

自家不和合性遺伝子型を用いた ‘水晶文旦’ および「90T9」の由来の推定

谷本 佑

Estimating the Origins of ‘Suisho-buntan’ (*Citrus grandis* Osbeck) and
Pummelo Hybrid ‘90T9’ Based on Self-incompatibility Genotype

Yuu TANIMOTO

要 約

カンキツ類の自家不和合性遺伝子型を用いて、‘水晶文旦’および「90T9」の由来を推定した。その結果、‘水晶文旦’は最も信ぴょう性が高いとされている‘土佐文旦’（種子親）と‘晚王柑’（花粉親）の交雑実生ではないと考えられた。また、「90T9」は‘土佐文旦’（種子親）と‘水晶文旦’（花粉親）の交雑実生で、‘水晶文旦’と同じ自家不和合性遺伝子型を持つと考えられた。

キーワード: 文旦, 花粉管, 交雑和合性, S 遺伝子型

はじめに

高知県の特産カンキツ類の一つである‘水晶文旦’ (*Citrus grandis* Osbeck) は少核性のため、交雑母本としても広く用いられている。近年では、‘瑞季’（‘水晶文旦’に‘サザンイエロー’を交配²⁾や‘ボナルーナ’（‘土佐文旦’に‘水晶文旦’（染色体倍化処理した花粉を使用）を交配⁶⁾等の育成に用いられ、当県育成の無核性ブンタン系統「90T9」も、花粉親は‘水晶文旦’の可能性¹⁴⁾がある。

しかし、‘水晶文旦’自体の由来は明確となっていない。‘水晶文旦’は、高知県室戸市の民間育種家であった戸梶清氏により1952年頃に育成されたが、育成の経過が明示されておらず、岩政¹⁾、光江（光江修一（1974）, 水晶文旦の栽培, 私費出版）によると、最も信ぴょう性が高いのは‘土佐文旦’（種子親）と‘晚王柑’（花粉親）の交雑実生であるとされている。栽培品種としても有用な特性を持つ‘水晶文旦’および胚珠が極めて少なく減酸が早い「90T9」の由来を明らかにすることは、今後の効率的な育種に大いに役立つと考えられる。

そこで本研究では、ブンタン類の自家不和合性に着目し、自家不和合性遺伝子型（以下、S 遺伝子型）から‘水晶文旦’の由来の推定を試みた。あわせて、「90T9」の花粉親の推定も試みた。さらに、矢野ら¹⁴⁾が報告した‘はやさき’（種子親）と「90T9」（花

粉親）での不親和現象について、新たな知見が得られたので報告する。

なお、試験の実施に当たっては、九州大学大学院農学研究院の酒井かおり准教授および若菜章前准教授に、サンプルの提供および有益な助言を頂いた。また、本報告の執筆に当たっては、山口大学大学院創成科学研究科農学系領域の金貞希准教授から丁寧なご指導を頂いた。ここに記して深く感謝の意を表する。

材料および方法

果樹試験場内（高知市朝倉）の露地ほ場植栽または鉢植えの「90T9」、‘水晶文旦’、‘土佐文旦’、‘晚王柑’、‘はやさき’、‘紅まどか’および‘日向夏’ならびに九州大学農学部附属農場果樹研究室園内ほ場で採取した‘晚白柚’自家交雑実生の「BS6」、 「BS29」（ともにS 遺伝子型が S_1S_1 ）⁴⁾および‘クレメンティン’自家交雑実生の「CS46」（S 遺伝子型は S_2S_2 ）³⁾を供試した。なお、「BS6」および「BS29」は‘晚白柚’、「CS46」は‘クレメンティン’の自家交雑実生で、これらは蕾受粉（開花直前の花蕾長の約半分の長さで自家受粉した場合、自家不和合性反応が起これら交雑実生が得られる性質を利用¹¹⁾）により作出された系統である。

2011～2015 年の各品種・系統の開花直前に除雄して受粉した後、7 あるいは 10 日後に各 2～8 花の雌ずいを採取し、FAA 液 (70%エタノール:ホルマリン:酢酸=90:5:5) で固定した。0.5N 水酸化ナトリウムに 60 分浸漬した後、水洗いして花柱を上部、中部、基部に 3 等分し、薄く輪切りにして 0.1%アニリンブルー / 0.1N リン酸三カリウム溶液に漬け、3°C の冷蔵庫内に 12 時間以上静置して染色した。染色した花柱切片について、花柱溝内の花粉管を蛍光顕微鏡で数えた。花柱上部で複数の花粉管が見られ、花柱基部の全ての花柱溝内で花粉管が見られない組み合わせを不和合性と判定した (図 1)。

