

平成 22 年 5 月 21 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19405019

研究課題名（和文） 無核性カンキツの探索とその起源に関する研究

研究課題名（英文） Study on origin and survey of seedless citrus

研究代表者

北島 宣 (KITAJIMA AKIRA)

京都大学・農学研究科・教授

研究者番号：70135549

研究成果の概要（和文）：カンキツクロロプラスト DNA 解析により、調査した中国在来カンキツの多くはマンダリンタイプであり、日本在来カンキツではウンシュウミカンとコミカンのみがマンダリンタイプであった。SSR 解析の結果、日本のコミカンは中国の‘南豊蜜橘’由来と考えられた。調査した中国在来カンキツ約 80 系統のうち、無核とされる品種のほとんどが少核であり、A タイプ種子を形成するものは認められなかった。このことから、‘無核紀州’は日本で発生した可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The chloroplast DNA analysis of our investigated accessions indicates that only *Citrus unshiu* and *C. kinokuni* have a mandarin type cytoplasm in Japanese native citrus, while most of Chinese native citrus have a mandarin type cytoplasm. The results of a SSR analysis suggest that *C. kinokuni* would be derived from “Nanfeng miju”, Chinese native mandarin. The most of Chinese native seedless cultivars are a few seeded type and no “A type seed” was found in about 80 Chinese native citrus investigated. These results suggest that ‘Mukaku Kishu’ is originated in Japan.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2008年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2009年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
年度			
年度			
総計	11,600,000	3,480,000	15,080,000

研究分野：果樹園芸学

科研費の分科・細目：園芸・造園学

キーワード：カンキツ、無核性、遺伝子、類縁関係

## 1. 研究開始当初の背景

カンキツは世界最大の果樹産業であり、カンキツの育種において、無核性は最も重要な形質のひとつである。無核性の発現には、雌性不稔性、雄性不稔性、自家不和合性、花柱

における花粉管伸長抑制、受精後の胚の早期発育停止、三倍体による種子形成抑制などの多くの要因が関与している。そのうち、雄性不稔性や自家不和合性の形質では、他家受粉により種子が形成されるため、安定した無核

果実の生産は困難である。また、三倍体では受精後の種子はやや発育するため、食感として無核と感じられない場合もある。わが国の代表的な無核性カンキツはウンシュウミカンであるが、申請者ら（山崎・北島ら、2003）はこれが雌性不稔性と受精後の胚の早期発育停止の2要因に起因していることを明らかにした。また、高知県で発見された無核性のヒュウガナツ‘室戸小夏’は、花柱における他家花粉の伸長抑制により不受精となり、無核となることを認めている（北島ら、2001）。さらに、コミカンの無核品種である‘無核紀州’では、不受精胚珠よりやや大きく種皮が発達しない種子（仮称Aタイプ種子）が特異的に観察され、受精後の早期の胚の発育停止に起因して無核となることを明らかにしている（山崎・北島ら、2003、2004）。このように、申請者はこれまでの研究結果から、確実な無核性の発現は、雌性器官に起因する不受精と受精後の胚の早期発育停止によるものに限られるとの結論に達し、その形質が遺伝的なものであれば、無核性カンキツの育種母本とし極めて有効であると考えている。しかしながら、このような無核性の形質をもつわが国のカンキツは数種に限られている。したがって、世界の現存するカンキツ遺伝資源のなかからこのような無核性を有するカンキツを探索し、育種母本として保存することは、多様な無核性カンキツを育種するうえで極めて重要である。

