

令和元年5月17日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07283

研究課題名(和文) アケビの後発型自家不和合性機構の解明と果実生産に及ぼす影響

研究課題名(英文) The study of the late-acting self-incompatibility mechanism and its effects on the fruit production in Akebia

研究代表者

平 智 (Taira, Satoshi)

山形大学・農学部・教授

研究者番号：20167480

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ミツバアケビ果実生産に対する自家不和合性の影響を明らかにすることを目的として、一連の受粉試験を行った。受粉雌蕊の花粉管を観察したところ、自家花粉管は胚珠付近にまで到達していたことから、ミツバアケビは後発型自家不和合性を示すものと考えられた。ミツバアケビの6栽培系統間における交雑(不)和合性を調査したところ、いずれの系統も自家不和合であること、一部の交雑は不和合であることが明らかになった。交雑和合な系統の雄花を用いて人工受粉を行った際の結実率は30%以上であったが、開放受粉での結実率は1%以下であった。また、自家花粉を25%以上含む混合花粉を受粉すると、結実が阻害されることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ミツバアケビ栽培系統間の交雑(不)和合性はこれまで調査されていなかったが、本研究によって初めて明らかにされた。また、人工受粉および自然受粉時の着果率を調査することで、ミツバアケビ生産における人工受粉の重要性を改めて示した。加えて、受粉時の自家花粉の混入が着果を阻害することを示した。これらの成果は、ミツバアケビの受粉管理を確立するうえでの重要な知見となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：To elucidate effects of the self-incompatibility on the fruit production in three-leaf akebia species, a series of pollination test was conducted. The pollen tubes was observed to reach to the vicinity of ovules in self-pollinated pistils, indicating that three-leaf akebia exhibits the late-acting self-incompatibility. The cross-(in)compatibility among 6 cultivated akebia lines was tested. All of 6 lines were self-incompatible, and several crosses were incompatible. Mixed pollination containing self-pollen more than 25% resulted in less fruit-set.

研究分野：果樹園芸

キーワード：アケビ属 自家不和合性 交雑(不)和合

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

アケビ (*Akebia* spp.) は東アジアを原産とするアケビ科のつる性植物であり、国内では特産果樹の1つに位置づけられている。日本にはミツバアケビ種 (*A. trifoliata* (Thunb) Koidz.)、アケビ種 (*A. quinata* Decne.) およびそれらの種間雑種であるゴヨウアケビ種 (*A. lobata* Decne. var. *pentaphylla* Makino) が自生している (足立、1951 園芸学研究抄録; Li ら、2010 *HortScience*)。アケビの商業栽培が始まったのは比較的近年であり、昭和50年代に山形県の生産者が外観の良好な果実を少量関東方面に出荷したことがきっかけであったとされている (阿部、1998 果実日本)。現在、全国のアケビ生産量は59.8 tと小規模であるものの、朝日町、白鷹町および天童市などの主産地を有する山形県は全国生産量の9割を占めている (農林水産省、2015)。産地では比較的果実の大きいミツバアケビ種が主に栽培されており、成熟期の早晚、果形、着色の良否ならびに裂果の程度といった基準に基づいて優良系統の選抜が各産地で独自に進められている (堀込、2010 果実日本)。

アケビ属は雌雄異花同株であり、花序は総状である。葉腋に混合花芽を着生し、典型的な花穂では基部に2花程度の雌花を着生し、先端部には多くの雄花を着生する。さらにアケビは離生心皮であり、雌花あたりの雌ずい数は2~10とばらついてはいるが、受精が起こればそれぞれの雌蕊が果実となる。このように、ミツバアケビは潜在的に高い果実生産性を有しているにも関わらず、栽培現場では結実の不安定さが問題となっている。この結実不安定はミツバアケビの有する自家不和合性に起因していると考えられている。自家不和合性とは、雌ずいが自己や近縁個体の花粉を認識して拒絶する遺伝的機構である。自家不和合性は1つないしは少数の遺伝子座に座する複対立遺伝子 (S 遺伝子) によって支配されており、S 遺伝子によって決定される雌ずいおよび花粉の特異性が一致した際には受精が成立しない。他の自家不和合性を有する果樹と同様に、ミツバアケビ栽培においても互いに交雑和合な系統を複数混植することが勧められている (堀込、1999 農業技術体系)。しかしながら、ミツバアケビ栽培系統間の交雑 (不) 和合性についてはこれまでまとまった報告がなされていない。

