

平成21年5月6日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19780021

研究課題名（和文）ヒュウガナツ枝変わり系統の生殖特性の評価とゲノム内変異部位の探索

研究課題名（英文）Characterization of the reproductive traits and exploration of the mutation part in the genome in bud sport accessions of Hyuganatsu

研究代表者

本勝 千歳 (HONSHO CHITOSE)

宮崎大学・農学部・助教

研究者番号：30381057

研究成果の概要：本研究ではヒュウガナツ枝変わり系統である‘西内小夏’の生殖特性を明らかにするために受粉試験、果実の形質調査、胚珠および種子成長の組織観察を行った。まず、普通系ヒュウガナツ(普通系)、『西内小夏』、ハッサク、スイートスプリングを種子親として、『西内小夏』ならびに普通系、ハッサクの花粉をそれぞれ受粉し、結実率、果実成長を調査した。その結果、『西内小夏』を花粉親として使用した場合、全ての種子親について果実が得られた。一方、『西内小夏』×普通系は受粉後10週目までにすべて生理落果を起こした。ヒュウガナツの自家不和合性が雌ずい側と花粉側の複数の因子に関係していると仮定するならば、この普通系と『西内小夏』の正逆交雑の結果から、『西内小夏』は花粉側因子に何らかの異常が発生したと考えられた。また、収穫果の含有種子についてみると、各種子親における『西内小夏』花粉受粉果は、他の花粉受粉果と比較して完全種子数は有意に減少し、しいなの数は有意に多くなった。種子親が普通系および『西内小夏』の場合、『西内小夏』花粉を受粉して得られた果実内の種子はほとんどしいなとなったのに対して、種子親がハッサクおよびスイートスプリングでは正常種子としいなが果実中に混在して確認された。特に種子親がハッサクの場合は、一つの果実内に見られる正常種子としいなの割合が、果実毎によって異なっていた。

次に普通系ヒュウガナツおよび『西内小夏』の果実発育中の種子を取り出して観察したところ、種子のしいな化は受粉後8週目～12週目の間に起こっていた。胚発生の組織観察の結果、『西内小夏』受粉果において胚の初期成長が観察されたことから、『西内小夏』花粉受粉果でも受精がおこるものと推察された。しかし、受粉後8週目～12週目にかけて胚の異常発達や胚の消失が確認され、このことが種子のしいな化に影響していると考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000		1,900,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	420,000	3,720,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：ヒュウガナツ，自家不和合性，結実性，種子，しいな

1. 研究開始当初の背景

ヒュウガナツ(*Citrus tamurana hort. ex Tanaka*)には強度の自家不和合性が存在することが知られている。自家不和合性は単為結果性を有する系統については無核となり有用であるが、ヒュウガナツは単為結果性を持たないために、受粉樹を必要とし受粉後結実した果実には多数の種子が含まれてしまう。これまでヒュウガナツの自家不和合性については、Yamashita が自家受粉後の花粉管伸長阻害が発生することを観察している。さらに4倍体ナツダイダイの受粉や、ジベレリン処理によって無核果・小核果の生産が可能であることが示されている。しかし労力やコストの面から自家結実性・無核性品種の開発・導入が望まれる。

現在、ヒュウガナツの結実性に関する突然変異個体が発見されておりそのうちの幾つかは品種登録されている。‘西内小夏’は普通系ヒュウガナツ(以下普通系と略す)と比較し自家不和合性が弱いと報告され、‘室戸小夏’は無核となり種子がほとんど入らない。また、品種登録されていないものでも宮崎県において自家和合性と思われる枝変わり系統が発見され、研究代表者が所属する宮崎大学農学部果樹園芸学研究室研究圃場におい

て維持保存されている。これらはそのものが品種として経済的価値を持つだけでなく、変異した和合性や無核性といった形質を後代へ導入するための育種親としての利用、さらにはそれらの形質のメカニズムの解明のための材料として極めて有用である。

2. 研究の目的

上述のようにヒュウガナツにはその枝変わり変異系統に極めて興味深い現象を持つ系統が存在している。一方で宮崎大学農学部において保存されている自家和合系についてはその結実性に関する性質はほとんど明らかになっていない。ヒュウガナツのみならず我が国におけるカンキツ産業全体への園芸的・育種的貢献のために、ヒュウガナツ枝変わり系統の結実性についてさらに知見を獲得しそのメカニズム解明への端緒を開くことが本研究の大きな目的である。

3. 研究の方法

1. ‘西内小夏’花粉の受粉がヒュウガナツおよび他のカンキツ類の結実率、果実成長並びに果実形質に及ぼす影響

ヒュウガナツ‘西内小夏’の自家不和合性に関する知見を得るため、ヒュウガナツ2系統(‘西内小夏’、普通系ヒュウガナツ(以下

普通系))とハッサク (*Citrus hassaku hort. ex Tanaka*) ‘農間紅八朔’ (以下ハッサク)、スイートスプリング (上田温州 (*Citrus unshiu Marc.*) ×ハッサク) を用いて 2007 及び 2008 年度に交配を行い、受粉区毎に結実率と果実成長を経時的に計測し、果実収穫後には果実形質を調査した。