カンキツの原産地はインド東北部から中国南東部にかけての地域と考えられており、中国はカンキツ栽培の歴史が最も古く、多種多様な在来カンキツが現存している。また、タイなどの東南アジアではブンタン類を中心に多くのカンキツが古くから栽培されている。しかし、これらカンキツの種子形成に関する調査は不十分であり、無核性発現様式はほとんど明らかにされていない。中国やタイの在来カンキツにおいて無核性カンキツが存在すれば、それと相同な無核性発現様式をもつ他の系統が存在することが想定される。しかし、カンキツ属は多くの種に分類されており、その起源地は推定されているものの、種の分類や種分化に関して問題点や疑問点が多い。最近、DNA解析に基づき、カンキツ属の基本種はシトロン、ブンタン、マンダリンであり、他の種はこれらの雑種と考えられている。DNA多型解析に基づき、マンダリンは最大の分類群を形成し、多くの雑種を含んでいるため、マンダリンの起源種を特定することは困難とされている。さらに、これまでの調査では、中国在来の種・品種や東南アジア在来の種・品種がほとんど含まれておらず、カンキツ種の類縁関係を推定する上で、重要なデータが欠落している。したがって、無核性カンキツの遺伝的背景や種の位置づけを明らかにするうえで、栽培の歴史が古い中国のカンキツ種についてDNA解析に基づく類縁関係を明らかにしておく必要がある。とくに、無核性カンキツである‘無核紀州’やウンシュウミカンはマンダリンであるため、マンダリンの調査は重要である。

## 2. 研究の目的

本研究では、マンダリンなどの後生カンキツ優占地域である中国浙江省、ブンタンやレモンなどの初生カンキツ優占地域であるタイ、両地域の境界に位置する中国広東省における在来カンキツについて種子形成の調査を行い、種子形成の認められないカンキツおよび無核紀州型の小粒種子を形成するカンキツをピックアップする。さらに、これらのカンキツに人工授粉を行い、種子形成を確認するとともに、胚のう形成、受精率および胚の発育を調査し、無核性発現様式を明らかにする。また、ここで確認された無核性カンキツについて、その起源地や在来産地を特定して現地調査を行い、相同な無核性発現様式をもつカンキツの探索を行う。一方、中国在来のマンダリン種について、中国で保存されている遺伝資源と日本で保存されている遺伝資源、および古くから中国で栽培されているマンダリンについて、DNA多型解析を行って、これらの類縁関係を明らかにする。

## 3. 研究の方法

2007年度は、中国浙江省柑橘研究所および重慶市の中国柑橘研究所へ赴き、研究協力を依頼するとともに、情報収集と在来カンキツの予備調査を行った。また、タイやベトナムの在来カンキツ予備調査を行うとともに、日本の在来カンキツの蒐集を行った。その結果、予備調査したカンキツはいずれも有核であったが、中国在来カンキツでは数品種に無核系統が存在するとの情報が得られた。

2008年度には中国柑橘研究所および浙江省柑橘研究所で保存している中国在来カンキツ試料を採取するとともに果実調査を行った。中国在来のマンダリン品種‘南豊蜜橘’の無核系統は調査可能な果実数が不十分で、無核性の評価はできなかった。一方、遣唐使の時代から日本との関係が深かった浙江省普陀山の在来のカンキツ調査を行うとともに、鹿児島、沖縄の在来のカンキツ調査を行い、試料を蒐集した。

2009年度には、‘南豊蜜橘’原産地である江西省南豊県の南豊蜜橘研究所で無核系統3系統と有核系統2系統を用い、開花期に人工授粉を行った。成熟期に果実を採取して種子形成を調査した。

一方、中国柑橘研究所や浙江省柑橘研究所で保存されている中国在来カンキツに限られていることから、広東省、広西壮族自治区、雲南省の現地へ赴き、在来カンキツ調査を実施し、果実調査と試料蒐集を行った。

一方、共同研究者の山本はブータンへ赴き、シトロン、ライム、イーチャンゲンシス等の在来カンキツ調査を行った結果、少核系統はあるものの、無核系統はみられなかった。

4. 研究成果

2008年度までに採取した中国在来、日本在来系統を含むカンキツ 133 系統について DNA 解析を行った (第1表)。

クロロプラスト DNA では *trnL-trnF* 領域を増幅するプライマーで PCR を行い、フォワード側およびリバース側の両方向から PCR 産物の配列を決定した。*trnL-trnF* 領域で1塩基置換の多型が認められ、この変異に基づき、マンダリン、ブンタン、シトロン、カラタチ、キンカン、シキキツの細胞質を分類することができた (第2表)。中国在来カンキツの多くはマンダリンタイプであり、日本在来カンキツではウンシュウミカンとコミカンのみがマンダリンタイプであった。

