

令和 6 年 5 月 14 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06017

研究課題名（和文）自家和合性を獲得した四倍体ロコトウガラシの自家受粉における着果不良の要因解明

研究課題名（英文）Elucidation of Factors to Fruit Set Failure in Self-Pollination of Tetraploid Rocoto Peppers Obtaining Self-Compatibility.

研究代表者

宮島 郁夫（Miyajima, Ikuo）

九州大学・熱帯農学研究センター・学術特定研究者

研究者番号：20182024

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：南米アンデス地方原産のロコトウガラシ（以下ロコト）は果皮に水分を多く含み、新鮮果実を利用できる新規な辛味トウガラシだが、園芸作物として利用するには本種のもつ自家不和合性の打破が課題となっていた。これに対し、コルヒチン処理により得られた四倍体ロコトは自家和合性を示すことが明らかとなったが、自家受粉での着果率が低いことが新たな課題となっていた。

本研究の結果、ロコトは高温条件下で花粉発芽が抑制されることが明らかになり、このことが自家受粉での着果率が低い主要な要因と考えられた。また、適切な温度条件下であれば自家受粉で65%近くの着果率を示す四倍体個体があることから、四倍体ロコトの実用性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、四倍体ロコトの自家受粉での着果不良の主な要因は、自家不和合性に関するSハプロタイプをヘテロ接合でもつ花粉だけが受精にかかわれない（受精可能な花粉量が少ない）ためではなく、環境要因（高温）である可能性が示された。

ロコトは冷涼な気候を好むので、耕作放棄地の多い我が国の中山間地での栽培に適した作物といえる。さらに、四倍体ロコトの新鮮果実は果皮が厚くジューシーなため、ドレッシングや酢漬（ピクルス）等の加工用トウガラシとしての利用が期待される。したがって、農産物の6次産業化を目指す地域では今後注目される作物と思われる。

研究成果の概要（英文）：Rocoto pepper (rocoto), native to the Andes region of South America, is a new pungent pepper with high water content in its pericarp, which allows the use of fresh fruits. The problem was to overcome the self-incompatibility of this species in order to use it as a horticultural crop. In contrast, tetraploid rocoto obtained by colchicine treatment was found to be self-compatible, but the low self-pollination rate was a new problem. The results of this study revealed that pollen germination of rocoto was suppressed under high temperature conditions, which was considered to be the main reason for the low self-pollination rate. The tetraploid rocoto showed a self-pollination rate of nearly 65% under appropriate temperature conditions, indicating the practicality of tetraploid rocoto.

研究分野：園芸学

キーワード：四倍体 ロコトウガラシ 高温障害 自家不和合性 自家和合性 コルヒチン処理

1. 研究開始当初の背景

ナス科に属するトウガラシ (*Capsicum*) 類は約 25 種の野生種と, *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, および *C. pubescens* の 5 種の栽培種から構成されている. これら 5 種の栽培トウガラシのなかで, 「鷹の爪」や「ハラペーニョ」は *C. annuum*, 「八バネ口」は *C. frutescens*, 「島とうがらし」は *C. frutescens* にそれぞれ属するが, *C. pubescens* は rocoto pepper (ロコトトウガラシ, 以下ロコト) と呼ばれ, おもに南米アンデス地方のペルーやボリビアなどで栽培されている.

ロコトの花は紫色, 茎や葉に細かい柔毛が密生しており, 成熟した果実は鮮やかな赤, オレンジ, または黄色. 果形はピーマンに似たベル状で, 他のトウガラシ類とは大きく異なる特徴をもっている. 完熟したロコト果実の辛味は強いが, 一般的なトウガラシ類の主要な辛味成分がカプサイシンとジヒドロカプサイシンで, 喉を刺すような刺激的な辛さであるのに対し, ロコト果実にはノルジヒドロカプサイシンが多く含まれているため, 爽やかな辛さが特徴である. さらに, ロコトの果皮は厚く水分が多く含まれており, サラダなどのトッピングやドレッシングとしての利用が期待できる新規な辛味トウガラシといえる.