‘水晶文旦’ (種子親) と ‘はやさき’ (花粉親) の交配 (以下、交配組み合わせを、種子親 × 花粉親で表記) については、2012 年 12 月に果実を収穫し、完全種子数および不完全種子数を調査した。

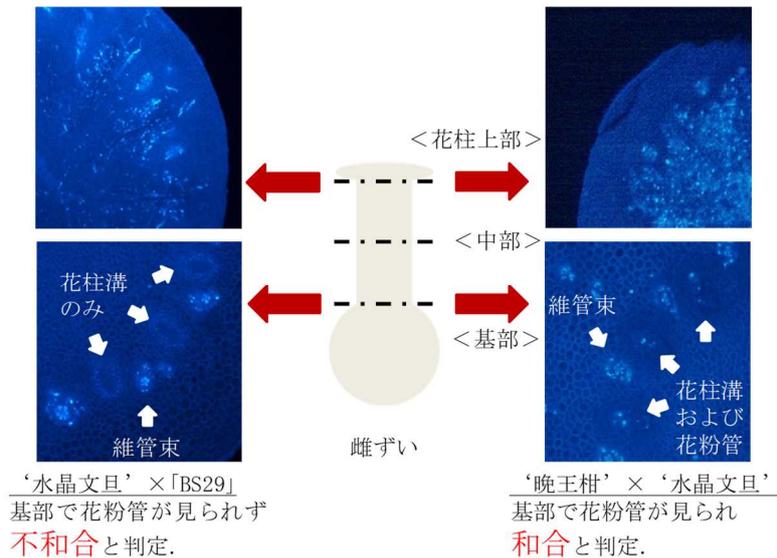


図 1 交雑(不)和合性の判定方法

考 察

カンキツ類は配偶体型自家不和合性で、共顕性 (共優性) である 1 組の対立遺伝子座により支配されている¹⁰⁾。配偶体型自家不和合性では、花粉は自身が持つ S 対立遺伝子により表現型が支配され、雌ずいは 2 つの S 対立遺伝子の両方の性質を示す¹²⁾。例えば、S 遺伝子型が S_1S_2 である花粉親個体からは、 S_1 または S_2 対立遺伝子を持つ花粉が生成される。S 遺伝子型が S_1S_3 である種子親個体の雌ずいにこれらの花粉が付着したとき、 S_1 対立遺伝子を持つ花粉の花粉管伸長は花柱内で停止するが、 S_2 対立遺伝子を持つ花粉の花粉管伸長は停止せず、胚のう内まで侵入し受精が成立する。これまで、いくつかの品種・系統の S 遺伝子型が明らかになっており^{3-5, 7, 15)}、本県の基幹果樹品目の一つである ‘土佐文旦’ の S 遺伝子型は S_1S_3 ⁷⁾、本県で発見・品種登録された ‘晩王柑’ の S 対立遺伝子の 1 つは S_4 ¹⁵⁾

結 果

花柱基部で花粉管が見られず不和合性と判定された組み合わせは、「90T9」×「90T9」、「90T9」×「水晶文旦」、「水晶文旦」×「90T9」、「水晶文旦」×「BS6」、「水晶文旦」×「BS29」、「土佐文旦」×「BS6」、「晩王柑」×「BS6」および「晩王柑」×「BS29」であった。花柱基部で花粉管が複数見られ和合性と判定された組み合わせは、「90T9」×「土佐文旦」、「水晶文旦」×「CS46」、「水晶文旦」×「はやさき」、「水晶文旦」×「日向夏」、「土佐文旦」×「90T9」、「土佐文旦」×「水晶文旦」、「晩王柑」×「90T9」、「晩王柑」×「水晶文旦」、「晩王柑」×「日向夏」、「はやさき」×「90T9」、「はやさき」×「水晶文旦」および「紅まどか」×「90T9」であった (表 1)。

‘はやさき’ を受粉した ‘水晶文旦’ 果実の完全種子数は、10 個以上であった (表 2)。

だが、‘水晶文旦’ の S 遺伝子型は明らかでない。

‘水晶文旦’ は ‘土佐文旦’ × ‘晩王柑’ の交雑実生との推察もあり¹⁾、これらを中心に、交雑和合性の関係を調査することが ‘水晶文旦’ の由来を明確にする手がかりになると考え、本研究を実施した。まず、‘水晶文旦’ × 「BS6 (または BS29)」 (S_1S_1) および ‘晩王柑’ × 「BS6 (または BS29)」 (S_1S_1) の組み合わせが不和合性を示したことから、‘水晶文旦’ および ‘晩王柑’ は S_1 対立遺伝子を持つ (それぞれ S_1S_3 , S_1S_4 , S_1 は S 対立遺伝子が不明) と考えられた。また、‘水晶文旦’ × 「CS46」 (S_3S_3)、‘土佐文旦’ (S_1S_3) × ‘水晶文旦’ の組み合わせがいずれも和合性を示したことから、‘水晶文旦’ は S_3 対立遺伝子を持たない ($S_4 \neq S_3$) と考えられた。さらに、‘晩王柑’ × ‘水晶文旦’ の組み合わせが和合性を示したことから、‘水晶文旦’ は S_1 対立遺伝子を持たない ($S_4 \neq S_1$) と考えられた。