第2表 *trnL-trnF* 領域における塩基置換

細胞質型	系統名	塩基置換				
		57*	193	266	303	311
マンダリン型	52	T	T	G	T	G
ブンタン型	73	T	G	G	T	G
シトロン型	2	T	G	A	T	G
カラタチ型	2	T	G	G	T	A
キンカン型	3	G	G	G	G	G
シキキツ型	1	G	G	G	T	G

\*数字はアライメントポジションを示す。

2009年度には、‘南豊蜜橘’原産地である江西省南豊県の南豊蜜橘研究所で無核系統3系統と有核系統2系統を用い、開花期に人工授粉を行って成熟期に果実を採取し、種子形成を調査した結果、無核系統で完全種子が形成され、Aタイプ種子は形成されなかったことから、‘無核紀州’は‘南豊蜜橘’無核系統由来でないと考えられた。また、広東省、広西壮族自治区、雲南省の現地に赴き、在来カンキツ調査した結果、無核といわれる品種・系統の多くで完全種子の形成が認められ、これらは少核であることが明らかとなった。しかし、雲南省馬関県塘房村で栽培されている塘房橘の1系統は無核である可能性があり、今後の調査が必要である。また、調査したカンキツはいずれもAタイプ種子の形成が認められず、‘無核紀州’は日本で発生した可能性が示唆された。

2008年度までに蒐集した中国在来カンキツを中心に、日本在来カンキツを含む約160系統のについて SSR 解析を行った。その結果、‘南豊蜜橘’はキシウミカンと一致し、日本のキシウミカンは‘南豊蜜橘’に由来すると考えられた。また、鹿児島県の在来カンキツは普陀山の在来カンキツと近縁であることが認められた。

無核性カンキツの探索により、とくに中国の在来カンキツの種子形成に関する特性を明らかにできた。これらに在来カンキツの類縁関係について、中国浙江省、広東省、広西

第1表 2008年度までに採取したカンキツ

No.	系統名(採取地)
1	金橘(中国)
2	コベニミカン(和歌山)
3	砂糖柑(中国)
4	砂糖芦柑(中国)
5	シカイカン(中国)
6	シカイカン(静岡)
7	朱紅橘(中国)
8	スンキー(静岡)
9	スンキー(中国 I)
10	スンキー(中国 II)
11	早橘(中国)
12	早橘(静岡)
13	乳橘(中国)
14	年橘(静岡)
15	極橘(静岡)
16	本地早(静岡)
17	本地早橘(静岡)
18	本地早(中国)
19	マンキツ(中国)
20	道県野橘(中国)
21	南豊蜜柑(中国)
22	南豊蜜橘(中国)
23	南豊蜜橘(静岡)
24	ユヒキツ(静岡)
25	?南芦柑(中国)
26	桜島小蜜柑(大阪)
27	平紀州(高知)
28	広島小蜜柑(広島)
29	宮川早生ウンシュウ(大阪)
30	無核紀州(大阪)
31	紀州丸蜜柑(和歌山)
32	紀州大平蜜柑(和歌山)
33	帯高蜜柑(和歌山)
34	菊蜜柑(和歌山)
35	興津早生ウンシュウ(大阪)
36	斑入温州(和歌山)
37	紅温州(和歌山)
38	清見(和歌山)
39	不知火(高知)
40	カンキツ中間母本農5号(大阪)
41	カンキツ中間母本農6号(大阪)
42	太田ポンカン(大阪)
43	中野3号ポンカン(和歌山)
44	高しょうポンカン(和歌山)
45	ポンカン(中国)
46	垂水1号タンカン(大阪)
47	高しょうタンカン(和歌山)
48	海梨タンカン(和歌山)
49	キングマンダリン(静岡)
50	クレメンティンマンダリン(静岡)
51	チチュウカイマンダリン(静岡)
52	クレオパトラ(静岡)
53	本地広橘(中国)
54	ピンキツ(静岡)
55	本地広橘(静岡)
56	マンキツ(静岡)
57	早柚(和歌山)
58	雪柑(和歌山)
59	平戸文旦(和歌山)
60	土佐文旦(高知)
61	水晶文旦(和歌山)
62	本田文旦(高知)
63	晩白柚(高知)
64	麻豆文旦(高知)
65	早生ブンタン(広島)
66	谷川文旦(和歌山)

