

序 論

生食用カンキツの育種を実施する際には、かいよう病、そうか病及びトリステザウイルスの主要な病害抵抗性、栽培性、結実性並びに果実品質等に留意する必要がある。しかし、カンキツは嗜好品であるので、他の形質が優秀でも果実品質が優れていなければ新品種としての登録は望めない。そのため、実際には果実品質に最大の留意を図り、果実の大きさ、果皮色、果面の粗滑、果皮の厚さ、香り、糖、酸、苦味、果肉色、果汁の多少、剥皮性、じょうのう膜の硬さ及び含核数等の多岐にわたる個々の形質について育種目標を設定し、果実品質の優れた新品種の育成を目指している。このうち、含核数は生食の際だけでなく、ジュース等の加工に際しても重要視される形質であり、無核性であることが望ましい。

現実に、世界の主要品種であるスイートオレンジ類の‘ワシントン’ネーブルオレンジを始めとしたネーブルオレンジ、‘バレンシア’、‘シャムティ’、‘ハムリン’、‘サルスチアーナ’及び‘タロッコ’等はいずれも無核又は含核数が5個以下の少核であり、グレープフルーツ類の‘マーシュ’も含核数は少ない。我が国の主要品種のウンシュウミカンの各品種も無核である。これらのことから、今後育成される品種は無核か少核性であることが必要で、そうでなければ主要品種とはなり得ないと考えられる。

無核品種の育成の一つとしては、人為的な突然変異の誘発による方法がある。既に、スイートオレンジ、グレープフルーツ及びクレメンティンにおいては、種子や穂木に放射線を照射することにより、有核品種の無核化が図られている(Hensz, 1971; Russoら, 1981; Hearn, 1986; Starrantinoら, 1988; Chenら, 1991)。この手法は含核数以外の果実形質が優れている品種の改良には有効であるが、現在の我が国における有核の主要品種である‘宮内伊予柑’、‘川野なつだいだい’及びハッサクは、含核数以外にも食味、剥皮性、耐病性など改良すべき点が多く、無核となったとしても新たに消費が増加する可能性は低い。このことから、放射線照射は既存の有核性品種の無核化には有効であるものの、現実には利用価値があまり高いとは言えない。

従って、新たな無核性品種は、その他の果実形質、栽培性ともに優れたものを交雑によって育成すべきである。

交雑による無核性品種の育成としては、三倍体(2n=27)の利用が考えられる。カンキツ属の品種は人工的に育成、選抜されたものを除き、三倍体のタヒチライム(Krug・Bacchi, 1943)以外は全て二倍体(2n=18)である。三倍体による無核性品種の育成はアメリカ合衆国で実施されており(Soost・Cameron, 1980; 1985)、三倍体品種育成に関する研究も多数

なされている。それらの結果から、三倍体実生は二倍体同士の交雑からも出現し、その出現率は交配親によって異なること (Esen・Soost, 1971; 生山・奥代, 1983), 四倍体と二倍体との交雑では四倍体を種子親とした場合に完全種子が得やすいこと (Esen・Soost, 1973; Esenら, 1978), 育成された三倍体実生は無核か、有核であっても含核数は極めて少ないこと (Soost・Cameron, 1969)等が明らかになった。このように、三倍体の利用は無核性品種の育成に有効であるが、いくつかの問題点がある。その最大のもは、三倍体の親となる四倍体品種に限られることである。前述したように三倍体実生は二倍体同士の交雑からも出現するが、その割合は高いとは言えず、三倍体実生の育成は四倍体と二倍体との交雑が基本となる。四倍体カンキツの育成は、珠心胚実生からの選抜、二倍体と四倍体との交雑における雑種の四倍体実生の選抜 (生山, 1992), コルヒチン処理 (Oiyama・Okudai, 1986), 体細胞雑種の作出 (Kobayashiら, 1988) により実施されているが、通常の二倍体の品種に比べると、四倍体の品種・系統は果実品質の多様性及び優秀性の面からも劣っている。また、二倍体を種子親として四倍体を花粉親とした場合には、完全種子が得られず (Esen・Soost, 1973), 三倍体実生の育苗に手間がかかり、育種規模の拡大にとっては不利である。このように、三倍体の利用も果実品質の優れた無核性品種の育成を図るという点からは、必ずしも有効であるとは言えない。

次に、無核性品種の育成には、通常の二倍体レベルでの交雑による方法が考えられる。先に示した通り、カンキツ類のほとんど全品種は二倍体であり、無核、少核品種も全て二倍体レベルで起こる種々の不稔現象が無核、少核の原因となっている。更に、二倍体レベルにおける育種研究は近年急速に進展しており、交雑実生を確実に得ることができる優良な単胚性母本の育成 (奥代ら, 1981) が図られ、それを用いた新品種が育成されている (山田ら, 1993)。これらのことから、栽培性、果実品質の優秀な無核品種を育成するためには、二倍体品種間の交雑による方法が最も効率的であると考え、二倍体レベルで発現する不稔現象を利用した無核性品種の効率的な作出法の解明を目的として本研究を実施した。

主要な無核、少核品種の不稔性については、主に雄性不稔性の方面から研究が精力的に実施されている。その結果、ネーブルオレンジ (Osawa, 1912), ‘タヒチ’ ライム (Uphof, 1931), 無核ユズ (Iwamasa, 1966), ‘バレンシア’ オレンジ (Iwamasa, 1966), ‘メキシカン’ ライム (Iwamasa, 1966), ‘マーシュ’ グレープフルーツ (Raghuvanshi, 1962), ‘ジャッファ’ オレンジ (Oppenheim・Frankel, 1929), ウンシュウミカン (Nakamura, 1943, Yang・Nakagawa, 1969a; 1969b), ‘無核紀州’ (根角ら, 1992), レモン

(Wilmsら, 1983) 等について無核、少核の原因となる不稔現象の機構解明が、特に細胞遺伝学的見地から明らかにされつつある。

更に、‘清見’ (西浦ら, 1983), ‘南香’ (奥代ら, 1991a), ‘清峰’ (奥代ら, 1991b), ‘津之香’ (松本ら, 1991) といった雄性不稔性の無核性品種が、農林水産省果樹試験場で育成されており、雄性不稔性の利用は無核品種の育成に有効であるように思える。