また、ミツバアケビの自家不和合性機構およびその果実生産に対する影響はほとんど明らかとなっていない。自家不和合性機構はS遺伝子による花粉の特異性の決定様式に基づく分類によって配偶体型と孢子体型の2つに、自己花粉管が拒絶されるタイミングによって柱頭阻害型、花柱阻害型、遅延作用型の3つに分類される。ミツバアケビの近縁種であるアケビ種の自家不和合性は遅延作用型に分類されるものであることが報告されていることから (Kawagoe・Suzuki、2005 *Functional Ecology*)、ミツバアケビ種の自家不和合性もまた遅延作用型である可能性が推察される。遅延作用型自家不和合性を示す植物種の中には受粉した不和合花粉が和合花粉による受精を部分的に阻害することが知られている (Gibbs ら、2004 *Annals of Botany*)。よって、ミツバアケビの自家不和合性が遅延作用型であったならば、自家花粉は着果に効果的でないばかりか、結実を阻害する可能性も疑われる。

## 2. 研究の目的

上述のとおり、ミツバアケビ果実の安定生産を実現するためには、ミツバアケビ系統間の交雑 (不) 和合性を評価するとともに、その自家不和合性機構について調査を行い、適した受粉管理指針を立てる必要がある。そこで、本研究では1) ミツバアケビ栽培系統間の交雑 (不) 和合性を評価するとともに、2) 自家花粉および他家花粉の混合受粉、および自家花粉の追受粉が結実に与える影響、3) ミツバアケビにおける有効受粉期間を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1) 系統間の交雑 (不) 和合性の評価

山形県西村山郡朝日町のミツバアケビ生産圃場に植栽されているミツバアケビ系統、‘秋華’、‘パック’、‘ヨシ2’、‘甲晩’、‘ふじ紫’ および ‘初ひめ’ を1樹ずつ試験に供試した。3~10の雌ずいを有する雌花を無作為に選び、受粉試験に供試した。4月下旬に開花前の雌花に対して袋掛けを行い、袋掛けの一週間後に雌花からがくを切除し、同日に開花していた雄花を用いて人工受粉を行った。摘果を除く栽培管理については、朝日町あけび生産組合の慣行に従った。摘果は結実率の追跡調査を終えた7月上旬に1果そうあたり2、3果になるよう行った。

2014年の試験ではふじ紫を花粉親とする交配を除いたほぼすべての組合せの交配を行い、2015年の試験ではふじ紫を花粉親とする交配および2014年の試験結果のみでは判断できなかった交配を行った。1交雑組み合わせにつき、4雌花以上を試験した。着果率は1雌花における着果数を受粉時の雌ずい数で除して求めた。

2014年および2015年ともに、各交配組合せにつき無作為に5果を収穫した。

### 2) 自家花粉および他家花粉の混合受粉、および自家花粉の追受粉が結実に与える影響

‘ふじ紫’ 8樹、および ‘秋華’ を供試した。なお、人工受粉ならびに摘果を除く栽培管理については、朝日町あけび生産組合の慣行に従った。

‘秋華’ を他家花粉親として用い、‘ふじ紫’ に対する受粉試験を行った。自家花粉を50%、25%および10%の割合で含む自家他家混合花粉の受粉 (自家花粉割合50%、25%、および10%) を行うとともに、追受粉試験として自家受粉1日後の他家受粉 (先行自家受粉) および他家受

粉1日後の自家受粉(後続自家受粉)を行った。花穂に対する袋掛けは実験1と同様に行った。受粉に用いた花粉は、成熟した開葯前の雄花を約2日間シリカゲルとともに室温においたのち、乳棒ですりつぶし、目開き250 $\mu$ mのふるいにかけて後、さらに目開き106 $\mu$ mのふるいにかけて調整した。

### 3) ミツバアケビ‘ふじ紫’の有効受粉期間

‘ふじ紫’の成木3樹を用いて試験を行った。供試した‘ふじ紫’の雌花は、自然受粉を防ぐために開花前日に全てのがくを切除した。4月下旬に開花した‘ふじ紫’の雌花に対して、開花日、開花後2日、開花後4日、開花後7日、開花後10日および開花後14日に受粉を行った。受粉に用いた花粉は、樹上で開葯しはじめた雄花を収集し、はたき落とすことによって調整した。受粉は薬匙を用いて行った。収穫熟度に達した果実を各受粉日ごとに15果収穫し、種子数および不完全種子数を調査した。開花後14日受粉については、残った果実が15果に満たなかったため、調査果数を10果とした。

## 4. 研究成果

### 1) 系統間の交雑(不)和合性の評価

調査した6系統全てにおいて、自家受粉を行った雌花は開花後3-4週の間にはほぼ全てが落果した。このことから、ミツバアケビでは開花後5週以降の結実状況から交配の(不)和合を判別できるものと考えられた。開花後6週における結実率をみると、‘甲晩’を花粉親ないしは種子親とするいくつかの交雑組み合わせでは着果が認められず、また‘ふじ紫’×‘甲晩’については16.7 $\pm$ 11.3%と低い結実率を示した。これらを除く交雑組み合わせでは40.0 $\pm$ 16.7%~100 $\pm$ 0.0%と高い結実率を示した。また、各交雑組み合わせにおける結実率と収穫果実中の種子数には相関は認められなかった(P=0.06)。これらの結果から、今回調査したミツバアケビの6栽培系統はいずれも自家不和合性を示し、多くの場合は互いに交雑和合性を示すものの、組み合わせによっては交雑不和合となる可能性が示唆された(第1表)。