- 67 Bu1-7ブント(高知)
- 68 サザンイエロー(高知)
- 69 オオタチバナ I (静岡)
- 70 オオタチバナ II (和歌山)
- 71 晩王柑(高知)
- 72 安政柑(和歌山)
- 73 河内晩柑(高知)
- 74 アサヒカン(和歌山)
- 75 イワイカン(和歌山)
- 76 カワバタ(和歌山)
- 77 キヌカワ(和歌山)
- 78 シュンコウカン(和歌山)
- 79 ナルト(和歌山)
- 80 フナドコ(和歌山)
- 81 安藤柑(和歌山)
- 82 ヒョウカン(和歌山)
- 83 マルメラ(和歌山)
- 84 和紅八朔(和歌山)
- 85 川野ナツダイダイ(広島)
- 86 ダイダイ(大阪)
- 87 縞代々(広島)
- 88 ユズ(和歌山)
- 89 スダチ(和歌山)
- 90 カボス I (和歌山)
- 91 カボス II (高知)
- 92 じゃばら(和歌山)
- 93 ハナユ(和歌山)
- 94 モチュ(高知)
- 95 サンボウカン(和歌山)
- 96 ヒュウガナツ(和歌山)
- 97 オレンジ日向(和歌山)
- 98 黄金柑(和歌山)
- 99 菊実橙(和歌山)
- 100 紅橙柑(和歌山)
- 101 支那蜜柑(和歌山)
- 102 寿柑(和歌山)
- 103 唐蜜柑(和歌山)
- 104 小林蜜柑(和歌山)
- 105 イヨカン(和歌山)
- 106 タチバナ(高知)
- 107 シークワサー(和歌山)
- 108 コウジ(和歌山)
- 109 ユコウ(和歌山)
- 110 ケラジ(和歌山)
- 111 ギリミカン(静岡)
- 112 ヤツシロ(和歌山)
- 113 クネンボ(和歌山)
- 114 ワシントンネーブル(大阪)
- 115 白柳ネーブル(大阪)
- 116 福原オレンジ(和歌山)
- 117 田の浦オレンジ(和歌山)
- 118 ダンカングレープフルーツ(和歌山)
- 119 セミノール(和歌山)
- 120 ミネオラ(和歌山)
- 121 ベルガモット(高知)
- 122 スイートライム(和歌山)
- 123 タヒチライム(大阪)
- 124 リスボンレモン(和歌山)
- 125 ネイハキンカン(静岡)
- 126 ナガミキンカン(和歌山)
- 127 チョウジュキンカン(和歌山)
- 128 カラタチ I (静岡)
- 129 カラタチ II (高知)
- 130 シトロン(静岡)
- 131 ブッシュカン(大阪)
- 132 シキキツ(高知)
- 133 バレンシアオレンジ(大阪)