しかし、カンキツにおいては多様な雄性不稔現象が存在するにもかかわらず、一部の不稔性を除くとその遺伝様式の解明は進んでいないため、交雑実生に出現する雄性不稔個体の割合の推定は困難である。

その上、雄性不稔性が無核性品種の育成に有効であるかという点にも、疑問が持たれている。すなわち、交雑実生群の調査から、雄性不稔性の個体が全て無核あるいは少核となるとは限らず (吉田, 1982), 逆に花粉を形成するにもかかわらず無核の個体が出現した (奥代ら, 1982) という結果も得られている。これはカンキツの無核性が雄性不稔性のみによって決定されているのではなくて、雌性不稔性、自家不和合性、単為結果性等多数の形質によって支配されていることを示すものである。

先にあげた、カンキツ育種の際に留意すべき形質については、近年、遺伝様式の解明が精力的に行なわれ (Cameron・Soost, 1977; 吉田ら, 1983; 吉田・七條, 1984; 山本ら, 1988; 1990; 1991; 根角ら, 1990; 松本・奥代, 1990; 1991), 交雑育種における交配親選定の一助となっている。しかしながら、以上に示したように不稔性の研究は多いものの、交雑育種における効率的な無核性品種育成に関する報告はほとんど無く、カンキツと同様に、無核性が重要な形質であるブドウにおける研究 (Loomis・Weinberger, 1979; 佐藤ら, 1994) と比較しても遅れている。

また、カンキツにおいてはプロトプラストからの再分化系が確立されており (Vardiら, 1982), 細胞融合 (Ohgawaraら, 1985) 及び形質転換 (Kobayashi・Uchimiya, 1989; Hidakaら, 1990; Vardiら, 1990) に成功している。最近ではこれらの手法を用いて耐病性等、重要形質を付与することが行なわれつつあり、無核性もその目指す重要形質の一つと考えられている (Koltunow, 1993)。

そこで本論文においては、不稔性を利用した無核性品種の効率的な育成を目的として以下の実験を行った。

第1章では最も強い雄性不稔性であるやくの退化の遺伝様式について検討した。第1節では従来知られていたウンシュウミカンに加えて、やくが退化していない‘アンコール’を種子親にした場合にも、やくの退化した交雑実生が出現することを明らかにした。次に第2節ではやくの退化した品種を種子親にした場合のやくの退化の遺伝様式の解明を実施した。

第2章では細胞融合法により細胞質雑種を作出し、不稔性と考えられる細胞質をそうでない品種の細胞質に導入し、不稔性の細胞質を持つ品種の育成を図った。

第3章では含核数の遺伝様式を検討した。まず第1節では両親と交雑実生との含核数との関係及び実生個体の花粉量と含核数との関係を解明した。第2節では多数の組み合わせを用いて含核数の遺伝様式について検討した。

第4章では、既存品種群を供試し、雌性不稔性、雄性不稔性及び自家不和合性と含核数との関係について明らかにし、二倍体レベルにおける不稔性を利用した無核性品種の育成について考察した。

謝辞：本研究の取りまとめに当たり、御校閲と懇切な御指導を賜った京都府立大学教授石田雅士博士、井上雅好博士、並木隆和博士に対して、心から感謝の意を表す。また、前果樹試験場口之津支場長（現果樹試験場企画連絡室長）間苧谷 徹博士には、本研究を取りまとめるに当たって、終始懇切なる御指導を賜った。ここに深く感謝の意を表す。本研究の遂行に当たり、御指導と御協力を頂いた、元果樹試験場口之津支場育種研究室長奥代直巳氏、前果樹試験場口之津支場育種研究室長（現同興津支場栽培研究室長）山田彬雄氏、果樹試験場口之津支場育種研究室長松本亮司博士、果樹試験場安芸津支場育種法研究室長小林省蔵博士、御激励を賜った元果樹試験場口之津支場長（現大阪府立大学教授）河瀬憲次博士、元果樹試験場口之津支場長（現果樹試験場長）柳瀬春夫博士に厚く御礼を申し上げます。なお、本研究では、主として果樹試験場口之津支場のカンキツ育種試験で育成した交雑実生を用いた。この交雑実生の交配、育成、管理に尽力された多数の方々にも心から感謝を申し上げます。

第1章 やくの退化の遺伝

第1節 アンコール (*Citrus nobilis* x *C. deliciosa*)を種子親に用いた交雑実生におけるやくの退化の分離

緒言

やくの退化は、雄性器官発達の初期に起こり、この退化により雄性器官は最も強い不稔性を示す。やくの退化の程度には年次変動が観察され、多少は環境に左右されるが、胞原細胞の分化は起きず、開花時には萎凋して花粉は形成されない(Iwamasa, 1966)。

やくの退化を示す交雑実生は、ウンシュウミカンや‘清見’等のウンシュウミカンの細胞質を持つ品種を種子親にした場合に出現し(Iwamasa, 1966; 奥代ら, 1982; 吉田, 1982; Vardi・Spiegel-Roy, 1988; 吉田・花折, 1990), それ以外の品種を種子親に用いた場合にはほとんど出現しない(吉田・花折, 1990)とされてきた。しかし、奥代ら(1982)は‘アンコール’xウンシュウミカン(‘興津早生’)の実生の半数以上でやくが退化したことを認めた。‘アンコール’は糖度が高い食味の優れた単胚性品種であり、種子親としての利用価値が高い。しかし、‘アンコール’を種子親に用いた交雑実生群において、やくの状態を調査した報告はこれ以外に見られないので、確認のため追試が必要と思われる。そこで、本節では‘アンコール’を種子親に用いた交雑実生群のやくの状態を調査し、ウンシュウミカンを種子親としない組み合わせにおいても、やくの退化した交雑実生が出現する可能性について検討した。

