

重イオンビーム照射によるレタス低褐変変異誘導と その育種的利用

澤田, 倫平

<https://hdl.handle.net/2324/2534491>

出版情報：九州大学, 2019, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	澤田 倫平			
論文名	重イオンビーム照射によるレタス低褐変変異誘導とその育種的利用			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	尾崎 行生
	副査	九州大学	教授	望月 俊宏
	副査	九州大学	准教授	宮島 郁夫
	副査	九州大学	准教授	酒井 かおり

論文審査の結果の要旨

本論文は、わが国の主要な野菜品目であるレタス (*Lactuca sativa* L.) において、突然変異処理による低褐変系統（切り口が褐変しにくい系統）の作出を行うとともに、同系統を利用した効率的な低褐変品種育成法について明らかにしたものである。

まず、主要 3 品種（‘冬シスコ’，‘ラウンド’，‘ゴジラ’）を用いたプロトプラスト培養によって得られるコロニー数とシュート形成率を比較し、‘ラウンド’のシュート形成率が最も高いことを示し、シュート形成に最適なプロトプラスト濃度も明らかにした。Gelrite に包埋したプロトプラストへの炭素イオンビーム ($^{12}\text{C}^{6+}$) の照射では、照射線量増加に伴ってコロニー形成率が直線的に低下し、半致死線量は約 3.3Gy であることを示した。さらに炭素イオンビームを照射したプロトプラスト由来のカルス集団 (M_1) のポリフェノールオキシダーゼ (*PPO*) 遺伝子変異を TILLING 法によって調査し、 M_1 集団 869 個のうち、2Gy、5Gy 照射カルスの各 1 個体で *PPO* 遺伝子変異を検出した。

変異を検出した 2 系統のカルスからそれぞれ再分化個体を誘導し、順化後に葉の *PPO* 活性を測定した結果、再分化した 2 系統のうち 5Gy 照射カルス由来系統の *PPO* 活性は対照個体と同程度であったが、2Gy 照射カルス由来系統の活性は対照個体の約半分であった。*PPO* 活性の低下が認められた再分化個体 (M_1) 系統の栽培により、同系統が結球することを認めたが、 M_1 を自殖した M_2 系統を栽培したところ、ほとんどの個体が結球しなかったことから、プロトプラスト培養やイオンビーム照射によって *PPO* 遺伝子以外にも変異が生じていることが示された。 M_2 集団の *PPO* 活性測定と TILLING 法による多型解析により、①野生型よりも明らかに *PPO* 活性が低いホモ (aa) 個体、②*PPO* 活性が野生型と同等以上のホモ (AA) 個体、③*PPO* 活性が aa 個体と AA 個体の中間型を示したヘテロ (Aa) 個体に分けられ、*PPO* 活性低下が単一の *PPO* 遺伝子変異（野生型 A、活性低下型 a）による形質であることを明らかにした。 M_2 集団で *PPO* 活性が低かった aa 型個体と‘ラウンド’（対照、AA 型）の葉身を先端部と基部に分け、切断後の褐変程度の経時変化を調査した結果、葉身基部では明確な差が認められないが、葉身先端部では変異型の方が対照よりも褐変程度が低いことを見出した。低 *PPO* 活性を示した aa 個体における *PPO* 遺伝子のシーケンス解析の結果、対照の AA 遺伝子型個体との間に一塩基置換変異があることを明らかにし、CAPS 分析による *PPO* 遺伝子型判別法も確立した。

本研究で得られた低 *PPO* 活性を示す aa 個体では、野生型である‘ラウンド’と比較して明らかに結球性が低下していたが、開発した CAPS マーカーを援用した戻し交雑を行うことにより、 BC_3M_3 集団において結球率、全重、結球重などが‘ラウンド’と同程度になることを明らかにした。同集団内から選抜した *PPO* 活性低下型遺伝子ホモ個体では、葉身上部のカットレタスの褐変性が

‘ラウンド’より低く，加工用途に向く実用性の高い低褐変レタス系統育成法を確立できた．

以上要するに，本論文はプロトプラストへの重イオンビーム照射による低褐変レタス個体の作出と，低褐変形質個体を選抜するためのCAPSマーカーの開発により，効率的な低褐変レタス品種作出技術を確立したものであり，園芸学の発展に寄与すると認めた．よって本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める．