に分割し、それぞれの区画の中心に位置する両近交系統それぞれ1個体ずつから採種を行い、そのF₁純度を調査した。その結果、特にTU0-505から採種した種子において、F₁純度8～100% (平均78.3±22.1%) と非常に大きなバラツキが区画位置に依らず認められた (図3、小沼ら 2003 から作図)。この結果は図らずも、系統内における自家不和合性程度のバラツキが非常に大きいことを想像させた。他殖性作物であるアブラナ科野菜は自殖弱勢が顕著に表れるため、比較的早い世代から系統内交雑

44	45	88	65		
81	92	91	89		
63	50	38	77		
97	53	98	58		
46	100	97	56		
	98	88	100	95	55
	58	93	70	71	94
	61	94	8	90	100
	86	96	99	94	95
		94	88	90	100

図 3. *B. rapa* の近交系統 TU0-505 および TU0-20 を条間 75 cm, 株間 45 cm とし, 畝毎に交互に栽植した. 約 24 a の圃場全体を 3.6 m×4.5 m の区画に分割し, それぞれの区画の中心に位置する両近交系統それぞれ 1 個体ずつから採種を行い, その F_1 純度を調査した. 図中各区画内の数字は TU0-505 から採種した種子の F_1 純度を示す. 空欄区画はボーダーとしサンプリング無し. その結果, 8 ~ 100% (平均 78.3±22.1%) と非常に大きなバラツキが区画位置に依らず認められ, 系統内における自家不和合性程度のバラツキが非常に大きいことを示唆した. 小沼 (2003) より作図.

による世代更新を行う. これは裏を返せば, 同じく育成した近交系統であっても, その品種の特徴付けに関与する以外の遺伝的背景においてはヘテロ性が比較的高いことを示す. この TU0-505 系統は, 選抜圧の低い人工不検により自家不和合性程度が選抜淘汰されてきたため, このような結果につながったと解釈した. そこで F_1 純度の不安定な市販 F_1 品種の近交系統である, *B. rapa* 9 系統, *B. oleracea* 4 系統, ダイコン 5 系統を抽出し, 各 5 ~ 16 個体を虫媒不検に供試した. その結果, どの種においても結実英率や収量に大きな分離が認められる近交系統が存在した (表 1). そこで, *B. rapa* の Kol-17 系統において, 低収量, すなわち高自家不和合性程度を示した個体を選抜, 予め蓄自家受粉・袋掛けにより採種しておいた自殖種子を展開する実験を継続し, 虫媒不検に加え F_1 採種試験に供している. 現時点で, 虫媒不検での種子収量が無選抜系統では 43.2±18.5 ml であったのに対し, 選抜系統では 20.3±5.8 ml であった. また F_1 採種試験では, F_1 純度が無選抜系統で 59.3% であったのに対し, 選抜系統が 91.8% であった. 両系統間で F_1 採種々子量に差が認められないことから, 大きな選抜効果があったと考えられる.

②毎日開花した花に人工的に自家受粉を行う自家不和合性検定 (毎日不検)

自家不和合性程度の内的変動要因としては, 老花受粉 (雌蕊の齢; 治田 1962), 個体としての老化受粉 (Stout

表 1. アブラナ科市販 F_1 品種の親に用いられている近交系統に行った虫媒不検の結実英率

野菜	学名	株数	結実英率 (%)			変動係数
			最小	最大	平均	
ハクサイ	<i>B. rapa</i>	12	56	87	69	14
		11	21	57	36	37
		12	3	18	10	47
カブ		14	4	31	17	41
		14	5	15	12	28
ツケナ		12	0 ml*	45 ml	25 ml	51
		16	14 ml	120 ml	58 ml	52
		8	4 ml	18 ml	12 ml	45
		8	1 ml	2 ml	2 ml	19
キャベツ	<i>B. oleracea</i>	9	48	76	61	15
		12	5	16	10	26
ブロッコリー		8	5	39	19	69
		5	14	26	4	21
ダイコン	<i>R. sativus</i>	12	2	11	6	48
		12	17	59	47	30
		12	0	39	17	69
		10	2	7	3	46
		11	1	31	13	108