材料及び方法

1987年から1989年にかけて、果樹試験場口之津支場の育種実生高接ぎ圃場で育成中の、‘アンコール’を種子親に用い、‘ミネオラ’、‘マーコット’、‘中野3号ポンカン’及び‘セミノール’を花粉親にしたカンキツ交雑実生4組み合わせ166個体について、やくの状態を調査した。あわせて、やくの退化した‘清見’を種子親とし、‘アンコール’を花粉親とした組み合わせについても同様に調査した。やくの状態は、やく退化(雄性不稔:MS)と、花粉形成(MF)(極く微量の花粉を形成するものから多量の花粉を形成するものを含む)の2段階で評価した(第1図)。調査は、開花盛期のやくの裂開が盛んな晴天日の午後実施した。花粉形成が明瞭である個体については単年、花粉形成が不明瞭な個体については複数年の調査を行った。

厳密に正常な花粉の割合を求めるためには、花粉発芽率の調査が必要であるが、カンキツにおいては、簡便なアセトカーミン染色法による花粉稔性を

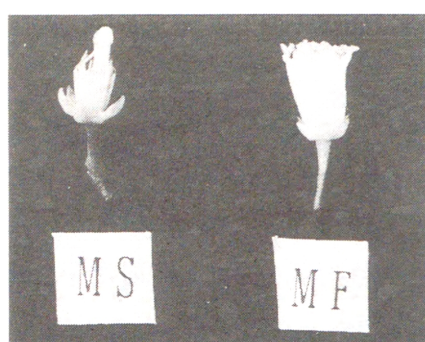


Fig. 1. Flower of male sterile (aborted anthers, MS) and male fertile (normal anthers, MF).

Table 1. Male fertility and pollen viability of parents.

Variety	Cross combination (Latin name)	Male	Pollen
		fertility ^z	fertility ^y (%)
Encore	<i>C. nobilis</i> 'King' x <i>C. deliciosa</i> 'Willowleaf'	MF	91.9
Minneola	<i>C. paradisi</i> 'Duncan' x <i>C. tangerina</i> 'Dancy'	MF	89.7
Murcott	parentage unknown, possibly tangor	MF	87.2
Ponkan	<i>C. reticulata</i> Blanco (cv. Nakano No. 3)	MF	89.3
Seminole	<i>C. paradisi</i> 'Duncan' x <i>C. tangerina</i> 'Dancy'	MF	92.6
Kiyomi	<i>C. unshiu</i> 'Miyagawa wase' x <i>C. sinensis</i> 'Trovita'	MS	-

^zMF: Male fertile, MS: Male sterile (aborted anthers).

^y Pollen viability was determined by acetocarmin smear method.

Table 2. Segregation of male fertility/sterility in citrus hybrid seedlings made with 'Encore' as a parent.

Cross combination	No. of seedlings	Male fertility ^z		Expected ratio	X ²	P
		MS	MF			
Encore x Minneola	61	8	53	1:3	4.596	0.02-0.05
				1:7	0.021	0.8-0.9
Encore x Murcott	43	10	33	1:3	0.071	0.7-0.8
Encore x Seminole	26	7	19	1:3	0.052	0.8-0.9
Encore x Ponkan	36	0	36	0:1	-	-
Kiyomi x Encore	23	10	13	1:1	0.391	0.5-0.7

^zMS: Male sterile (aborted anthers), MF: Male fertile.

その代用とすることが多いので、本節においても、上野(1986)の方法に準じて500粒の花粉をスライドガラス上でアセトカーミン液によって染色し、顕微鏡で観察して花粉粒の内部が染色されたものを稔性花粉とし、花粉稔性を算出した。

結 果

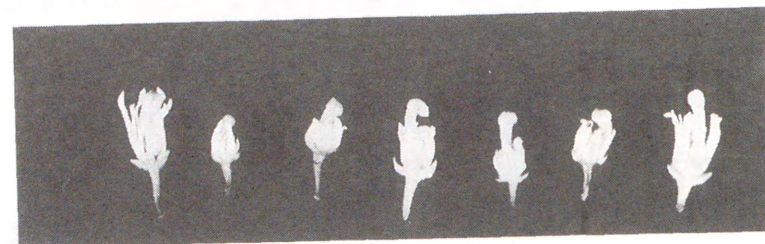
交配親の'アンコール'、'ミネオラ'、'マーコット'、ポンカン及び'セミノール'はいずれも花粉を形成し、花粉稔性も90%前後と高い値を示した。'清見'のやくは退化していた(第1表)。

'アンコール'を種子親に用いた4組み合わせ及び花粉親に用いた1組み合わせの交雑実生における、やくの退化と花粉形成の分離比を第2表に示した。'アンコール'を種子親に、ポンカンを花粉親にした36個体の交雑実生では、やくの退化した実生は出現しなかったが、'ミネオラ'、'マーコット'及び'セミノール'を花粉親にした場合には、それぞれ61個体中8個体、43個体中10個体及び26個体中7個体にやくの退化が認められた(第2図)。「清見」x「アンコール」の交配では約半数の実生でやくが退化していた。これらの分離比は、「アンコール」x「ミネオラ」でやく退化:花粉形成の比が1:7に、「アンコール」x「セミノール」及び「アンコール」x「マーコット」で1:3に、「アンコール」xポンカンで0:1に、「清見」x「アンコール」で1:1に適合した(第2表)。

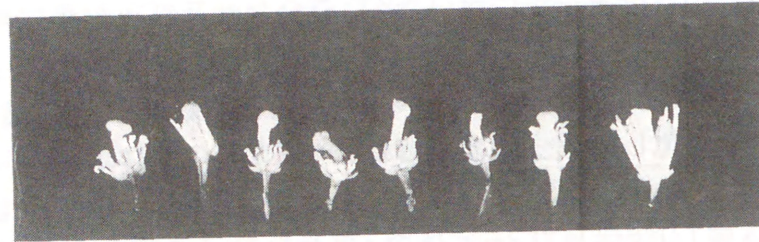
考 察

Iwamasa(1966)は、カンキツにおけるやくの退化はウンシュウミカンの細胞質を持つ実生にのみ出現し、これが多数の植物に認められる核と細胞質の相互作用によって発現する雄性不稔性(細胞質-核遺伝子型雄性不稔)である可能性を示唆した。奥代ら(1982)は、ウンシュウミカン花粉親として用いた4組み合わせのうち、「平紀州」、クレメンティン及びヒュウガナツを種子親にした場合に、やくの退化した実生の出現を、それぞれ6個体、29個体、23個体中1個体しか認めなかった。しかし、「アンコール」を種子親とした場合、17個体中11個体の実生でやくが退化していた。更に今回の調査で「アンコール」に「ミネオラ」、「マーコット」及び「セミノール」を交配してもやくの退化した実生が、それぞれ61個体中8個体、43個体中10個体、26個体中7個体出現した。これらの結果から、ウンシュウミカンに加えて、「アンコール」を種子親とした場合にも、やくの退化する実生が出現することが明らかとなった。