第3表 SSR解析試料

No.	系統名(採取地)
1	朱紅橘(重慶)
2	砂糖橘(重慶)
3	十月橘(重慶)
4	沙柑(重慶)
5	年橘(重慶)
6	岑溪酸橘(重慶)
7	小葉系南豊蜜橘(重慶)
8	大葉系南豊蜜橘(重慶)
9	本地早(浙江)
10	甌柑(浙江)
11	椶橘(浙江)
12	四会柑(浙江)
13	金桔 1(浙江)
14	金桔 2(浙江)
15	金桔 3(浙江)
16	早橘 1(浙江)
17	早橘 2(浙江)
18	早橘 3(浙江)
19	砂糖芦柑 1(上海)
20	砂糖芦柑 2(上海)
21	砂糖芦柑 3(上海)
22	閩南芦柑 1(上海)
23	閩南芦柑 2(上海)
24	閩南芦柑 3(上海)
25	道県野桔 1(重慶)
26	道県野桔 2(重慶)
27	道県野桔 3(重慶)
28	クレメンティン(興津)
29	ウンシュウ宮川(興津)
30	シカイカン(興津)
31	平紀州(興津)
32	マンキツ(興津)
33	サンキツ(興津)
34	ボンキツ(興津)
35	普済寺 I (普陀山)
36	普済寺 II (普陀山)
37	普済寺 III (普陀山)
38	普済寺 IV (普陀山)
39	百歩沙 I (普陀山)
40	不肯観音寺(普陀山)
41	西山風景区 I (普陀山)
42	西山風景区 II (普陀山)
43	法雨寺 I (普陀山)
44	法雨寺 II (普陀山)
45	法雨寺 III (普陀山)
46	法雨寺 IV (普陀山)
47	ローブウェイ下東(普陀山)
48	穩秀庵 I (普陀山)
49	穩秀庵 II (普陀山)
50	穩秀庵 III (普陀山)
51	白橘 I (雲南)
52	白橘 II (雲南)
53	白橘 III (雲南)
54	黄果 I (雲南)
55	黄果 III (雲南)
56	黄果 IV (雲南)
57	香櫞 II (雲南)
58	香櫞 III (雲南)
59	香櫞 IV (雲南)
60	塘房橘 I (雲南)
61	塘房橘 II (雲南)
62	塘房橘 III (雲南)
63	塘房橘 IV (雲南)

64 高金頭(雲南)  
65 蜂洞橘(雲南)  
66 酸柑子(雲南)  
67 酸橘子(雲南)  
68 南豊蜜橘 無核小果(江西)  
69 南豊蜜橘 無核小果(江西)  
70 南豊蜜橘 有核大果(江西)  
71 南豊蜜桔 無核晚生(江西)  
72 紅橘(江西)  
73 紀州丸蜜柑(近大)  
74 無核紀州(近大)  
75 無核紀州(愛媛)  
76 帯高蜜柑(近大)  
77 ヘそ高ミカン(静岡中川根)  
78 桜島コミカン(大阪)  
79 紀州(広島)  
80 紀州(広島庵原一乗寺)  
81 紀州(静岡天竜)  
82 本地広橘1(重慶)  
83 本地広橘2(重慶)  
84 久子コミカン(熊本)  
85 高田ミカン(熊本)  
86 尾崎コミカン(大分)  
87 金色コミカン(大分)  
88 黒島ミカン(鹿児島)  
89 菊蜜柑(近大)  
90 小紅蜜柑(近大)  
91 クネンボ(近大)  
92 コウジ(近大)  
93 タチバナ(近大)  
94 ヤツシロ(近大)  
95 海梨タンカン(近大)  
96 シークワシャー(近大)  
97 ケラジ(近大)  
98 蒲刈ミカン(広島)  
99 大理感通寺(雲南)  
100 四会蜜桔(広州)  
101 温州柑(広西)  
102 貢柑(広西)  
103 滑皮桔(広西)  
104 穿心桔(広西)  
105 野桔(広西)  
106 寧明桔(広西)  
107 南豊蜜桔(広西)  
108 蜜桔(広西)  
109 沙柑(広西)  
110 カボス(大分)  
111 祖母の香1(大分)  
112 祖母の香2(大分)  
113 クサ(鹿児島)  
114 シマミカン(鹿児島)  
115 トークネブ(鹿児島)  
116 大和(鹿児島)  
117 久慈(鹿児島)  
118 ケラジ(鹿児島)  
119 ケラジ(鹿児島)  
120 キカイミカン(鹿児島)  
121 シーク(鹿児島)  
122 フス(鹿児島)  
123 ウスカワ(鹿児島)  
124 ナツクニン(鹿児島)  
125 トークニン(鹿児島)  
126 テヌゲクニン(鹿児島)  
127 チナゼクニン(鹿児島)  
128 シークニン(鹿児島)  
129 シークニン(鹿児島)  
130 オート(鹿児島)