* は種子収量で評価

1920), メントール効果と呼ばれる, 追加受粉 (何度も媒介昆虫により新しい花粉が受粉されることに加え, 昆虫による受粉刺激が与えられる) や異種花粉混合受粉 (Tan *et al.* 1984 等), 隣花受粉 (齢の異なる同株内花粉あるいはきょうだい系統花粉による受粉) 等が挙げられる. 一方, 外的要因としては, 高温 (Matsubara 1980, Okazaki and Hinata 1987), 乾燥 (土壌水分; Stout 1922), 少肥料 (窒素成分; Lau and Stephenson 1994) 等が挙げられ, 内外問わず非常に多岐に渡った環境条件により自家不和合性が不安定になることが示唆されている. ここで人工不検においても虫媒不検と同様な厳しい評価とするには, 自家不和合性程度の個体発育に伴った動態を環境との交互作用を勘案して把握する必要があった. そこで自家不和合性程度の変動要因を探ることにした. 材料は *B. rapa* を用い, 方法は毎日, 開花した花に人工自家受粉を行い, その後交配日を確認しながら花毎に自殖種子の結実粒数を調査するものである (以後 '毎日不検', 図 4). その結果, 各系統の生殖生長全体を通じた自家不和合性程度の変動が明らかとなり, 日毎に大きく変動する系統とほとんど変動が無い系統が観察された. そこで温度, 湿度, 日射量, 枝内の開花位置, その枝の発生位置ならびに個体齢の各要因と結実率との関係を重回帰分析により解析した. その結果, 系統によっては受粉当日の最高気温が高いほど, 個体の齢が進むほどあるいは両要因に反応し顕著に自家不和合性程度が低下する系統が認められた (Horisaki and Niikura in submitted). 分離集団等の育成途

図 4. *B. rapa* を用いた毎日不検結果の一例。下から一日 2～3 花ずつ開花し、開花当日に人工自家受粉を行った。左から結実莢が全く認められない、高い自家不和合性程度を示した系統、中央は着莢の有無を繰り返す、中間程度の自家不和合性程度を示した系統、右はほとんどの日で着莢するが、時々着莢しない日もある、低い自家不和合性程度を示した系統。○で示す日と同様の条件（温度、湿度等）の日に人工不検を行うようにし、×の日と同様の条件の日には行わないようにすれば、人工不検でも不和合性程度を厳しく評価できると考えられる。

上にある選抜母本に対しては、煩雑な虫媒不検ではなく、人工不検により自家不和合性程度を評価せざるを得ない。そのため、まずこの毎日不検結果を基に、結実率が最高、すなわち自家不和合性程度が最低となる環境条件を抽出し、人工不検の実施不適日を設定されている（新倉 2005）。

IV. 今後進められるべき研究

生殖生長には、抽苔・開花、受粉、受精、結実の各ステップが存在する。またアブラナ科植物は虫媒性のため、特に‘受粉’のステップには植物と訪花昆虫との相互関係解明が欠かせない。

①植物側の問題

F₁ 採種では、両親近交系統の開花フェノロジー一致が特に重要であり（Tanaka *et al.* 2005）、そのためには開花特性（基本栄養生長性、低温要求量、開花期間、開花量、分枝数、分枝様式）の評価方法確立が必要である。一方では、アブラナ科に属するシロイヌナズナにおいて花成遺伝子のネットワークが明らかにされつつある（He and Amashino 2005）。そこでこれら花成遺伝子のアブラナ科

作物におけるオーソログ検出に加え、開花特性評価値との関連性解明により、栄養生長段階で開花特性の DNA マーカーによる選抜が可能となれば選抜母本の開花期推定等につながる可能性がある（日向 2005）。