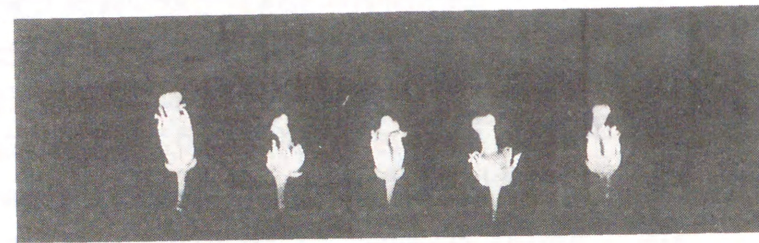
しかし、このことはカンキツにおけるやくの退化が細胞質-核遺伝子型雄性不稔である可能性を否定するものではない。なぜなら、カンキツ属には多



Encore X Minneola



Encore X Murcott



Encore X Seminole

Fig. 2. Flowers of hybrid seedlings with aborted anthers resulting from crosses of 'Encore' with 'Minneola', 'Murcott' and 'Seminole', respectively.

数の種・品種が存在するにもかかわらず、やくの退化はウンシュウミカンと'アンコール'の細胞質を持つ実生以外にはほとんど発現していないからである。

やくの退化に細胞質が関与しているかどうかを明らかにすることは、やくの退化を利用した無核性育種を進める際の、交配親選択上極めて重要なことである。細胞質-核遺伝子型雄性不稔の確認は、同一組み合わせでの正逆交雑で、雄性不稔の個体の出現率に差があるかどうかで判定する (Jones, 1943) のが基本であるが、従来の報告では、種子親にやくの退化した品種を用いているため正逆交雑が不可能であったり (奥代ら, 1982; Vardi・Spiegel-Roy, 1988), ウンシュウミカンを種子親, 花粉親の双方に用い

ている場合でも、交雑した相手品種が異なるため正逆交雑になっていなかった (奥代ら, 1982; 吉田・花折, 1990)。従って、細胞質の関与の有無についての決定はできなかった。本節で示した通り、'アンコール'を種子親に用いたときに、やくの退化した実生が出現した。'アンコール'は多胚性のウンシュウミカンと異なり、単胚性であるので交雑実生の獲得が容易である。しかも花粉の稔性があることから、種子親にも花粉親にも用いることができる。この品種を用いた正逆交雑を実施することで、やくの退化が細胞質-核遺伝子型雄性不稔かどうかについて、今後明らかにできるものと思われる。

また、多数の作物で不稔性の細胞質を持つ品種のミトコンドリアDNAは、正常な細胞質のミトコンドリアDNAと電気泳動によって区別することができる (Kemblerら, 1980; Kadowakiら, 1986)。しかし、カンキツにおいてはミトコンドリアDNAの多型が分類に有効であることは明らかになっているが (Yamamotoら, 1993), 雄性不稔とミトコンドリアDNAの関係についてはまだ解明されていない。今後は交配試験に加えて、この点からもやくの退化の発現と細胞質との関係について検討する必要がある。

Table 3. Relationship between presumed parental genotype and expected ratio.

Type	Cross combination	No. of genes	Parental genotypes	Expected ratio	
				MS ^Z	MF ^Z
MSXMF	Kiyomi X Encore	1	msms X MSms	1:1	
		2	ms ₁ ms ₁ ms ₂ ms ₂ X Ms ₁ ms ₁ ms ₂ ms ₂		
MFXMF	Encore X Murcott and Encore X Seminole	1	MSms X MSms	1:3	
		2	MS ₁ ms ₁ ms ₂ ms ₂ X Ms ₁ ms ₁ ms ₂ ms ₂		
	Encore X Minneola	2	MS ₁ ms ₁ ms ₂ ms ₂ X Ms ₁ ms ₁ MS ₂ ms ₂	1:7	
	Encore X Ponkan	1	MSms X MSMS	0:1	
		2	MS ₁ ms ₁ ms ₂ ms ₂ X Ms ₁ MS ₁ ----- ^Y or ----- ^X MS ₂ MS ₂		

^Z MS: Male sterile (aborted anthers), MF: Male fertile.

^Y Anything out of MS₂MS₂, MS₂ms₂ or ms₂ms₂ is fitted.

^Z Anything out of MS₁MS₁, MS₁ms₁ or ms₁ms₁ is fitted.

カンキツにおけるやくの退化は、単純な遺伝をすることが示唆されている (Iwamasa, 1966)。本報告において、‘アンコール’を種子親とした組み合わせのうち、‘ミネオラ’、‘マーコット’及び‘セミノール’を花粉親とした場合に、やくの退化と花粉形成に分離が認められた。このように、花粉を形成する品種同士の交雑によってやくの退化を示す実生が出現したことから、花粉形成はやくの退化に対して優性であり、‘アンコール’及び‘ミネオラ’、‘マーコット’及び‘セミノール’はやくの退化に関する遺伝子をヘテロに有していると考えることができた。‘アンコール’×ポンカンの組み合わせからは、やくの退化した実生が出現しなかった。このことから、ポンカンはやくの退化に関する遺伝子について優性ホモと推定できた。