ところで, *C. annuum* 品種群や *C. frutescens* 品種群などでは, 自家受粉により容易に果実が得られるが, ロコトは日本では開花してもほとんど結実しないといわれている (廣瀬, 1994). 研究代表者らはロコトの難着果性について調査し, 本種は自家受粉では着果できない自家不和合性のトウガラシであることを明らかにした (宮島ら, 2012). しかし, トウガラシ類の実用栽培において自家不和合性は不利な性質であり, 園芸作物としてロコトを利用するためには自家不和合性の打破が求められていた.

一部のバラ科やナス科植物において, 自家不和合性を示す二倍体を倍加して得られた四倍体では, 自家不和合性が打破されて自家和合性を示す現象 (競合相互作用) が知られている.

これまでに, 研究代表者らは二倍体のロコトの種子をコルヒチン処理することによって複数の四倍体の獲得に成功した. また, これらを用いて自家受粉を行ったところ, 四倍体ロコトは自家和合性を示すことが明らかとなったが, 自家受粉による着果率は最高で 56.5% に留まった.

2. 研究の目的

果菜類の生産において安定的な着果は農業生産上最も重要な課題である. そのため, 人工的な受粉処理が必要となる他家受粉性の作物栽培では, 受粉を媒介する昆虫の利用が不可欠となり, 労力およびコスト面で大きな負担が生じる. また, 受粉に適さない環境においては, 安定的な着果のために単為結果性品種の利用が望まれるが, その育成は容易ではない.

研究代表者らが育成した四倍体ロコトは自家和合性を示したことから, これは新規な辛味トウガラシとして高いポテンシャルを持つと考えられるが, 自家受粉での着果率は他家受粉での着果率より有意に低かった. したがって, 四倍体ロコトの自家受粉での着果不良の要因解明と打破は農業生産上克服しなければならない課題である.

ロコトの自家不和合性に関する遺伝子は明らかにはされていないが, 四倍体ロコトの自家不和合性の遺伝子型を $S_1S_1S_2S_2$ と仮定すると, 四倍体ロコトが生産する花粉の遺伝子型は S_1S_1 , S_2S_2 , および S_1S_2 の 3 種類となる. これら 3 種類の花粉はすべて柱頭上で発芽するが, 1 種類の S ハプロタイプをホモ接合でもつ花粉 (S_1S_1 と S_2S_2) は花粉管の伸長が花柱内で停止し受精できない. しかし, 2 つの異なる S ハプロタイプをヘテロ接合で持つ花粉 (S_1S_2) では花粉管の伸長阻害は起こらず, 花粉管は子房まで到達して受精が可能となる. したがって, 柱頭上で発芽した花粉の一部だけが受精にかかわることになるので, 花粉量が十分でない場合や, 花粉が正常に発芽・伸長しない場合は着果不良となる可能性がある. また, 倍加により雌ずいなどの器官が肥大化・奇形化することも四倍体ロコトの着果不良の原因となる可能性がある. さらに, 植物の茎頂分裂組織は L1, L2, L3 層に分かれており, 生殖細胞は L2 層に由来するので, L2 層が倍加されていない層状キメラでは S_1S_2 の花粉は生産されず, その場合も着果不良となることが考えられる.

以上のことから, 四倍体ロコトの自家受粉での着果不良の原因を, 雄性側の要因 (花粉量, 花粉稔性, 花粉発芽および花粉管伸長), 雌性側の要因 (雌ずいの形態と内部構造), および倍数性の要因といった多面的方向から解明を試みたい.

本研究は, 四倍体ロコトにおける自家受粉での着果不良の要因解明とその打破を目的とし, 最終的には実用栽培に適した自家和合性で豊産性の四倍体ロコト品種の育成を目指している.

