

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 21 日現在

機関番号：17201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26892023

研究課題名(和文)メロンと近縁野生種間の種間交雑における生殖隔離の発生機構及び克服法の解明

研究課題名(英文) Mechanism and conquest method of reproductive barrier found in the interspecific crosses between wild Cucumis species and melon.

研究代表者

松本 雄一 (Matsumoto, Yuichi)

佐賀大学・農学部・講師

研究者番号：80538265

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：Cucumis hystrixとメロン系統MR-1との種間交雑においては、花粉親としてC. hystrixを用いた際には花粉管伸長はほとんどみられないが、MR-1を用いた際には自殖と同程度まで伸長すること、またその後の胚発達についても、着果率が種間交雑と自殖で同程度であるなどこれまでのCucumis属種間交雑では見られなかった知見が得られた。胚発達の促進のため果実加温法の検討を行い、終日30℃程度に保つことで胚崩壊を抑制できることが示唆され、胚救済法としての利用が見込まれた。これらの野生種においては近縁種のDNAマーカーの適用や系統間での多型を見出し、雑種性検定などの解析を可能とした。

研究成果の概要(英文)：In the interspecific crosses between Cucumis hystrix and C. melo, line MR-1, the pollen tube was reached to the ovule. Percentage of fruit set was same as self-cross. Therefore, this crosses combination showed different pattern of reproductive barriers with other cucumis combinations.

研究分野：園芸学

キーワード：メロン 生殖隔離

## 1. 研究開始当初の背景

ウリ科キュウリ属にはメロン (*Cucumis melo*) やキュウリ (*C. sativus*) の他、様々な野生種が存在する。これらの作物においてつる割病 (*Fusarium oxysporum*) は重要病害の1つであり、特にメロンでは現状の栽培技術では完全に防除ができないことから抵抗性品種の育成が求められている。しかしながら、一部の病原菌レースについては抵抗性遺伝資源が存在せず育種は不可能となっている。近年、申請者らは野生種 *C. anguria* 内に栽培種には見られなかったつる割病抵抗性を見だし、さらにこの抵抗性に関与する新たな遺伝子 (*F1, 2y*) の遺伝様式ならびに染色体座乗位置を明らかにした。この *C. anguria* を用いた種間交雑育種が可能になれば抵抗性などの形質を栽培種に導入でき、有用品種の育成に貢献できると考えられるが、メロンと *C. anguria* との種間交雑においては受精前の花粉管の伸長停止 (花粉・雌蕊不調和性) や雑種胚崩壊などの生殖隔離が見られ、雑種を得ることができていない。

この花粉・雌蕊不調和性などの生殖隔離は自家不和合性とは異なる現象であり、そのメカニズムや克服法などについて十分な知見は得られていなかったが、申請者らはメロンと *C. anguria* との種間交雑における生殖隔離について研究を行い、花粉・雌蕊不調和性は交雑方向により花粉管の挙動や不調和性程度が異なること、温度に対する感受性も系統により異なり、一部系統については32以上の高温条件下受粉により不調和性が緩和され、受精までは可能となることを明らかにし、さらにこの不調和性緩和には *C. anguria* 第1染色体上に座乗する単因子劣性遺伝子 *pia* が関与していることを解明するなど、近年新たな展開を見せている。

キュウリ ( $n = 7$ ) においては野生種 *C. hystrix* ( $n = 12$ ) との種間雑種が報告されているが、この *C. hystrix* はメロン ( $n =$

12) と染色体基本数が同一の種であり、葉緑体ゲノム等の結果からもメロンに最も近縁な野生種とされている。しかしながら、これまで *C. hystrix* に着目したメロンとの種間交雑に関する研究は行われておらず、生殖隔離の程度や発生機構については不明であった。また、*C. hystrix* と他の野生種との種間交雑についても報告されていない。生殖隔離の解明・克服により *C. hystrix* とメロンや *C. anguria* との種間交雑が可能となれば、*C. hystrix* を橋渡し植物として活用することが可能となり、メロンに *C. anguria* の抵抗性や、さらにはキュウリの有する単為結果性などの有用形質を導入することが期待できる。

そこで申請者のこれまでの手法を基に、*C. hystrix* とメロン並びに *C. anguria* など他野生種との種間交雑に伴う花粉・雌蕊不調和性ならびに雑種胚崩壊について、発生機構を解明するとともに温度や培養条件等の生理学的反応を基に緩和・克服法を確立する。

## 2. 研究の目的

本研究ではメロンと近縁野生種間の種間交雑時における生殖隔離の発生機構と克服方法に関する研究を行い、メロンをはじめとするウリ科作物全般の新たな育種技術に展開するための基盤となる研究を行う。研究期間内には以下のことを明らかにする。

(1) *C. hystrix* とメロンおよび他野生種 (*C. anguria*, *C. metuliferus*, *C. africanus* など) 間の様々な交雑組み合わせにおいて、花粉粒の発芽割合および花粉管の伸長速度、伸長停止位置等花粉管の異常形態の特徴を調査し、交雑組み合わせにより花粉・雌蕊不調和性の発生機構および程度に差異があるかを明らかにする。