更に、分離比について検討すると(第3表)、やくの退化した‘清見’に‘アンコール’を交配した場合、実生の分離比は1:1に適合した。また、‘アンコール’を種子親として、‘マーコット’及び‘セミノール’を花粉親にした場合には、やく退化:花粉形成の比が1:3に適合した。前者の劣性ホモ×ヘテロで1:1に分離し、後者のヘテロ同士の交雑で1:3に分離したことから、‘アンコール’、‘マーコット’及び‘セミノール’の遺伝子型は同じであると仮定できた。

一方、‘ミネオラ’を花粉親としたときには、やく退化:花粉形成の比は1:3には適合せず、1:7に適合した。やくの退化が1遺伝子に支配されているものと仮定すると、ヘテロ同士の交雑では分離比は常に1:3となる。2遺伝子がやくの退化に関与しているとする、ヘテロ同士の交雑でも1:3及び1:7の分離比の設定が可能となる。限られた組み合わせのため断定はできないが、この結果から、カンキツにおけるやくの退化は1遺伝子だけの支配ではなく、2遺伝子に支配されている可能性が強いように思われた。

以上のように、‘アンコール’を種子親に用いると、一定の割合でやくの退化した実生が出現することが認められた。やくの退化と含核数との関係については不明な点が多いが、やくの退化した個体の含核数は少ないとする報告があることから(奥代ら, 1982; 吉田・花折, 1990)、やくの退化の利用は無核性品種の育種をすすめるうえで有効であると考えられる。また、‘アンコール’は糖度の高い果実を結実し、交配親に用いた場合、果実糖度の高い実生が多数出現する(松本ら, 1988)。従って、‘アンコール’を種子親とする組み合わせを実施することで、やくの退化した無核で果実の糖度の高い品種を育成することが可能になると思われる。

摘 要

カンキツにおけるやくの退化は、ウンシュウミカンの細胞質を持つ品種を種子親にした場合にのみ出現するとされてきたが、‘アンコール’を種子親にし、数品種を花粉親とした交雑実生群においてもやくの退化した実生が出現するか否かについて検討した。

1. ‘アンコール’を種子親に、ポンカンを花粉親にした36個体の交雑実生では、やくの退化した個体は出現しなかったが、‘ミネオラ’、‘マーコット’及び‘セミノール’を花粉親にしたときには、それぞれ61個体中8個体、43個体中10個体及び26個体中7個体にやくの退化が認められた。

2. これらの結果から、やく退化の遺伝子に関して、ポンカンは優性ホモ、‘アンコール’、‘ミネオラ’、‘マーコット’及び‘セミノール’はヘテロであると推定できた。また、‘ミネオラ’の遺伝子型は分離比から見て他のヘテロ品種とは異なるのではないかと思われた。

第2節 やくの退化した品種を種子親に用いたときのやくの退化の遺伝

緒言

カンキツの雄性不稔の遺伝に関する研究としては、花粉母細胞の早期退化 (Frost, 1943 ; Iwamasa, 1966) , 染色体不対合 (Iwamasa, 1966 ; Vardi・Spiegel-Roy, 1981) , 花粉稔性の分離 (上野, 1986) などの報告がある。やくの退化の遺伝に関しても、1) Iwamasa (1966) によるウンシュウミカン及び本章第1節の‘アンコール’を種子親としたときの交雑実生での分離比から、少数の遺伝子に支配されていること、2) ウンシュウミカン等限られた品種を種子親にしたときにしか発現しないことから、細胞質一核遺伝子型雄性不稔の可能性があること (Iwamasa, 1966 ; 奥代ら, 1982) が知られている。しかし、いずれの報告も調査された交雑実生数が遺伝様式の解明には不十分で、その詳細については良くわかっていない。

果樹試験場口之津支場においては、やくの退化した単胚の種子親を用い、無核性品種の育成を進めている。本節では、それら単胚でやくの退化した5品種を種子親に用いたときの交雑実生のやくの状態を調査し、やくの退化の遺伝様式について検討した。併せて、着果した交雑実生については含核数についても調査し、やくの退化した品種を種子親に用いたときの交雑実生における無核果の出現率についても検討した。

材料及び方法

1987年から1989年にかけて、果樹試験場口之津支場育種圃場に栽植されている、やくの退化した種子親5品種 (系統を含む) と花粉親9品種 (系統を含む) による (第4表) 18組み合わせ418個体のやくの状態を調査した。やくの状態は肉眼により調査し、退化、花粉量少 (‘アンコール’程度) , 中 (‘宮内伊予柑’程度) , 多 (ハッサク程度) の4段階で評価した (第3図) 。調査はやくの裂開が盛んな晴天日の午後に行なった。原則として単年度のみの調査としたが、花粉の形成が不明瞭な個体については複数年調査した。

交雑実生の含核数は、着果結実したものについて、1987年から1989年にかけて調査した。含核数は開花期に袋掛けをしていない自然受粉果を用い、各個体10果を、無核 (無核果率80%以上) , 少 (無核果率80%未満, 含核数1個以上5個未満) , 中 (無核果率80%未満, 含核数5個以上10個未満) , 多 (無核果率80%未満, 含核数10個以上) で評価し、示した。3年の反復調査を原則とし、調査年の値を平均して実生の含核数とした。交配親の含核数及び無核果率は、1989年に開花期に袋掛けをしていない自然受粉果50果を調査し、求めた。

Table 4. Citrus varieties used as parents.

Commonname	Latin name (Cross combination)
Seedparents	
Kiyomi	<i>C. unshiu</i> `Miyagawawase' X <i>C. sinensis</i> `Trovita'
E.O-21 ^z	Encore ^y X <i>C. unshiu</i> `Okitsuwase'
H.F-9 ^z	<i>C. unshiu</i> `Hayashi unshiu' X <i>C. sinensis</i> `Fukuhara'
K.O-14 ^z	Kiyomi X <i>C. unshiu</i> `Okitsuwase'
K.O-21 ^z	Kiyomi X <i>C. unshiu</i> `Okitsuwase'
Pollen parents	
Fairchild	<i>C. clementina</i> `Clementine' X Orlando ^y
Minneola	<i>C. paradisi</i> `Duncan' X <i>C. tangerina</i> `Dancy'
Murcott	parentage unknown, possibly tangor
Page	Minneola X <i>C. clementina</i> `Clementine'
Ootani iyokan	<i>C. iyo</i> Hort. ex Tanaka
Robinson	<i>C. clementina</i> `Clementine' X Orlando
K-4 ^z	<i>C. unshiu</i> `Hayashi unshiu' X <i>C. clementina</i> `Clementine'
K-14 ^z	Encore ^y X <i>C. reticulata</i> `NakanoNo.3ponkan'
No.2700 ^z	Kiyomi X <i>C. sinensis</i> `Trovita'

^zThese hybrids are selected in Kuchinotsu Branch, Fruit Tree Research Station.