3. 研究の方法

(1). 四倍体ロコトの作出

国立研究開発法人農業生物資源研究所から分譲を受けた 3 系統の二倍体ロコト (No.37322, No.37323 および No.37324) のうち, 本課題の実施前に No.37324 と No.37323 については種子へのコルヒチン処理により四倍体を育成済みだったが, No.37323 については四倍体が得られていなかった. そこで, No.37323 の種子に対するコルヒチン処理を行い四倍体の獲得を試みた.

まず、コルヒチン処理前の No.37323 の種子を 100ppm のジベレリン溶液に 24 時間浸漬した。ジベレリン処理後種子を水洗し、DMSO を含むコルヒチン溶液に浸漬した。コルヒチン溶液の濃度は 0.025, 0.05 および 0.1% とし、処理時間は 24, 48 および 72 時間とした。種子は各処理区 34~35 粒ずつを供試した。コルヒチン処理後は水洗したのち九州大学伊都キャンパス無加温ガラス温室内でパーミキュライトを充填したプラスチック製育苗箱に播種した。発芽した実生の本葉が展開したのちそれぞれの個体から成葉を採取してフローサイトメーターで核の蛍光強度を測定し、ピークの蛍光強度により倍数性を判定した。標準試料には二倍体ロコトを用いた。

(2). 四倍体ロコトの自家受粉での着果率と果実の形質調査

九州大学実験生物環境制御センターのファイトロン (20°C, 自然日長条件), もしくは九州大学農学部無加温ガラス温室で栽培した 3 系統の四倍体ロコト 13 個体を用いて、開花直前の花蕾に袋掛けをし、開花・開葯後にピンセットで自家受粉したのち再び袋掛けをした。交配 10 日後に着果を確認した。ファイトロンでの自家受粉は 2021 年 1 月 25 日から、無加温ガラス温室での自家受粉は 2021 年 3 月 29 日から行った。

上記の自家受粉で得られた完熟果実を収穫したのち果実の諸形質(果実重, 果実長, 果皮厚, 1 果実当たりの種子数, 1 果実当たりの種子重)を調査した。対照として他家受粉で得られた二倍体ロコトの果実形質も調査した。材料の関係から本調査は No.37322 および No.37324 について実施した。

(3). 四倍体ロコトウガラシの未熟果実に対する着色促進処理

これまで育成された四倍体ロコトは赤色果実 2 系統と黄色果実 1 系統で、いずれも果実重は 20g 前後、果肉の辛みは強いものの水分が多く、今後、さまざまな利用が期待される。ロコトは受粉から果皮着色が完了する果実の収穫期まで 80~90 日を必要とする。カラーピーマンでは、開花から収穫まで 65 日以上必要であるため、果実の着色開始期に収穫し、光照射により着色を促進する技術が開発されている(古野ら, 2019)。ロコトにおいても、着色前の緑色果実を収穫し、人為的に果実の着色を促進できれば株の着果負担が軽減され、その結果、収量の増加が期待できる。そこで、早期に収穫した緑色果実の着色に対する温度と光照射の効果について調査した。

四倍体ロコト No.37322 を材料として、2021 年 3 月から 10 月に九州大学実験生物環境制御センターのガラス室 (20°C, 自然日長条件下) で鉢植え栽培した。受粉から約 55 日後の緑色果実を収穫したのち、果実 1 個ごとにポリエチレン袋に入れて密閉した。その後、20, 25, 30°C に設定したインキュベーター内で全日長条件下(明条件), または果実を入れたポリエチレン袋をアルミホイルで包装した暗黒条件(暗条件)下に置いた。試験開始後 5 日ごとに果皮色を色差計(NF-333, 日本電色製)で測定した。また、着色完了時における果実硬度を硬度計(KM-5 型, 藤原製作所製)で測定した。

(4). 四倍体ロコトの自家受粉における着果不良の要因解明

二倍体ロコトを材料として、九州大学実験生物環境センターの 20, 25, 30°C のファイトロン内で栽培し、花芽の観察と花粉発芽を調査した。また、福岡県内の 7 か所に露地栽培試験地を設定し、それぞれの試験地において四倍体ロコト No.37322 と No.37324 の栽培試験を行った。