アブラナ科の自家不和合性は、孢子体型の他に配偶体型を示す例（Lewis *et al.* 1988a, 1988b）が報告されている。またその後の花粉管誘導（Wilhelmi and Preuss 1996）や種子致死（Bushell *et al.* 2003）など様々なステップでも「自家不和合性」が起こる可能性が示唆されている。虫媒不検はこれらの部分をすべてブラックボックスにして、結果のみを抽出した方法である。今後は虫媒不検での評価値を用いた自家不和合性程度を支配する遺伝子の QTL マッピング、原因遺伝子単離・機能解析等の分子生物学的ツールを通じて、自家受精～結実に至る自家不和合性程度の実体解明につながる事が期待される。

自家不和合性程度の研究ではあくまで雌蕊側の機能を解析したに過ぎない。‘受精’段階には花粉提供親としての能力に当たる花粉特性（花粉サイズ、花粉粒数、発芽率）の評価方法確立も欠かせない（星野 2005）。ウリ科では、自殖弱勢や肥培管理により容易に花粉はその特性を変動させる（Stephenson *et al.* 2001, Lau and Stephenson 1994）。アブラナ科においても、経験的には同様な現象が認識されている。今後その系統間差の認識、花粉能力を高める採種栽培の研究が望まれる。

②植物と昆虫との相互関係

F₁ 採種時においては、F₁ 品種の両親近交系統間を訪花昆虫に障壁無く往来させる必要がある。特に海外での採種圃場の場合、訪花昆虫相や量が乏しく、養蜂されたミツバチ巣箱の設置に依ることが多い。ミツバチは蜜量や花粉の報酬を繰り返し得るため、花の色、形、大きさ、香り等を認識し訪花種を決定する（Menzel *et al.* 1974）。同種内においても選好性が存在し、それが F₁ 採種時には、両親近交系統のどちらか一方に選択的に訪花し、他家受粉量が減り、低 F₁ 純度・低種子収量の結果を引き起こす（Pierre *et al.* 1996, 1999, 石塚ら 2004）。*B. rapa* ならびに *R. sativus* を用いて、ネクターガイド色素の同定（Sasaki and Takahashi 2002）やそのサイズの系統間差と遺伝性が明らかにされている（Syafaruddin *et al.* 2006a, Yoshioka *et al.* 2005）。また香りについても、その種間差が認識されている（新井ら 2006）。今後ミツバチの選好性試験を通じて、ミツバチの認識に対し鍵となる形質が明らかになれば、それ（ら）は新たに両親近交系統間の往来頻度増加につながる育種や耕種措置の対象となるであろう。

次に自花花粉が受粉されにくく、他家花粉が受粉されやすい花器構造を有することも、他家受精、すなわち F₁ 純度を高める上で重要である。*B. rapa* や *R. sativus* において、花器形態の評価・遺伝解析が為され、更に柱頭位置やサイズの異なる実験育成系統を用いたミツバチによる

訪花試験により、花器形態と受粉花粉粒数ならびに他家受粉効率との関係が解析されている (Syafaruddin *et al.* 2006b, Kobayashi *et al.* 2006). これらと同時に、ミツバチ以外にも選好性の低いアブやハナバチ類のような他の訪花昆虫の探索 (塚本・香取 2006)・増殖研究も重要である。

③雄性不稔性

先に述べたように、最近ではアブラナ科においても、*R. sativus* のハマダイコンや小瀬菜ダイコンより見いだされ、安定した高 F_1 純度採種を目的とした、オグラ (Ogura 1968) やコセナ (池谷 1986) 細胞質由来の雄性不稔が利用されるようになり、雄性不稔を用いる際の問題点が議論されている (酒井 2005, 赤松 2005). その問題点を特許の件を除いて要約すれば、 F_1 植物体サイズの低下、稔性回復遺伝子の除去、昆虫に対する報酬低下、すなわち雄性不稔系統の蜜分泌量減少、花卉の奇形・矮化に伴う訪花頻度低下 (佐々木 1995) 等が挙げられる。特にオグラ型細胞質は *R. sativus* のみならず、*B. napus*, *B. oleracea* ならびに *B. rapa* の F_1 採種にも用いられている (酒井・今村 2003). これはオグラ型細胞質の雄性不稔発現の安定性、花器形態や蜜量に対して負の作用を有する多面発現の少なさが寄与していると考えられる。今後はこの細胞質の形質発現機構に対する研究も望まれる。一方で、トウモロコシ T-型細胞質のごま葉枯れ病に対する特異的罹病の如く、限られた細胞質利用による遺伝的脆弱性に対処するため、新規雄性不稔細胞質の創出や、異種細胞質由来の雄性不稔素材の開発 (日向・今野 1979, Banga *et al.* 2003) も同時に求められる。