^yEncore: *C. nobilis* `King' X *C. deliciosa* `Willowleaf', Orlando: *C. paradisi* `Duncan' X *C. tangerina* `Dancy'

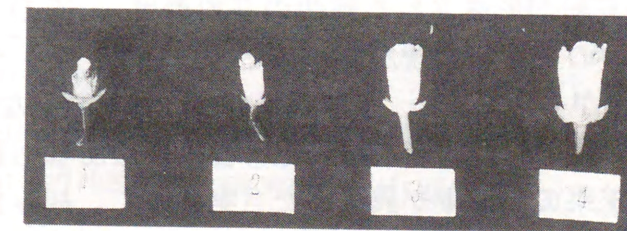


Fig. 3. Standard for determining the degree of male fertility. 1: Aborted anthers `Kiyomi', 2: Poor yield of pollen-grains `Encore', 3: Medium yield of pollen grains `Miyachi iyokan', 4: Rich yield of pollen grains `Hassaku'.

花粉親の花粉稔性は本章第1節と同様、花粉500粒をアセトカーミン液を用いて染色し、顕微鏡で観察して花粉粒の内部が染色されたものを稔性花粉とし、算出した。

結 果

やくが退化した種子親の自然受粉果の平均含核数及び無核果率を第5表に示した。含核数はいずれの品種でも1.0個以下であり、特に‘K.O-14’及び‘K.O-21’の含核数が少なかった(各0.1個)。無核果率は含核数の少ない‘K.O-14’で96.0%、‘K.O-21’で98.0%と高かったが、‘E.O-21’及び‘H.F-9’ではそれぞれ64.0%及び56.0%とやや低い値を示した。

花粉親では‘ミネオラ’、‘ページ’及び‘大谷伊予柑’の花粉量が比較的多く、花粉稔性は‘K-4’(66.8%)を除いて80%以上であった。平均含核数は0.4個から11.3個まで幅広く分布し、無核果率も品種によって大きな差があった(第6表)。

全ての組み合わせでやくの退化した実生が現われたが、その出現率は組み合わせにより異なっており(第7表)、種子親よりも花粉親の影響が強く働いていた。‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’を花粉親とした組み合わせでは種子親の違いにかかわらず、花粉が形成される実生が多かったが、それ以外の品種を花粉親とした場合には、組み合わせによってばらつきがあるものの、およそ半数の実生のやくが退化していた。‘フェアチャイルド’、‘マーコット’、‘ページ’、‘大谷伊予柑’、‘K-4’、‘K-14’及び‘No. 2700’を花粉親とした12組み合わせでは、やく退化：花粉形成の分離比は、2組み合わせを除いて1:1に適合した(第8表)。一方、‘ミネオラ’を花粉親に用いた組み合わせでは1:3に適合し、‘ロビンソン’を花粉親とした組み合わせでは1:1及び1:3の両者とも適合しないこともあったが、1:1よりも1:3の比の方が実測値に近かった(第9表)。花粉親の花粉量及び花粉稔性とその交雑実生のやくの退化の出現率との間には、関係が認められなかった。花粉が形成された実生の花粉量は、‘E.O-21’×‘マーコット’で花粉量中の実生の出現が多かったことを除いて、全ての組み合わせで花粉量少の実生が多数を占め、花粉量多の実生は出現しなかった。

平均含核数については、花粉親だけでなく種子親の影響も認められ、組み合わせによって無核果の出現率が異なった(第7表)。組み合わせ当たりの結実数が十分ではなく、自然受粉果の調査であるため明瞭な結果は得られなかったが、‘E.O-21’及び‘H.F-9’の実生がほとんど有核果であったのに対し、‘清見’を種子親とした場合に、実生での無核果の出現率は高くなった。また、‘ロビンソン’を花粉親とした組み合わせの実生では、ほとんどが花粉を形成したにもかかわらず、無核果の出現する割合が高かった。

Table 5. Number of seeds per fruit and percentage of seedless fruits of seed parents with aborted anthers.

Variety	Number of seeds per fruit ^z	Percentage of seedless fruits ^z
Kiyomi	0.7±0.26	82.0
E.O-21	0.6±0.15	64.0
H.F-9	1.0±0.24	56.0
K.O-14	0.1±0.06	96.0
K.O-21	0.1±0.10	98.0

^z Average of 50 open pollinated fruits.

Table 6. Pollen yield, pollen viability, number of seeds per fruit and percentage of seedless fruits of pollen parents.

Variety	Pollen yield ^y	Pollen fertility ^x (%)	Number of seeds per fruit ^z	Percentage of seedless fruits ^z
Fairchild	poor	86.2	6.2±0.91	6.0
Minneola	medium	89.7	4.6±1.10	50.0
Murcott	poor	82.2	11.3±0.85	2.0
Page	medium	82.1	0.7±0.26	88.9
Ootani iyolan	medium	89.3	2.1±0.53	40.0
Robinson	poor	94.7	1.6±0.36	54.0
K-4	poor	66.8	0.4±0.19	84.0
K-14	poor	93.1	8.2±0.76	4.0
No.2700	poor	91.9	0.8±0.22	62.0

^z See footnote on Table 5.

^y Standard varieties giving poor, medium and rich pollen yield are Encore, Miyauchi iyokan and Hassaku, respectively (Fig. 1).

^x Pollen viability was determined by an acetocarmin smear method.

Table 7. Distribution of male fertility and number of seeds per fruit in hybrid citrus seedlings.