**第1表** 2014~2016年の調査から推定したミツバアケビ系統の交雑(不)和合性

系統	花粉親					
	秋華	バック	ヨシ2	甲晩	ふじ紫	初ひめ
秋華	I <sup>z</sup> (n=7) <sup>y</sup>	C (n=8)	C (n=4)	C (n=6)	C (n=8)	C (n=6)
バック	C (n=6)	I (n=6)	C? (n=3)	C (n=8)	C (n=6)	C (n=6)
ヨシ2	C (n=7)	C (n=4)	I (n=6)	I (n=11)	C (n=8)	C (n=4)
甲晩	C (n=9)	C (n=6)	I (n=4)	I (n=10)	I (n=5)	I (n=4)
ふじ紫	C (n=6)	C (n=6)	C (n=6)	C? (n=6)	I (n=6)	C (n=4)
初ひめ	C (n=6)	C (n=7)	C (n=5)	C (n=4)	C (n=5)	I (n=16)

<sup>z</sup> IおよびCはそれぞれ交雑不和合および交雑和合を示す

<sup>y</sup> nは交配雌花数を表す

### 2) 自家花粉および他家花粉の混合受粉、および自家花粉の追受粉が結実に与える影響

自家受粉、または他家受粉を行った‘ふじ紫’雌ずいを顕微鏡観察したところ、受粉後7日の時点で両者ともに花粉管は子房に到達していた。このことからミツバアケビはアケビ種同様遅延作用型自家不和合性を示すことが示唆された。

‘ふじ紫’の雌花に対して、自家花粉と和合花粉(‘秋華’)の混合花粉(自家花粉割合50%、25%、10%)を受粉した。いずれの受粉処理においても、着果率は人工受粉後18日から急激に低下し、人工受粉後32日ごろからはほぼ横ばいになった。人工受粉後60日の着果率についてみると、無受粉区では1.4%(n=15)、自家受粉では0%(n=15)、他家受粉では32.7%(n=15)であったのに対し、混合受粉の自家花粉割合50%、25%および10%ではそれぞれ着果率が1.6%(n=16)、7.1%(n=15)、および15.1%(n=15)だった。自家花粉割合10%を除く混合受粉では、人工受粉後32日以降で他家受粉よりも着果率が有意に低くなった。追受粉試験についてみると、人工受粉後60日の着果率は先行自家受粉では0%(n=15)および後続自家受粉では7.2%(n=16)であり、いずれも人工受粉後25日以降、他家受粉よりも着果率が有意に低くなった。これらの結果から、ミツバアケビの自家不和合性において、自家花粉は着果を阻害する可能性が推察された。

### 3) ミツバアケビ‘ふじ紫’の有効受粉期間

開花当日～7日の‘ふじ紫’雌花約50花(200雌ずい以上)について自然受粉時の結実を調査したものの、結実は認められなかった。この結果はミツバアケビの安定生産における人工受粉の重要性を示すものであった。次に、‘ふじ紫’の有効受粉期間を調査するため、開花後14日までの雌花を対象に人工受粉を行った。開花後4日までの‘ふじ紫’雌花に受粉を行うと、受粉後63日の着果率は85%以上となった。一方、開花後7日の雌花に受粉を行った場合の着果率は60%弱となり、開花後10日の雌花では約30%、開花後14日の雌花では約10%となった。収穫果実の種子数を調査したところ、種子数は開花日受粉が最も多くなった(212.2±8.9)一方で、最も少なかったのは開花後14日であった(144.0±14.0)また不完全種子については、開花後14日受粉が最も多かった(33.7±6.4)一方で、開花日受粉が最も少なかった(5.4±1.1)。これらの結果から、受粉が遅れると種子の発育に異常をきたし、着果率が低下する可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 2件)

松本大生・渡邊勇紀・田口 将・平 智.山形県におけるミツバアケビ栽培系統の交配和合性.園芸学会平成28年度春季大会.2016年3月26、27日.東京農業大学農学部 厚木キャンパス(厚木市).

伊藤晃平・平 智・松本大生.ミツバアケビにおける有効受粉期間の調査ならびに人工受粉方法の検討.園芸学会平成31年度春季大会.2019年3月23、24日.明治大学農学部 生田キャンパス(川崎市).

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名:松本 大生

ローマ字氏名:Daiki Matsumoto

所属研究機関名:山形大学

部局名:農学部 食料生命環境学科

職名:准教授

研究者番号(8桁):30632129

研究分担者氏名:池田 和生

ローマ字氏名:Kazuo Ikeda

所属研究機関名:山形大学

部局名:農学部 農学部附属やまがたフィールド科学センター

職名:准教授

研究者番号(8桁):80555269

### (2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。