V. おわりに

採種に関する形質、すなわち‘採種形質’には、本研究で扱った、現在要求度が非常に高まっている‘高 F_1 純度’に加え、種子の発芽性、選種、寿命、保存などが日本における育種学創成当時から課題である (明峰 1915). その後、採種栽培の研究には育種学者・育種技術者こそ最適任者といえる (安田 1948) といった記述も為されている。大きな視点で見れば、将来的には食糧の世界的需要の高まりに対し、その生産の基本が種子であること、その育種には野生植物・遺伝資源の保存が不可欠である。また諸地域に目を移せば、食文化維持・形成や、ひいては生物多様性に関わる環境の観点からも、各地方在来品種の伝承が日本のみならず叫ばれるであろう。これらの状況を鑑み、今後益々採種に関わる研究が重要になる。受粉生物学、生態遺伝学、栽培学に加え、発展の目覚ましい植物生理学、分子生物学分野との融合により、‘採種学’が育種学の古くて新しい領域に発展することに少しでも寄与できたら望外の幸せである。

謝 辞

東北大学名誉教授 日向康吉先生、野菜茶業研究所 小島昭夫先生には採種に関する研究に脚光を当てて頂くと共に、その研究を違った側面から眺める目を養わせて頂いた。両先生にこの場を借りて厚くお礼を申し上げます。

引用文献

- 赤松豊和 (2005) アブラナ科野菜における雄性不稔利用の現状と問題点. 育種学研究 7 (別 1・2): 42.
- 明峰正雄 (1915) 第十九 種子の熟度及其生産との関係等, “農業種子学” 裳華房, 東京, 165–259.
- 新井美耶子・小林喜和・本田 洋・大澤 良 (2006) アブラナ科植物における花香成分の属間および種間変異の定性的評価. 育種学研究 8 (別 2): 218.
- Banga, S.S., J.S. Deol and S.K. Banga (2003) Alloplasmic male-sterile *Brassica juncea* with *Enarthrocarpus lyratus* cytoplasm and the introgression of gene(s) for fertility restoration from cytoplasm donor species. Theor. Appl. Genet. 106: 1390–1395.
- Bateman, A.J. (1955) Self-incompatibility systems in angiosperms. (III). Cruciferae. Heredity 9: 52–68.
- Brace, J., D.J. Ockendon and G.J. King (1993) Development of a method for the identification of S-alleles on *Brassica oleracea* based on digestion of PCR-amplified DNA with restriction endonucleases. Sex. Plant Reprod. 6: 133–138.
- Bushell, C., M. Spielman and R.J. Scott (2003) The basis of natural and artificial postzygotic hybridization barriers in *Arabidopsis* species. Plant Cell 15: 1430–1442.
- Delorme, V., J.-L. Giranton, Y. Hatzfeld, A. Friry, P. Heizmann, M.J. Ariza, C. Dumas, T. Gaude and J.M. Cock (1995) Characterization of the S-locus genes, *SLG* and *SRK*, of the *Brassica* S3 haplotype: identification of a membrane-localized protein encoded by the S-locus receptor kinase gene. Plant J. 7: 429–440.
- Goring, D.R. and S.J. Rothstein (1992) The S-locus receptor kinase gene in a self-incompatibility *Brassica napus* line encodes a functional serin/threonine kinase. Plant Cell 4: 1273–1281.
- Goring, D.R., T.L. Glavin, U. Schafer and S.J. Rothstein (1993) An S receptor kinase gene in self-compatible *Brassica napus* has a 1-bp deletion. Plant Cell 5: 531–539.
- 治田辰夫 (1962) 十字花科野菜の自家ならびに交雑不和合性の遺伝機構に関する研究. タキイ種苗長岡研究農場報告 2: 164–169.
- He, Y. and R.M. Amashino (2005) Role of chromatin modification on flowering-time control. Trends in Plant Science 10: 30–35.
- 日向康吉・今野 昇 (1979) *Brassica campestris* の核を持ち *Diplo-taxis muralis* の細胞質をもつ雄性不稔系統の研究. 育種 29: 305–311.
- Hinata, K., K. Okazaki and T. Nishio (1983) Gene analysis of self-incompatibility in *Brassica campestris* var. *yellow sarson* (a case of recessive epistatic modifier). Proceedings of the Sixth International Rapeseed Conference, Paris, 17 to 19 May, 1983. Vol. 1, p. 354–359.
- 日向康吉 (2005) 採種の技術課題についての私の意見. 育種学研究 7 (別 1・2): 43.

