

学位論文審査の結果の要旨

氏名	栞川 貴紀
審査委員	主査 小林 伸雄 (印) 副査 門脇 正行 (印) 副査 執行 正義 (印) 副査 中務 明 (印) 副査 竹村 圭弘 (印)
題目	島根県特産香辛野菜「出雲おろち大根」へのアントシアニン着色形質の導入に関する研究 (Studies on the introduction of colored root characteristics into the local pungent radish of Shimane prefecture “Izumo orochi daikon”)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>「出雲おろち大根」‘スサノオ’は、出雲地域に自生するハマダイコン (<i>Raphanus sativus</i> L. f. <i>raphanistroides</i> Makino) を選抜育種により品種改良した島根県を代表する地方辛味ダイコン品種である。本研究では料理への色どり付加や食品色素源としての利用幅拡大を目指し、紫色および赤色の根部着色形質を導入した固定系統を育成して新品种の開発を試み、その根部内容成分含量および機能性を調査した。さらに、アントシアニン生合成経路に着目し、各種構造遺伝子の発現解析や着色性の鍵酵素であるフラボノイド 3'-水酸化酵素 (F3H) のコード領域のゲノム構造解析を行い、ダイコンの根部着色形質に関する DNA マーカーの開発を検討した。</p> <p>‘スサノオ’に紫系品種‘からいね赤’と赤系品種‘長安青丸紅心’をそれぞれ掛け合わせて得られた F₁ 個体間の交雑を行い、数世代に及ぶ後代の集団選抜を重ねることで紫と赤の根部着色形質を辛味ダイコン品種へ導入することができ、第10世代では約8割の個体が根部着色を示した。根部着色形質導入系統の主要アントシアニンは、紫系統ではアシル化されたシアニジン 3-ソホロシド-5-グルコシド、赤系統では同様な修飾を受けたペラルゴニジン 3-ソホロシド-5-グルコシドであり、交配親品種とそれぞれ一致することが明らかになった。紫系統および赤系統の辛味成分 (イソチオシアネート) 含量および可溶性固形物含量は‘スサノオ’や辛味ダイコン品種‘辛丸’と同等であった。一方で、抗酸化能の指標である DPPH ラジカル消去活性は‘スサノオ’よりも約2倍高く、‘耐病総太り’よりも7~10倍高かった。これらの結果から、‘スサノオ’にアントシアニン着色形質を導入した紫系統および赤系統は同品種よりも高い機能性を有すると評価された。</p>	

次に、ダイコン根部着色形質とアントシアニン生合成関連遺伝子の関係を検討するために、紫系品種の根部着色部位からカルコン合成酵素 (CHS)、フラバノン 3-水酸化酵素 (F3H)、ジヒドロフラボノール 4-還元酵素 (DFR) およびアントシアニン合成酵素 (ANS) 遺伝子の部分配列と F3H および MYB 遺伝子の全長配列を単離し、これらを用いて紫系、赤系および白系既存品種の遺伝子発現解析を行った。その結果、紫系品種ではこれら 6 遺伝子の発現が確認されたが、赤系品種では F3H 遺伝子、白系品種では DFR、ANS および MYB 遺伝子の発現は確認されなかった。さらに、赤系品種由来の F3H 遺伝子のゲノム構造解析より、第 1 エキソン領域にレトロトランスポゾンの挿入が発見され、この挿入変異に起因する同遺伝子の機能喪失により根部にペラルゴニン系色素が蓄積して赤色を呈することが明らかになった。

さらに、この F3H 遺伝子の変異を用いてダイコンの着色に関する変異型 *F3H* アレル検出マーカーを開発した。各種園芸品種、紫系統ならびに赤系統を用いてマルチプレックス PCR により *F3H* アレル解析を行ったところ、正常型の約 450bp の増幅断片は紫系品種および紫系統などから得られたのに対し、変異型の約 750bp のみの増幅断片は赤系品種および赤系統のみで得られた。赤系品種「長安青丸紅心」と「スサノオ」の交雑後代では、ほぼすべての F₁ 個体は紫色の根部を示し、正常型と変異型の増幅断片を有していた。その F₂ 集団では、紫色個体は正常型のみまたは正常型と変異型のバンドパターンを示したのに対し、赤色個体は変異型のみバンドパターンを示した。一方、白色個体はいずれかのバンドパターンを示した。これらの結果から、この DNA マーカーは根部着色形質にリンクする変異型 *F3H* アレルの検出が可能であり、紫系および赤系「出雲おろち大根」をはじめとするダイコンの根部着色形質に関する育種において利用可能であると考えられた。

以上の結果のように、本研究では地域特産農作物の根部着色系統の育成と食品機能性の向上による高付加価値化という実用的な品種改良に関わる新たな知見を得た。また、ダイコンの紫色・赤色の根部着色に関わるアントシアニン生合成関連遺伝子 F3H の関係性を明らかにし、根部着色に関する育種に有効な DNA マーカーを開発した。これらの研究成果は、ダイコンをはじめとするアントシアニン着色形質に関わる基礎的知見ならびに品種改良に関わる実用的知見として高く評価でき、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。