各受粉区の着果数及び各果実の縦径・横径を受粉 2 週間後より (ただし 2007 年度の横径のみ受粉 4 週間後より) 2 週間毎に収穫時までノギス (DIGMATIC デジタルノギス、Mitutoyo) を用いて経時的に計測した。2007 年度では普通系×‘西内小夏’は 25 番、普通系×ハッサクは 10 番、それ以外の受粉区では 15 番までそれぞれナンバリングした果実の中で樹上に残っているものについて計測を行った。2008 年度ではナンバリングを行ったすべての果実の計測を行った。

果実収穫後に、果実重、果径 (縦径・横径)、可溶性固形物含量 (糖度)、滴定酸含量 (クエン酸含量)、種子数の調査を行った。種子数は完全種子としいなに区別して調査を行った。外観の判別は種子の中央部が萎れて平たくなってしまったものをしいなとし、健全な種子を完全種子とした。

2. 種子の成長段階別の組織観察による、種子のしいな化の発生過程の解明

実験に供試した材料として、2007 年度の受粉後 8、12 週目に‘西内小夏’×‘西内小夏’、‘西内小夏’×ハッサクの果実をそれぞれ 3 果ずつ採取し、果実の中から種子を取り出して、正常種子としいなに区別して種子の形状の調査を行った。また、2008 年に人工受粉を行った果実 (‘西内小夏’×‘西内小夏’、‘西内小夏’×普通系、‘西内小夏’×ハッサク、普通系×‘西内小夏’、普通系×ハッサク) で受粉後 2、4、8、12 週目にサン

プリングしたものを用いた。実験に供試した果実数を第 4 表に示した。果実は採取後直ちに FAA (ホルマリン:75%エタノール:酢酸=1:8:1) で固定して保存した。

各受粉区における受粉後 2、4 週間目の果実をエタノールシリーズに通して脱水後、パラフィンに包埋した。マイクロトームで切片を切り出し、サフラニン・ファーストグリーンで染色後、顕微鏡下で観察した。受粉後 8、12 週目の果実から取り出した種子については、70%エタノールに 20~30 分浸漬した後、透明化液にによって種子を透明化した後、微分干渉顕微鏡で観察を行った。

4. 研究成果

1. ‘西内小夏’花粉の受粉がヒュウガナツおよび他のカンキツ類の結実率、果実成長並びに果実形質に及ぼす影響

まず、普通系ヒュウガナツ、‘西内小夏’、ハッサク、スイートスプリングに‘西内小夏’の花粉をそれぞれ受粉したところ、全ての種子親について収穫果が得られた。一方、‘西内小夏’×普通系は受粉後 10 週目までにすべて生理落果を起こした。ヒュウガナツの自家不和合性が雌ずい側と花粉側の複数の因子に関係していると仮定するならば、この普通系と‘西内小夏’の正逆交雑の結果から、‘西内小夏’は花粉側因子に何らかの異常が発生したと考えられた。また、収穫果の含有種子についてみると、各種子親における‘西内小夏’花粉受粉果は、他の花粉受粉果と比較して完全種子数は有意に減少し、しいなの数は有意に多くなった。また種子親によって、形成された完全種子としいなの比率が異なっていた。

2. 種子の成長段階別の組織観察による、種子のしいな化の発生過程の解明

普通系ヒュウガナツおよび‘西内小夏’の

果実発育中の種子を取り出して観察したところ、種子のしいな化は受粉後 8 週目～12 週目の間に起こっていた。胚発生の組織観察の結果、‘西内小夏’ 受粉果において胚の初期成長が観察されたことから、‘西内小夏’ 花粉受粉果でも受精がおこるものと推察された。しかし、受粉後 8 週目～12 週目にかけて胚の異常発達や胚の消失が確認され、このことが種子のしいな化に影響していると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

- ① 本勝千歳・小坪真沙美・福田友理・濱畑陽水・黒木義一・西脇亜也・鉄村琢哉. ヒュウガナツ ‘西内小夏’ 花粉の受粉による果実形質への影響と不全種子の発生. 園学研 7 別 2. 427. 2008. 園芸学会平成 20 年度秋季大会(三重大学)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本勝千歳 (HONSHO CHITOSE)

宮崎大学・農学部・助教

研究者番号 : 3038157

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

(7) ○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○
○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① 学振太郎、半蔵門一郎、学振花子、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年 (西暦)、査読の有無
- ② 学振太郎、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年 (西暦)、査読の有無
- ③ 学振花子、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年 (西暦)、査読の有無

[学会発表] (計 5 件)

- ①
- ②
- ③

[図書] (計 2 件)

- ①
- ②

[産業財産権]

○出願状況 (計□件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

http://○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

6. 研究組織

(1) 研究代表者

学振 太郎 (GAKUSHIN TARO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：

(2) 研究分担者

学振 花子 (GAKUSHIN HANAKO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：

学振 次郎 (GAKUSHIN JIRO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：

学振 三郎 (GAKUSHIN SABURO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：

(3) 連携研究者

学振 四郎 (GAKUSHIN SHIRO)
○○大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：