- Horisaki, A., N. Tanaka and S. Niikura (2003) The effectiveness of insect-pollination test to evaluate the level of self-incompatibility and their genetic analysis in radish (*Raphanus sativus* L.). *Theor. Appl. Genet.* 107: 1009–1013.
- Horisaki, A. and S. Niikura (2004) Effectiveness of insect-pollination to evaluate the level of self-incompatibility and genetic variation in *Brassica rapa* L. *Breed. Sci.* 54: 291–295.
- Horisaki, A. and S. Niikura (2007) Diallel analysis of the level of self-incompatibility evaluated by insect-pollination in *Brassica rapa* L. *Breed. Sci.* 57: 59–63.
- 星野 博 (2005) ハクサイ・キャベツ類の花粉能力の評価法. 育種学研究 7 (別 1・2) : 40–41.
- 池谷保緒 (1986) 小瀬菜ダイコンの一系統にみられた細胞質雄性不稔個体の多量発現. 育種 36 (別 2) : 106–107.
- 石塚大悟・堀崎敦史・新倉 聡・平 英彰・小沼明弘 (2004) アブラナ科野菜 F₁ 採種における応用生態学的研究Ⅳ. 種子取量に影響を及ぼす要因の探索. 育種学研究 6 (別 1) : 161.
- Karron, J.D., D.L. Marshall and D.M. Oilveras (1990) Numbers of sporophytic self-incompatibility alleles in populations of wild radish. *Theor. Appl. Genet.* 79: 457–460.
- 木村 淳・藤田幸雄 (1988) CO₂ 利用の原種採種ダイコン. “ハイテクによる野菜の採種”そ菜種子生産研究会編, 誠文堂新光社, 東京. p. 246–252.
- Kobayashi, K., H. Horisaki, S. Niikura and R. Ohsawa (2006) Inter-accession variation in floral morphology in radish (*Raphanus sativus* L.). *Euphytica* 152: 87–97.
- 小沼明弘・堀崎敦史・田中紀史・新倉 聡 (2003) アブラナ科野菜 F₁ 採種における応用生態学的研究. F₁ 純度の不安定性. 育種学研究 (別 1) : 269.
- Lau, T.-C. and S.G. Stephenson (1994) Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sex. Plant Reprod.* 7: 215–220.
- Lewis, D., S.C. Verma and M.I. Zuberi (1988a) Gametophytic-sporophytic incompatibility in the Cruciferae—*Raphanus sativus*. *Heredity* 61: 355–366.
- Lewis, D., S.C. Verma and M.I. Zuberi (1988b) Gametophytic-sporophytic incompatibility in the Cruciferae—*Brassica campestris*. *Heredity* 61: 367–377.
- Litzow, M.E. and P.D. Asher (1983) The inheritance of pseudo-self-incompatibility (PSC) in *Raphanus sativus* L. *Euphytica* 32: 9–15.
- Matsubara, S. (1980) Overcoming self-incompatibility in *Raphanus sativus* L. with high temperature. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 105: 842–846.
- Menzel, R., J. Erber and T. Masuhr (1974) Learning and memory in the honey bee. In “Experimental Analysis of Insect Behavior” Browne, L.B. (ed.), Springer-Verlag, New York, 195–217.
- Monterio, A.A. and W.H. Gabelman (1988) Use of sodium chloride solution to overcome self-incompatibility in *Brassica campestris*. *Hort. Science* 23: 876–877.
- Nakanishi, T., Y. Esashi and K. Hinata (1969) Control of self-incompatibility by CO₂ gas in *Brassica*. *Plant Cell Physiol.* 10: 925–927.
- Nakanishi, T. and K. Hinata (1973) An effective time for CO₂ gas treatment in overcoming self-incompatibility in *Brassica*. *Plant Cell Physiol.* 14: 873–879.
- Nakanishi, T. and K. Hinata (1975) Self-seed production by CO₂ gas treatment in self-incompatible cabbage. *Euphytica* 24: 117–120.
- Nasrallah, M.E. and D.H. Wallace (1967) The influence of modifier gene on the intensity of self-incompatibility in cabbage. *Euphytica* 17: 495–503.