Cross combination	No. of flowers observed	Male fertility (Pollen yield ^y)				No. of fruits observed	Number of seeds per fruit ^x			
		MS ^z	Poor	Medium	Rich		0	Few	Medium	Many
E. O-21 X Fairchild	44	17	22	5	0	21	0	10	9	2
E. O-21 X Minneola	44	10	23	11	0	28	3	10	11	4
E. O-21 X Murcott	5	1	0	4	0	0	-	-	-	-
H. F-9 X K-14	18	4	11	3	0	10	0	3	6	1
H. F-9 X Minneola	12	3	6	3	0	6	2	2	2	0
H. F-9 X Murcott	12	7	5	0	0	8	1	2	4	1
K. O-14 X Minneola	11	2	7	2	0	0	-	-	-	-
K. O-14 X Murcott	14	5	9	0	0	14	2	6	6	0
K. O-14 X Page	18	10	6	2	0	10	4	4	1	1
K. O-21 X K-14	6	3	2	1	0	7	4	3	0	0
K. O-21 X Minneola	4	1	2	1	0	4	1	1	2	0
K. O-21 X Robinson	11	3	8	0	0	11	7	3	1	0
Kiyomi X K-14	21	16	5	0	0	12	9	1	2	0
Kiyomi X K-4	27	17	6	4	0	20	8	10	1	1
Kiyomi X No. 2700	30	19	9	2	0	19	11	8	0	0
Kiyomi X Ootani iyokan	65	37	27	1	0	36	26	7	3	0
Kiyomi X Page	23	9	13	1	0	14	7	4	1	2
Kiyomi X Robinson	48	5	41	2	0	38	24	13	1	0

^zMS: Male sterile (aborted anthers).

^ySee footnote on Table 6.

^zFew: 1-5, medium: 5-10, many: more than 10.

Table 8. Segregation for aborted anthers in citrus hybrid seedlings made with 'Fairchild', 'Murcott', 'Page', 'Ootani iyokan', 'K-4', 'K-14' and 'No.2700' as pollen parents.

Cross combination	No. of seedlings	Male fertility ^z		Expected ratio	X ²	P
		MS	MF			
H. F-9 X K-14	18	4	14	1:1	5.56	0.001-0.01
K. O-21 X K-14	6	3	3	1:1	0.00	0.9<
Kiyomi X K-14	21	16	5	1:1	5.76	0.001-0.01
Total	45	23	22	1:1	0.02	0.8-0.9
K. O-21 X Murcott	5	1	4	1:1	1.80	0.1-0.2
H. F-9 X Murcott	12	7	5	1:1	0.33	0.5-0.7
K. O-14 X Murcott	14	5	9	1:1	1.14	0.2-0.3
Total	31	13	18	1:1	0.81	0.3-0.5
K. O-14 X Page	18	10	8	1:1	0.22	0.5-0.7
Kiyomi X Page	23	9	14	1:1	1.09	0.2-0.3
Total	41	19	22	1:1	0.22	0.5-0.7
E. O-21 X Fairchild	44	17	27	1:1	2.28	0.05-0.1
Kiyomi X K-4	27	17	10	1:1	1.81	0.1-0.2
Kiyomi X No. 2700	30	19	11	1:1	2.13	0.1-0.2
Kiyomi X Ootani iyokan	65	37	28	1:1	1.25	0.2-0.3

^zMS: male sterile (aborted anthers), MF: male fertile.

Table 9. Segregation for aborted anthers in citrus hybrid seedlings made with 'Minneola' and 'Robinson' as pollen parents.

Cross combination	No. of seedlings	Male fertility ²		Expected ratio	X ²	P	Expected ratio		X ²	P
		MS	MF							
E. O-21 X Minneola	44	10	34	1:1	13.09	<0.001	1:3	0.12	0.7-0.8	
H. F-9 X Minneola	12	3	9	1:1	3.00	0.05-0.1	1:3	0.00	0.9<	
K. O-14 X Minneola	11	2	9	1:1	4.45	0.02-0.05	1:3	0.27	0.5-0.7	
K. O-21 X Minneola	4	1	3	1:1	1.00	0.3-0.5	1:3	0.00	0.9<	
Total	71	16	55	1:1	21.42	<0.001	1:3	0.23	0.5-0.7	
K. O-21 X Robinson	11	3	8	1:1	2.27	0.1-0.2	1:3	0.03	0.8-0.9	
Kiyomi X Robinson	48	5	43	1:1	30.08	<0.001	1:3	5.44	0.01-0.02	
Total	59	8	51	1:1	31.34	<0.001	1:3	4.12	0.02-0.05	

²MS: male sterile (aborted anthers), MF: male fertile.

考 察

本節においては、やくの退化した交雑実生の出現する割合には、種子親の影響がほとんど認められなかった。しかし、奥代ら（1982）はウンシュウミカン及び‘清見’を種子親とした交雑実生に現われるやくの退化した個体の出現率は、花粉親によって異なること、‘清見’を種子親に用いた組み合わせでは、ウンシュウミカン以上にやくの退化個体が多かったことを報告している。また、吉田（1982）の調査によると‘スイートスプリング’及び‘清見’を種子親とした交雑実生では、やくの退化した実生の出現率は‘スイートスプリング’を種子親としたときの方が高く、花粉親の違いもその出現率に影響を及ぼした。

これらの結果では、やくの退化した実生の出現率に、花粉親だけでなく種子親の影響も認められており、その点が本節の結果と異なっている。その理由としては、本節で用いた種子親5品種のやくが全て退化していたのに対し、ウンシュウミカン及び‘スイートスプリング’は、花粉形成能は低いものの、やくは退化しておらず（Yang and Nakagawa, 1969a; 1969b; 仁藤・岩政, 1985）、やくの退化している‘清見’とはやくの退化に関する遺伝子型が異なっていたことが考えられる。更に、これらの報告では、それぞれ‘清見’及びウンシュウミカンならびに‘清見’及び‘スイートスプリン