(2) 雑種胚について、胚および胚乳の発達・崩壊時における機構を明らかにするとともに

に、交雑組み合わせや様々な培養条件毎に胚の発達程度および崩壊時期の特定を行い、胚救済に向けた最適条件を明らかにする。

(3)最適条件となった培地組成において崩壊直前の胚を用いた培養を行い、実際に胚の発達やカルス形成が起きること、またその割合を明らかにする。さらにカルス形成後の再分化についても最適な培養条件を明らかにする。

(4)得られた種間雑種について雑種性検定を可能にするため、メロン・キュウリ SSR マーカーの中から *C. hystrix* とメロン、他野生種との多型マーカーを選抜し雑種性の検定を行う。

### 3. 研究の方法

この研究計画では、生殖隔離として花粉・雌蕊不調和性および雑種胚崩壊の両点についてメカニズムを解明するとともに温度や培養条件等に対する反応から緩和・克服方法の確立を図っていく。

研究計画の進め方として、

(1) 交雑組み合わせ毎の花粉・雌蕊不調和性に係る花粉管の形態、伸長速度、花粉管停止位置等の不調和性程度を明らかにする。

(2) 花粉・雌蕊不調和性に及ぼす高温の影響について不調和性程度または花粉管の形態等の特徴毎に評価を行い、高温条件下受粉の緩和の汎用性について明らかにする。

(3)胚発達の切片観察により雑種胚の崩壊時期を特定するとともに、崩壊前の胚を用いた培養による胚救済法を確立する。

(4)雑種個体について DNA マーカーによる雑種性の検定を行う。

### 4. 研究成果

*Cucumis hystrix* とメロン系統 MR-1 との種間交雑において花粉親として *C. hystrix* を用いた際には、花粉管伸長距離は受粉後 3-24 時間においていずれも *C. hystrix* 自殖と *C. hystrix*×MR-1 共に同程度

であり、受粉後 24 時間目には共に 3.5 mm に達した。また、着果率も *C. hystrix* 自殖、*C. hystrix*×MR-1 とともに高かった。これらのことから *C. hystrix*×MR-1 の組み合わせでは柱頭から子房上部においては、生殖隔離の影響はほとんど見られないことが示唆された。その後の種子発達については、*C. hystrix* 自殖ではほとんどが充実種子であり、播種したものは全て発芽した。一方で、*C. hystrix*×MR-1 では 1 割程度の割合で充実種子が得られたものの、いずれも発芽はしなかった。メロンつる割病レース 1,2y 抵抗性発病度については 'Queen Anne's Pocket' が 100, '黄金9号' が 40 に対し *C. hystrix* は 0 であり、抵抗性遺伝資源としての利用可能性が示唆された。

胚発達の促進のため果実加温法の検討を行った。加温装置内の温度は 25 -44 であり、ハウス内の気温と比べ最低月平均気温は 13.6 , 最高月平均気温は 2.7 上昇した。果実重については受粉後 10 日目に種間交雑では加温なしの場合 14.5 g であったのに対し、加温ありで 23.3 g となった。*C. anguria* 自殖は 27.3 g であり、自殖果実に近い数値まで肥大していた。また胚珠面積については受粉後 10 日目に種間交雑では加温なしの場合 4.58 mm<sup>2</sup> であったのに対し、加温ありで 9.91 mm<sup>2</sup> となった。*C. anguria* 自殖は同じ自殖 10 日目では 5.22 mm<sup>2</sup> であり、完熟果(受粉 40 日目以降)で 8.83 mm<sup>2</sup> であったことから、種間交雑の加温ありは、完熟果の胚珠と同等以上に肥大していた。胚の発達については、*C. anguria* 自殖胚では受粉後 7

日目に球状胚、10 日目に一部で心臓型胚が観察された。種間交雑では加温なしでは受粉後 16 日目に初めて球状胚が観察されたが、加温ありでは 10 日目に球状胚が観察され、加温により球状胚の出現が 6 日程度早まった。受粉後早期の段階の胚発達が進んだことが

ら，従来よりも早期段階における胚救済の可能性が高まったと考えられ、胚救済法としての利用が見込まれた。

これらの野生種においては近縁種の DNA マーカーの適用や系統間での多型を見出し、雑種性検定などの解析を可能とした。

#### 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 2 件)

有田美穂子，上埜喜八，有馬進，江原史雄，福田伸二，松本雄一．メロンつる割病抵抗性育種に向けた *Cucumis hystrix* とメロンとの種間交雑における交雑不親和性の特徴．園芸学会平成 28 年度春季大会，平成 28 年 3 月 27 日，東京農業大学厚木キャンパス（神奈川県厚木市）

綱本真子，江原史雄，有馬進，上埜喜八，福田伸二，松本雄一．果実加温法による *Cucumis anguria* とメロンとの種間雑種における雑種胚の発達促進．園芸学会平成 28 年度春季大会，平成 28 年 3 月 27 日，東京農業大学厚木キャンパス（神奈川県厚木市）

〔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

佐賀大学・農学部・講師

松本 雄一 (MATSUMOTO, Yuichi)

研究者番号：80538265