- Nasrallah, J.B., T.H. Kao, M.L. Goldberg and M.E. Nasrallah (1985) A cDNA clone encoding an S-locus-specific glycoproteins from *Brassica oleracea*. *Nature* 318: 263–267.
- Nasrallah, J.B., T.H. Kao, C.H. Chen, M.L. Goldberg and M.E. Nasrallah (1987) Amino-acid sequence of glycoproteins encoded by three alleles of S-locus of *Brassica oleracea*. *Nature* 326: 617–619.
- Niikura, S. and S. Matsuura (1997) Genomic sequence and expression of S-locus gene in radish (*Raphanus sativus* L.). *Sex. Plant Reprod.* 10: 250–252.
- Niikura, S. and S. Matsuura (1998) Identification of self-incompatibility alleles (S) by PCR-RFLP in radish (*Raphanus sativus* L.). *Euphytica* 102: 379–384.
- 新倉 聡・松浦誠司 (1999) 日本の栽培ダイコンにおける自家不和合性遺伝子と自家不和合性程度の遺伝的変異. 育種学研究 1: 211–220.
- Niikura, S. and S. Matsuura (2000) Genetic analysis of the reaction level of self-incompatibility to a 4% CO₂ gas treatment in the radish (*Raphanus sativus* L.). *Theor. Appl. Genet.* 101: 1189–1193.
- Niikura, S. (2002) Self-incompatibility in vegetable seed breeding. *Tech. Bull.* 157: 1–8.
- Niikura, S., A. Horisaki, N. Tanaka and A. Konuma (2002) The genetic and ecological studies on the F₁ seed production using self-incompatibility in cruciferous vegetables. In international training on biotechnology of seed and seedling production held on, 01–07 December 2002 at PCARRD Headquarters, Los Banos, Laguna, Philippines.
- 新倉 聡 (2005) アブラナ科野菜 F₁ 採種における自家不和合性程度の育種. 育種学研究 7 (別 1・2) : 36–37.
- Nishio, T. and K. Hinata (1978) Stigma proteins in self-incompatible *Brassica campestris* L. and self-compatible relatives, with special reference to S-allele specificity. *Jpn. J. Genet.* 53: 27–33.
- Nishio, T., K. Sakamoto and J. Yamaguchi (1994) PCR-RFLP of the S-locus for the identification of breeding lines in cruciferous vegetables. *Plant Cell Rep.* 13: 546–550.
- Nou, I.S., M. Watanabe, K. Isuzugawa, A. Isogai and K. Hinata (1993) Isolation of S-alleles from a wild population of *Brassica campestris* L. at Balcesme, Turkey and their characterization by S-glycoproteins. *Sex. Plant Reprod.* 6: 71–78.
- Ockendon, D.J. (1982) An S-allele survey of cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata). *Euphytica* 31: 325–331.
- Ogura, H. (1968) Studies on the new male sterility in Japanese radish, with special references on the utilization of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. *Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ.* 6: 40–75.
- 岡崎桂一・日向康吉 (1984) 日本のダイコン品種の S 遺伝子と S 糖タンパク質の分析. 育種 34: 237–245.
- Okazaki, K. and K. Hinata (1987) Repressing the expression self-incompatibility in crucifers by short-term high temperature. *Theor. Appl. Genet.* 73: 496–500.
- Pierre, J., J.S. Pierre, R. Marilleau, M.H. Pham-Delegue, X. Tanguy and M. Renard (1996) Influence of the apetalous character in rape (*Brassica napus*) on the foraging behavior of honeybees (*Apis mellifera*). *Plant Breeding* 115: 484–487.