4. 研究成果

(1). 四倍体ロコトの作出

コルヒチン濃度 0.05%, 72 時間処理区で 1 個体と、コルヒチン濃度 0.1%, 24, 48 および 72 時間処理区でそれぞれ 3, 6 および 6 個体の四倍体を獲得することができた。得られた総計 16 個体の四倍体ロコト No.37323 のうち 6 個体はその後開花し自家受粉による採種を行うことができた。

(2). 四倍体ロコトの自家受粉での着果率と果実の形質調査

調査した 3 系統 13 個体の四倍体ロコトのうち、1 個体を除く他のすべての個体で自家受粉での着果が確認されたが、着果率は 3 個体を供試した No.37322 で 39.2% から 62.2%, 8 個体を供試した No.37324 で 11.8% から 64.3% と個体によって大きく異なっていた(第 1 表)。

これらのなかで、No.37323 個体番号 2 のように自家受粉ではまったく着果しなかった個体がある一方、No.37322 個体番号 3 や No.37324 個体番号 3 のように自家受粉での着果率が 62.2% および 64.3% の個体が見られたことから、四倍体ロコトの自家受粉における着果率は個体により様々であり、多くの個体を栽培して調査すれば着果率の高い系統を育成・選抜することは可能と思われる、ロコトの実用栽培に向けての優良品種育成の可能性が示された。

系統番号	個体番号	受粉花数	着果数	着果率(%)
No.37322	1	34	20	58.8
	2	33	13	39.4
	3	45	28	62.2
No.37323	1	23	10	43.5
	2	11	0	0.0
No.37324	1	17	2	11.8
	2	41	18	43.9
	3	42	27	64.3
	4	44	16	36.4
	5	32	10	31.3
	6	41	11	26.8
	7	38	17	44.7
	8	47	21	44.7

果実形質の調査の結果、果実重と果実長はいずれも四倍体より二倍体のほうが有意に大きな値を示した(第2表)。四倍体ロコト No.37324 の果皮厚は二倍体と有意な差は認められなかったが、四倍体 No.37322 の果皮厚は二倍体と比較して有意に厚かった。トウガラシ類の可食部(果皮)は外果皮、中果皮、内果皮から構成されているが、果皮の横断切片を顕微鏡で観察したところ、四倍体では内果皮が二倍体よりも有意に厚くなっていた。さらに、二倍体の果実では中果皮から外果皮にかけて細胞が小さくなっていたが、四倍体では外果皮においても中果皮と同程度の大きさの細胞から構成されており、これら内果皮と外果皮の細胞の肥大化が果皮厚の増大に参与したと考えられた。1 果実当たりの種子数は四倍体ロコトのほうが二倍体よりも少なかったが、四倍体では二倍体よりも種子が大きく種子重も重かった。なお、四倍体の自家受粉で得られた種子は正常に発芽し生育した。前述のとおり、果実重、果実長は二倍体ロコトの方が四倍体よりも有意に大きな値を示したが、今回の栽培はすべて鉢植えで行っていることから、改めて露地栽培での試験を行う必要があると思われる。

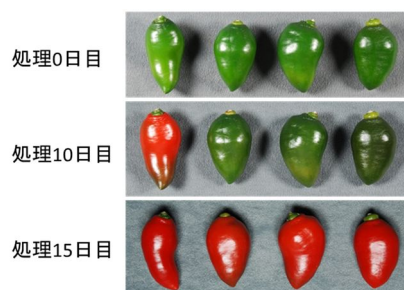
系統番号	倍数性	調査果実数	果実重(g)	果実長(mm)	果皮厚(mm)	1果実当たりの種子数	1果実当たりの全種子重(g)
No.37322	2x	33	20.0	62.7	4.3	54.1	1.2
	4x	56	16.8	50.0	6.0	14.9	0.4
有意差			**	**	**	**	**
No.37324	2x	27	28.4	51.0	5.3	60.0	1.0
	4x	48	17.5	47.4	5.1	12.2	0.3
有意差			**	*	ns	**	**

