

論文内容の要旨

論文題目 良食味完全甘ガキの効率的育成に関する研究

氏名 三谷 宣仁

カキ (*Diospyros kaki* Thunb.) は成熟果実の甘渋性と種子の有無により 4 つのタイプに分類されるが、果実生産には種子の有無に関係なく果実が成熟する過程において樹上で脱渋する完全甘ガキが最も望ましい。日本由来の完全甘ガキ形質は非完全甘ガキ形質に対し劣性であり、完全甘ガキを育種する上では専ら完全甘ガキ同士の交雑が行われてきた。しかし完全甘ガキ同士の交雑を繰り返すことにより近交弱勢の問題が生じ、完全甘ガキを育成する上で非完全甘ガキも利用する必要が生じている。一方、日本で栽培されているカキのほとんどの品種は六倍体でありこれまでの研究での遺伝様式からは同質六倍体と考えられているが、対立遺伝子の重複などから解析が複雑なものとなっている。甘渋性に関しては *Ast* 遺伝子座によって支配され、優性の非完全甘ガキ遺伝子 (A) と劣性の完全甘ガキ遺伝子 (a) が存在し、6 つの対立遺伝子の中に A が 1 つでもあると非完全甘ガキとなり、6 つすべて a の場合のみ完全甘ガキになると考えられている。先述のように完全甘ガキ性は劣性であり、在来の非完全甘ガキと完全甘ガキとの交雑で生じる個体は全て非完全甘ガキとなるが、この非完全甘ガキに完全甘ガキを再度交雑 (戻し交雑) した場合には、完全甘ガキの個体が 15~20% 得られることが分かっている。しかし完全甘ガキであるか否かが判明するのは各個体の実生を成木に高接ぎし結実するまで数年かかり非効率的であるため、後代個体の甘渋性を幼苗段階で識別できる DNA マーカーの開発が期待されている。非完全甘ガキ形質に連鎖するマーカーについては、既に RFLP 分析による有効性が示されているが、RFLP 分析は労力がかかる問題がある。そこで本研究では、甘渋性に関する RFLP マーカーを PCR マーカーに変換し、迅速で多数のサンプルを扱えるようにし、これらの DNA マーカーが多数の個体を扱う実際の育種現場で有効であるかどうか検証を行った。

また完全甘ガキの育種では、他の樹種と同様に良食味であることが最も重要な目標の 1 つである。カキに関しては果肉が軟らかく果汁の多い果実が一般的には消費者に好まれている。消費者の嗜好にあった新品種を効率的に作出するため、果肉が軟らかく果汁が多い実生個体の出現率を推定する方法を構築することとした。さらにこれまで官能でのみ評価されてきた果汁の多少に関して、客観的・機械的測定法の確立を目指すこととし、この方法を用いて完全甘ガキの主要な品種での果汁の多少の品種

間差異を明らかにすることとした。

1. 非完全甘ガキ‘黒熊’に由来する交雑実生個体の DNA マーカーによる甘渋性識別

大果の非完全甘ガキ‘黒熊’に由来する交雑実生集団の甘渋性を識別するために開発された SCAR (sequence characterized amplified region) マーカーが、実際のカキ育種においてどの程度有効であるか、多数の交雑実生個体を用いた検証を行った。この‘黒熊’については、非完全甘ガキ形質に連鎖する 3 種類の RFLP マーカー (A1~A3) を有していることが先行する研究で明らかとなっていた。

非完全甘ガキ‘太天’ (非完全甘ガキ‘黒熊’×完全甘ガキ‘太秋’) と完全甘ガキ‘甘秋’との交雑による後代の中で結実に至った 251 個体を用いた。‘太天’は 3 種類のマーカーのうち A2 および A3 を有していることから、2 組のプライマーセット E4/A2r および 7H9F/AST-R を用いて識別を行った。後代のうち 205 個体については、マーカー識別で A2、A3 のいずれかが検出されたが、これらはすべて果実の甘渋性により非完全甘ガキと判定され、果実の甘渋性とマーカーによる識別結果が完全に一致した。残りの 46 個体については A2 と A3 のいずれも検出されなかったが、果実の甘渋性ではうち 43 個体が完全甘ガキと判定され、果実の甘渋性とマーカーによる識別結果がほぼ一致する結果となった。マーカーによる完全甘ガキの割合は 46 / 251 (18.3%) となり、マーカーによる識別と果実の甘渋性が不一致であった割合は全体として 3 / 251 (1.2%) となった。‘富有’×‘太天’および‘天神御所’×‘太天’の交雑個体について完全甘ガキと考えられる個体の割合は、それぞれ 36 / 151 (23.8%)、6 / 29 (20.7%) となり、‘太天’×‘甘秋’も含めこれらの結果はこれまでの完全甘ガキの出現率と有意な差はなかった。

一方、非完全甘ガキ‘太月’ (非完全甘ガキ‘黒熊’×完全甘ガキ‘太秋’) と完全甘ガキ‘甘秋’との交雑による後代については、‘太月’が A1 および A3 を有していることから、最初に E8.5/E9r を用いて A1 で識別し、次いで 7H9F/AST-R により A3 の有無を調査した。後代 86 個体のうち 40 個体で A1 が検出され、この中で結実した 22 個体は果実の甘渋性についてすべて非完全甘ガキと判定された。A1 が検出されなかった 46 個体のうち結実した 26 個体については、果実の甘渋性で完全甘ガキが 11 個体、非完全甘ガキが 15 個体となったが、非完全甘ガキと判定された 15 個体についてはすべて A3 が検出された。すなわち‘太月’と‘甘秋’の交雑後代で結実した 48 個体については、果実の甘渋性とマーカーによる識別が完全に一致する結果となった。別途得られた‘太月’と‘甘秋’との交雑実生 522 個体の甘渋性を E8.5/E9r および 7H9F/AST-R で識別したが、完全甘ガキと考えられる個体は 81 個体