- Pierre, J., J. Masquida, R. Marilleau, M.H. Pham-Delegue and M. Renard (1999) Nectar secretion in winter oilseed rape, *Brassica napus*—quantitative and qualitative variability among 71 genotypes. *Plant Breeding* 118: 471–476.
- Richards, R.A. and N. Thurling (1973) The genetics of self-incompatibility in *Brassica campestris* L. ssp. *oleifera* METZG. II. Genotype and environment modification of *S* locus control. *Genetica* 44: 439–453.
- Rubatzky, V.E. and M. Yamagichi (1997) Cole crops, other *Brassica*, and crucifer vegetables. In “World vegetables—Principles, production and Nutritive Values Second Edition” Rubatzky, V.E. and M. Yamagichi (eds.), Chapman & Hall, New York, 371–417.
- Ruffio-Chable, V., Y. Herve, C. Dumas and T. Gaude (1997) Distribution of *S*-haplotypes and its relationship with self-incompatibility in *Brassica oleracea*. Part 1. In inbred lines of cauliflower (*B. oleracea* var ‘botrytis’). *Theor. Appl. Genet.* 94: 338–346.
- 酒井隆子・今村 順 (2003) ナタネ (*Brassica napus* L.) F_1 育種: F_1 種子採種体系の現状と問題点. *育種学研究* 5: 93–102.
- 酒井隆子 (2005) アブラナ科作物の雄性不稔育種と特許化の現状. *育種学研究* 7 (別 1・2): 38–39.
- Sakamoto, K., M. Kusaba and T. Nishio (1998) Polymorphism of the *S*-locus glycoprotein gene (*SLG*) and the *S*-locus related gene (*SLRI*) in *Raphanus sativus* L. and self-incompatible ornamental plants in the Brassicaceae. *Mol. Gen. Genet.* 258: 397–403.
- Sampson, D.R. (1967) Frequency and distribution of self-incompatibility alleles in *Raphanus raphanistrum*. *Genetics* 56: 241–251.
- 佐々木正巳 (1995) ポリネーター類の総合的利用化—特性比較と人工授粉との組合せ使用—植物防疫 49: 24–27.
- Sasaki, K. and T. Takahashi (2002) A flavonoid from *Brassica rapa* flower as the UV-absorbing nectar guide. *Phytochemistry* 61: 339–343.
- Stein, J.C., B. Howlett, D.C. Boyes, M.E. Nasrallah and J.B. Nasrallah (1991) Molecular cloning of a putative receptor protein kinase gene encoded at the self-incompatibility locus of *Brassica oleracea*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 8816–8820.
- Stephenson, A.G., C.N. Hayes, M.H. Johannsson and J.A. Winsor (2001) The performance of microgametophytes is affected by inbreeding depression and hybrid vigor in the sporophytic generation. *Sex. Plant Reprod.* 14: 77–83.
- Stevens, J.P. and Q.O.N. Kay (1989) The number, dominance relationships and frequencies of self-incompatibility alleles in a natural population of *Sinapis arvensis* L. in South Wales. *Heredity* 62: 199–205.
- Stout, A.B. (1920) Further experimental studies on self incompatibility in hermaphroditic plants. *J. Genet.* 9: 85–129.
- Stout, A.B. (1922) Cyclic manifestation on sterility in *Brassica pekinensis* and *B. chinensis*. *Bot. Gaz.* 73: 110–132.