t検定により**は1%、*は5%水準で有意差があることを示し、nsは有意差がないことを示す。

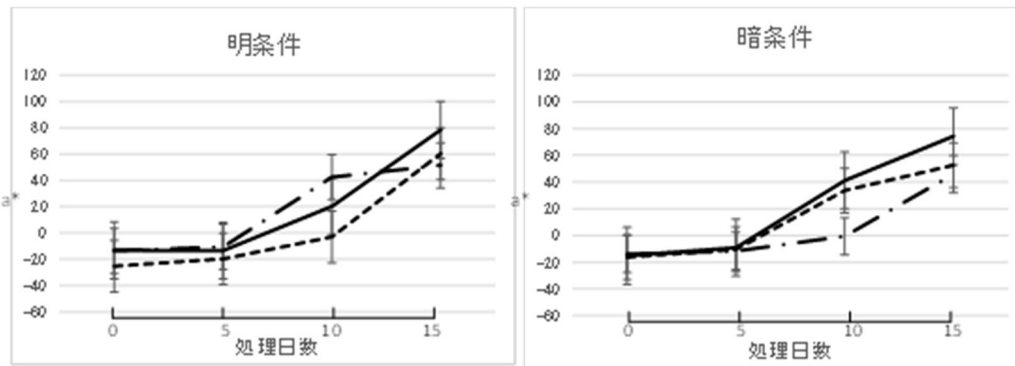
(3). 四倍体ロコトの未熟果実に対する着色促進処理

四倍体ロコトトウガラシの果実は受粉後25日目頃までは急激に肥大するが、その後の肥大はゆるやかとなり、約50日後には肥大が停止した。通常の栽培では、果実の着色は果実肥大の停止後、約1か月後に始まるが、果実肥大が停止した緑色果実を収穫して着色促進処理を行ったところ、明および暗条件のどちらとも処理開始から10日後には着色が始まり、15日後には鮮やかな赤色となった(第1および第2図)。なお、温度区間での有意な差は認められなかった(第2図)。着色促進処理後のロコトトウガラシ果実の硬度を測定したところ、通常栽培で収穫した完熟果実との間に有意な差は認められなかった。

以上のことから、早期に収穫したロコトトウガラシの緑色果実に対して、明暗どちらの条件においても、また、20~30℃のいずれの温度条件下でも着色促進の効果があることが明らかとなった。



第1図 四倍体ロコト No.37322 果実の25℃暗黒条件下における果実着色



第2図 四倍体ロコトウガラシ No. 37322 果実の果皮色 (a*値) に対する温度と光照射の効果

— · — · — · 20°C, ————— 25°C, - - - - - 30°C

(4). 四倍体ロコトの自家受粉における着果不良の要因解明

二倍体ロコトでは 20°C 恒温条件下に比べて、25 および 30°C 恒温条件下では花芽の発育停止が観察されるとともに、高温条件下ほど花粉発芽率の低下が認められた。

一方、四倍体ロコトの露地栽培試験では苗の準備が遅れたため植付け時期が5月初旬となり、着果時期が盛夏の高温期と重なった。その結果、栽培試験を実施したほとんどの試験地で果実を得ることができなかった。しかしながら、標高が高く比較的冷涼な試験地では9月以降に多くの着果が見られた。先の二倍体ロコトの試験の結果から、ロコトは高温条件下では花芽の発育停止や花粉の発芽不良が起こることが明らかとなっており、四倍体ロコトにみられる着果不良の主な要因は栽培環境（高温）である可能性が示唆された。