131 カボチャ(鹿児島)  
132 クルシマ(鹿児島)  
133 ウンジョウキ(鹿児島)  
134 イラブオート(鹿児島)  
135 ユンヌオート(鹿児島)  
136 オート(鹿児島)  
137 キミカン(鹿児島)  
138 川畑ミカン(鹿児島)  
139 シマミカン(鹿児島)  
140 シークリブ屋子母1(鹿児島)  
141 シークリブ雅名6(鹿児島)  
142 シークリブ余多10(鹿児島)  
143 シークリブ竿津11(鹿児島)  
144 ユズ1(高知)  
145 ユズ2(高知)  
146 ユズ3(高知)  
147 ユズ4(高知)  
148 ユズ5(高知)  
149 ユズ6(高知)  
150 ユズ7(高知)  
151 オート(沖縄)  
152 カーブチー(沖縄)  
153 タルガヨ(沖縄)  
154 ウンジュ(沖縄)  
155 クガニー(沖縄)  
156 タチバナ答志(沖縄)  
157 タチバナ大宜味クガニ(沖縄)  
158 タチバナ大宜味ネクマチジ(沖縄)  
159 シイクワサー(沖縄)  
160 クサラー(沖縄)  
161 宮川早生(興津)

族自治区、雲南省の現地調査を実施したこと、鹿児島、沖縄の在来カンキツを調査したことなどで、中国と日本の地方に残る系統間で密接な関係が認められるものが見出され、中国と日本の在来カンキツの遺伝的背景に関する情報が蓄積されたので、それらの特徴をキーとして南シナ海沿岸の在来カンキツを調査することにより、東・東南アジアにおけるカンキツの伝播やカンキツの起源に迫る研究の実施が可能になった。

## 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4件)

1. 寺本(稲福) さゆり・山本雅史・金城秀安・北島宣・和田浩二・川満芳信. 2010. 沖縄本島北部のカンキツ遺伝資源およびそのポリメトキシフラボン含量. 園芸学研究 9: 印刷中. 査読有
2. 山本雅史・土持 由・北島宣・寺本(稲福) さゆり・楊 学虎・楊 曉伶・鐘 廣炎・久保達也・富永茂人. 2010. 園芸学研究. 9(別1): 252 査読無
3. Yu, Y., W. Wang, X. Yang, A. Yamasaki and A. Kitajima. 2009. PI/DAPI staining

analysis of citrus chromosomes in mandarin cultivars. Acta Horticulturae Science 36: 1929. 査読無

4. 北島 宣・羽 生剛・山崎安津・清水徳朗・楊 曉伶・鐘 廣炎・徐 建国・山本雅史・札埜高志・安部良樹・喜多正幸・根角博久・宇都宮直樹・米森敬三. 2009. 中国および日本における在来カンキツの類縁関係. 園芸学研究. 8(別 2): 379. 査読無

[学会発表] (計 1 件)

1. 寺本 (稲福) さゆり・山本雅史・金城秀安・北島 宣・住 秀和・川満芳信. 2009. 沖縄本島北部地域の在来カンキツ遺伝資源. 沖縄農業研究会 第 48 回講演会 2009 年 8 月 7 日 琉球大学農学部

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

北島 宣 (KITAJIMA AKIRA)  
京都大学・大学院農学研究科・教授  
研究者番号: 70135549

### (2) 研究分担者

米森 敬三 (YONEMORI KEIZO)  
京都大学・大学院農学研究科・教授  
研究者番号: 10111949

山本 雅史 (YAMAMOTO MASASHI)  
鹿児島大学・農学部・准教授  
研究者番号: 00305161

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

楊 曉伶 (YANG XIAOLING)  
同済大学・生命科学技術学院・准教授

鐘 廣炎 (ZHONG GUANGYAN)  
中国農業科学院・柑橘研究所・主任研究員

寺本 (稲福) さゆり  
鹿児島大学・大学院連合農学研究科・博士課程