- Syafaruddin, K. Kobayashi, Y. Yoshioka, A. Horisaki, S. Niikura and R. Ohsawa (2006a) Estimation of heritability of the nectar guide of flowers in *Brassica rapa* L. *Breed. Sci.* 56: 75–79.
- Syafaruddin, A. Horisaki, S. Niikura, Y. Yoshioka and R. Ohsawa (2006b) Effect of floral morphology on pollination in *Brassica rapa* L. *Euphytica* 49: 267–272.
- 高崎剛志 (2006) 遺伝子導入によるアブラナ科自家不和合性の制御. *育種学研究* 8: 127–134.
- Takayama, S., S. Isogai, S. Tsukamoto, Y. Ueda, K. Hinata, K. Okazaki and A. Suzuki (1987) Sequences of *S*-glycoproteins, products of the *Brassica campestris* self-incompatibility locus. *Nature* 326: 102–110.
- Tanaka, A., A. Konuma, A. Horisaki, S. Niikura and R. Ohsawa (2005) Effect of flowering synchrony between two parental lines on the F_1 purity and yield in F_1 seed production of *Brassica rapa* L.. 10th Int. Congr. SABRAO. Abstract G20.
- Tan, Q.M., G.Y. Zhao and B.J. Li (1984) The influence of selective fertilization on the percentage of hybrid seedlings in Chinese cabbage. *Sci. Hort.* 23: 1–7.
- Tantikanjana, T., M.E. Nasrallah, J.C. Stein, C.H. Chen and J.B. Nasrallah (1993) An alternative transcript of the *S* locus glycoprotein gene in a class II pollen-recessive self-incompatibility haplotype of *Brassica oleracea* encodes a membrane-anchored protein. *Plant Cell* 5: 657–666.
- Tao, G. and R. Yang (1986) Use of CO_2 and salt solution to overcome self-incompatibility of Chinese cabbage (*B. campestris* ssp. *pekinensis*). *Eucarpia Cruciferae Newslett.* 11: 75–76.
- 建部民雄 (1968) ダイコンにおける自家不和合性の生理機構について (第 2 報) 2, 3 の薬品処理による自家不和合性の消去. *園雑* 37: 43–46.
- Thompson, K.F. and J.P. Taylor (1966) Non-linear dominance relationships between *S* alleles. *Heredity* 21: 345–362.
- Thompson, K.F. and J.P. Taylor (1971) Self-incompatibility in kale. *Heredity* 27: 459–471.
- 塚本太郎・香取郁夫 (2006) セイヨウミツバチに代わるオランダイチゴの送粉昆虫の探索. 日本応用動物昆虫学会, 第 50 回講演要旨, 5.
- Wallace, D.H. (1979) Interactions of *S* alleles in sporophytically controlled self incompatibility of *Brassica*. *Theor. Appl. Genet.* 54: 193–201.
- Watanabe, M., S. Takayama, A. Isogai and K. Hinata (2003) Recent progress on self-incompatibility research in *Brassica* species. *Breed. Sci.* 53: 199–208.
- Wilhelmi, L.K. and D. Preuss (1996) Self-sterility in Arabidopsis due to defective pollen tube guidance. *Science* 274: 1535–1537.
- 安田貞夫 (1948) 普通栽培と種子生産技術, “種子生産学”, 養賢堂, 東京. 1-3.
- Yoshioka, Y., A. Horisaki, K. Kobayashi, Syafaruddin, S. Niikura, S. Ninomiya and R. Ohsawa (2005) Intraspecific variation in the ultraviolet colour proportion of flowers in *Brassica rapa* L. *Plant Breeding* 124: 551–556.