本研究では、四倍体ロコトでみられる着果不良の要因解明と、ロコトの実用栽培に向けた自家和合性をもつ優良系統の育成および収穫後の着色促進処理法の開発に取り組んだ。

先述のように、ナス科やバラ科の一部の植物では、自家不和合性を示す二倍体を倍加して得られた四倍体は自家和合性を示す場合がある。これは自家不和合性に関する *S* ハプロタイプをホモ接合でもつ花粉 (S_1S_1 と S_2S_2) は花粉管の伸長が花柱内で停止するため受精できないが、2つの異なる *S* ハプロタイプをヘテロ接合で持つ花粉 (S_1S_2) であれば花柱内で花粉管を伸長できるためと考えられている。したがって、柱頭上で発芽した花粉の一部だけが受精にかかわることになるので、花粉量が十分でない場合は着果不良となる可能性がある。四倍体ロコトでみられた自家受粉での着果不良もこれが主な原因かと思われた。しかしながら、四倍体ロコトの自家受粉で得られた種子数は二倍体の他家受粉よりは少ないものの、種子は大きく十分に発達しており稔性も認められたため、受粉の際の花粉量が少ないことが着果不良の要因とは考えにくい。

花粉発芽率は受精を行う上できわめて重要であり、これが低下すると受精の成功率も低下する。タカノツメなどのトウガラシ (*C. annuum*) では高温下で花粉発芽率の低下がみられ、これが収量の低下の一因となっている (高垣ら, 1995)。冷涼な気候を好むロコトでも高温期には着果率の低下が報告されているが (松島ら, 2006)、今回の研究でも同様の傾向が認められた。したがって、四倍体ロコトでの着果不良の主な要因は高温である可能性が高いと思われた。

高温期に着果率の低下が認められた *C. chinense* では、 F_1 を作成することで着果率の低下を回避できる可能性が示されていることから (Yamazaki and Hosokawa, 2019)、四倍体ロコトにおいても、 F_1 を育成すれば他家受粉と同程度の着果率を示す個体が得られる可能性がある。

<引用文献>

- 古野伸典・吉田千恵・松永 啓. 夏秋型カラーピーマン栽培における収穫後の光照射が時期別の着色促進効果と収量性に及ぼす影響. 園学研 18: 127-132. (2019)
- 廣瀬忠彦. トウガラシ. P. 1574. 園芸植物大事典. 小学館. (1994)
- 松島憲一・南竜二・南峰夫・根本和洋. 長野県におけるロコトウガラシ (*Capsicum pubescens*) の生育特性. 園学雑別 (2) 75: 260. (2006)
- 宮島郁夫・衛藤素子・鬼木 清. ロコトウガラシ (*Capsicum pubescens*) の落花要因の解明. 園学九研集. 20: 54. (2012)
- 高垣美智子・柿沼瑞穂・伊東正. トウガラシ 3 品種における花粉の稔性と発芽に対する高温処理の影響. 熱帯農業. 39:247-249. (1995)
- Yamazaki, A. and M. Hosokawa. Increased percentage of fruit set of F_1 hybrid of *Capsicum chinense* during high-temperature period. Scientia Horticulturae. 243: 421-427. (2019)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 宮島郁夫	4. 巻 229
2. 論文標題 ロコト 古代から伝わるジューシーな激辛トウガラシ	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 FOODS & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN	6. 最初と最後の頁 84-90
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.34457/ffij.229.2_084	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮島郁夫・藤原菜々子・水ノ江雄輝・尾崎行生
2. 発表標題 早期に収穫した四倍体ロコトウガラシ（ <i>Capsicum pubescens</i> ）の緑色果実の着色に対する温度と光照射の効果
3. 学会等名 令和4年度園芸学会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤原菜々子・水ノ江雄輝・宮島郁夫・尾崎行生
2. 発表標題 コルヒチン処理により得られた四倍体ロコトウガラシ（ <i>Capsicum pubescens</i> ）の自家和合系統における果実形質
3. 学会等名 令和4年度園芸学会春季大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究 分 担 者	水ノ江 雄輝 (Mizunoe Yuki) (50759206)	九州大学・農学研究院・助教 (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------