(15.5%)であった。この比率は関して、‘太天’と‘甘秋’との交雑組合せにおける完全甘ガキの出現の期待値の18.3%と有意差はなかった。

2. カキ育種における果肉が多汁で柔軟な実生個体の出現率の推定および果汁の多少の品種間差異

果肉が軟らかく果汁が多い品種を効率的に育成するため、カキの重要な食味形質である果肉の硬さと果汁の多少の官能評価による値にロジスティック回帰を適用し、果肉が軟らかく果汁の多い個体の出現率の推定を試みた。官能評価では、果肉の硬さと果汁の多少についてそれぞれ1~5の尺度で評価（果肉の硬さ：1（軟）～5（硬）、果汁の多少：1（少）～5（多））を行っているが、ロジスティック回帰を利用するため、後代個体をそれぞれの評価値によって、果肉の硬さは1（軟）と2以上の個体に、果汁の多少は5（多）と4以下に分類し、交雑組合せでの果肉の硬さの平均親値または果汁の多少の平均親値を説明変数、果肉の硬さが1の個体または果汁の多少が5となる個体の出現率を目的変数とした。果肉の硬さについて得られた回帰式は平均親値が低いほど果肉軟の個体の出現率が高まる傾向を示したが、果汁の多少については、果汁の多少のみを説明変数にするよりも、果汁の多少と果肉の硬さの両方を説明変数とした回帰式の方が適合度が高かった。得られた回帰式からは、果肉の硬さの平均親値が低い交雑組合せ、あるいは果汁の多少の平均親値が高い交雑組合せが、それぞれ果肉が軟らかい個体の出現率、あるいは果汁の多い個体の出現率が高くなると考えられた。しかしいずれの回帰曲線も傾きはなだらかであり、両方の形質に関して遺伝的分離が広いと考えられた。また両方の形質について中の評価である交雑親からでも果肉が軟らかく果汁の多い後代個体が得られると考えられた。

果汁性の客観的評価は、果肉を破碎後に遠心して果汁を分離し、元の果肉に対する果汁の割合を算出して行った。果汁の収穫の早晚による影響を明らかにするため、完全甘ガキ4品種、不完全渋ガキ1品種、完全渋ガキ3品種の計8品種に関して、それぞれの商業収穫期に3回収穫し果汁の多少を評価したが、収穫時期による有意差はなかった。樹間変異を明らかにするため、4品種各2樹の果実の果汁の多少を評価したが、品種による効果が大きく、樹の効果は非常に小さかった。年次間変異についても5品種各1樹から2年収穫した果実で測定したが樹の効果と同様年次の効果は小さく、品種・系統の評価は1年1本の樹からの果実で可能と考えられた。

続けて完全甘ガキ14品種の果肉の硬さと果汁の多少を比較した。‘太秋’の果汁の多少は圧倒的に高く、果肉硬度は最も低かった。4品種（‘富有’、‘松本早生富有’、‘甘秋’、‘陽豊’）の果汁の多少の評価値は‘太秋’よりも低いものの40%を超えていた。一方‘駿河’と‘花御所’は約30%であり、

調査した中で低かった。5品種（‘太秋’、‘富有’、‘甘秋’、‘陽豊’、‘天神御所’）の果汁の多少と官能評価との間のスピアマン相関係数は0.866であった。

先のロジスティック回帰モデルに関して、7交雑組合せについて説明変数を官能評価による場合と果汁の多少の値の場合とでモデルを構築し比較を行った。果汁の多少の値を用いた場合平均親値に関して有意となり、また残差逸脱度が小さく、官能評価の値を用いた場合よりも適合度が高いモデルが得られた。

カキは遺伝様式が複雑で、また果樹の中でも幼若期間が長いいため、交雑による品種改良に要する時間が長い。そのような中で SCAR マーカーによって多数の交雑実生個体の甘渋性を識別できることを示したことは、カキの育種効率を大幅に上昇させるのにつながる。また、交雑親として用いることができる品種・系統の幅を拡大し、多様な形質を有する個体を生み出す可能性を高めたものと考えられる。本研究で示した方法によって選抜した完全甘ガキ個体をすでに系統適応性特性検定試験に供試しており、本研究の成果がカキ育種に大きく貢献している。またカキの食味に関し、果肉の硬さと果汁の多少の官能評価の平均親値からロジスティック回帰を用いて果肉が軟らかく果汁の多い個体の出現率を推定することができたが、これにより過去の官能評価による調査結果をもとにして、果汁の多い個体の出現率を推定することができる。また、果汁の多少の客観的評価方法を開発し完全甘ガキの主要な品種の品種間差異を明らかにしたことは、望ましい交雑親の選択を可能にしたと言える。さらに果汁の多い個体の出現率の推定にこの客観的評価を組み合わせることで、果汁の多い個体の出現率を官能評価よりもさらに高い精度で推定することができる。以上のような研究成果は今後の良食味完全甘ガキの品種育成を効率化するのに大きく役立つ。