グ’の花粉親が一致しておらず、種子親の影響と花粉親の影響が混同された可能性もある。

本報告においては、交雑実生群でのやくの退化と花粉形成の分離は、組み合わせによってばらつきがあったものの、種子親の影響は不明瞭であった。このことから、やくの退化した5品種の種子親の遺伝子型に差異がないことが考えられた。

一方、花粉親の違いは、交雑実生群におけるやくの退化と花粉形成の分離に影響を及ぼした。‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’を花粉親とした場合、その他の品種を花粉親とした時に比べて、やくの退化した実生の出現率が低かった。これは、‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’とそれ以外の花粉親との間にやくの退化に関する遺伝子型に差異がある可能性を示しているものと思われる。

そこで、各組み合わせにおけるやくの退化と花粉形成の分離比について検討した。‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’以外の花粉親を用いた組み合わせでは、やくの退化と花粉形成の比が1:1の分離比に適合した。しかし、‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’を花粉親とした組み合わせでは1:1より1:3の方が実際の分離に近かった。このことから、カンキツにおけるやくの退化に関する核遺伝子について、本報告で用いた花粉親は、ヘテロであり、その遺伝には複数の遺伝子が関与している可能性が強いことが明らかとなった。

‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’以外の品種を花粉親に用いた場合には、実生での分離比は2組み合わせを除いた全組み合わせで、やくの退化:花粉形成=1:1に適合した（第8表）。組み合わせ別でなく花粉親ごとに適合度を調べると、この場合には1:1の比がよく適合した。しかしながら、‘ミネオラ’を花粉親とした全ての組み合わせで、やくの退化:花粉形成の比は1:1よりも1:3によく適合した。‘ロビンソン’を花粉親としたときには1:1及び1:3の両者とも適合しない組み合わせもあったが、全体に1:3の方が実測値に近かった（第9表）。

以上の結果から、やくの退化した種子親及び花粉親の核遺伝子型を次のように推定した。

種子親はやくの退化に関する遺伝子を劣性ホモに持つ。全ての組み合わせでやくの退化と花粉形成が分離したことから、全ての花粉親の遺伝子構成はヘテロとなる。1遺伝子が関与しているものと仮定すると、分離比は、やくの退化:花粉形成=1:1となり、ほとんどの花粉親を用いた組み合わせに適合する。しかし、‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’を花粉親にしたときの分離比は、1:1よりも1:3に近かった。1:3の比は1遺伝子では出現せず、2遺伝子が関与しているとするにあてはまる。

摘 要

やくの退化した5品種を種子親に用いた18組み合わせ418個体のやくの状態を調査し、やくの退化の遺伝様式について検討を加えた。併せて、着果したものについては含核数についても調査した。

1. 全ての組み合わせでやくの退化した実生が現われたが、出現率は組み合わせにより異なっていた。‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’を花粉親とした組み合わせでは花粉が形成された実生が多かったが、それ以外の組み合わせでは約半数の実生のやくが退化していた。含核数についても組み合わせの違いにより実生個体での無核果の出現率は異なり、この場合には花粉親の影響も認められた。

2. ‘ミネオラ’及び‘ロビンソン’を花粉親とした組み合わせでは1:1より1:3の方が実際の分離に近かった。しかし、それら以外の花粉親を用いた組み合わせでは、やくの退化と花粉形成の比が1:1の分離比に適合した。このことから、カンキツにおけるやくの退化に関する核遺伝子について、本報告で用いた花粉親は、ヘテロであること、やくの退化は劣性ホモで発現すること、その遺伝には複数の遺伝子が関与している可能性が強いことが明らかとなった。

本章第1節において、‘アンコール’を交配親に用いた5組み合わせの実生についてやくの退化を調査したときにも、‘ミネオラ’の遺伝子型が他のヘテロ品種とは異なっていると解釈できる結果を得ている。

これらのことから、やくの退化は1遺伝子に支配されている可能性も否定できないが、2遺伝子に支配されている可能性の方が強いものと考えられた。

以上の結果、やくの退化した品種は、やくの退化に関する核遺伝子を劣性ホモに持つこと、遺伝子数は複数である可能性が強いことが明らかになった。

カンキツのやくの退化が核遺伝子だけの作用によるものか、核遺伝子と細胞質遺伝子の相互作用によって発現するのかという問題は、本節においても解明できなかった。第1節でも述べたように、細胞質-核遺伝子型雄性不稔の確認は、同一組み合わせでの正逆交雑において、雄性不稔の出現率に差が見られるかどうかで判定する(Jones, 1943)。しかし、本節で用いた種子親は全てやくが退化しており、花粉親としては使えないことから、この点については明らかにできなかった。

含核数については、やくの退化は直ちに無核には結びつかないとする報告(吉田, 1982)や、やく退化個体で無核または含核数の少ないものが多いとする報告(奥代ら, 1982)があり、やくの退化がどの程度無核につながるかについてはまだ一定の見解が得られていない。本節においては、実生におけるやくの退化と含核数の関係については調査しなかったため、この点については言及できないが、組み合わせによって実生での含核数に差が認められた。含核数には種子親の違いも影響し、‘E.O-21’及び‘H.F-9’の実生の多くは種子を含んでいた。‘E.O-21’及び‘H.F-9’は自然受粉果の無核果率が他の種子親品種と比較するとやや低く、雌性不稔性があまり高くないものと推測できる。この形質が実生に遺伝することにより、‘E.O-21’及び‘H.F-9’を種子親とする実生では有核果が多数出現したのかもしれない。また、‘ロビンソン’を花粉親に用いたときの実生にはやくの退化した個体が少なかったのにもかかわらず、無核果が多数出現した。この理由についても明らかでないが、‘ロビンソン’の自家不和合性(Reece and Register, 1961)が遺伝したこと、‘ロビンソン’を花粉親とした組み合わせの実生の花粉量が少なかったことなどが影響しているものと思われる。7実生の

以上のように、本節ではカンキツにおけるやくの退化の遺伝の全てを解明することはできなかったが、やくの退化した品種を種子親に用いると、最大限約半数の実生のやくが退化することが明らかになった。この知見は実際のカンキツ育種の場において、無核性品種育成の効率化の推進に寄与することであろう。