表1 プンタン類の品種・系統における交雑和合性

種子親	花粉親	調査 花数	受粉後 日数	花粉管数 ¹⁾			交雑 和合性	調査年
				上部	中部	基部		
90T9 ($S_L S_A$) ^{2, y)}	90T9 ($S_L S_A$)	3	10	5	0	0	不和合	2011
	水晶文旦 ($S_L S_A$)	3	7	> 83	4	0	不和合	2012
	土佐文旦 ($S_I S_3$)	3	7	>100	> 86	17	和合	2012
水晶文旦 ($S_L S_A$) ^{2, y)}	90T9 ($S_L S_A$)	3	10	>100	1	0	不和合	2011
	BS6 ($S_I S_I$)	3	7	>100	22	0	不和合	2015
	BS29 ($S_I S_I$)	8	7	> 89	9	0	不和合	2014
	CS46 ($S_3 S_3$)	2	7	> 77	19	9	和合	2014
	はやさき	3	7	>100	11	9	和合	2012
	日向夏 ($S_I S_B$) ^{z)}	8	7	>100	36	9	和合	2014, 2015
土佐文旦 ($S_I S_3$)	90T9 ($S_L S_A$)	3	10	>100	66	30	和合	2011
	BS6 ($S_I S_I$)	3	7	55	2	0	不和合	2012
	水晶文旦 ($S_L S_A$)	3	7	>100	37	11	和合	2014
晩王柑 ($S_L S_A$) ^{2, y)}	90T9 ($S_L S_A$)	3	10	>100	77	17	和合	2011
	BS6 ($S_I S_I$)	2	7	83	0	0	不和合	2014
	BS29 ($S_I S_I$)	5	7	>100	17	0	不和合	2013
	水晶文旦 ($S_L S_A$)	3	7	>100	39	15	和合	2014
	日向夏 ($S_I S_B$)	4	7	> 94	52	34	和合	2013, 2014
はやさき ^{x)}	90T9 ($S_L S_A$)	3	7	>100	>100	36	和合	2012
	水晶文旦 ($S_L S_A$)	3	7	>100	>100	30	和合	2012
紅まどか ^{x)}	90T9 ($S_L S_A$)	3	10	>100	99	24	和合	2011

z) S_A , S_B はS対立遺伝子が不明。
 y) 下線は、本研究で明らかとなったS遺伝子。
 x) $S_3 S_9$, $S_3 S_{10}$, $S_9 S_{11}$ および $S_{10} S_{11}$ のいずれかのS遺伝子型を持つ。
 w) 数値は平均値で、>はその数値以上の花粉管が観察されたことを示す。

表2 「はやさき」を受粉した「水晶文旦」の果実

果実 No.	果実重 (g)	横径 (cm)	じょう のう数	完全 種子数	不完全種子数	
					5mm以上	5mm未満
No. 1	192.3	8.3	12	13	1	3
No. 2	161.9	8.1	11	14	0	2

「水晶文旦」($S_I S_3$)が「土佐文旦」($S_I S_3$)×「晩王柑」($S_I S_I$)の交雑実生であることが正しいと仮定した場合、「水晶文旦」のS遺伝子型は $S_I S_A$ または $S_3 S_A$ のいずれかとなる。しかし、「水晶文旦」は S_I 対立遺伝子を持ち、かつ S_3 および S_I 対立遺伝子を持たないため矛盾する。したがって、S遺伝子型からみて「水晶文旦」の由来は、「土佐文旦」×「晩王柑」の交雑実生ではないと考えられた。

「90T9」の花粉親について、矢野ら¹⁴⁾は育成当時の施設栽培の状況から、花粉親は「水晶文旦」あるいは「日向夏」のいずれかとしている。そこで、これについても交雑和合性の関係を調査した。「90T9」×「水晶文旦」および「水晶文旦」×「90T9」の組み合わせが不和合性を示したことから、「水晶文旦」と「90T9」は同じS遺伝子型である($S_I S_A$)と考えられた。一方、「水晶文旦」×「日向夏」($S_I S_B$, S_B はS対立遺伝子が不明)の組み合わせが和合性を示したことから、「水晶文旦」と「日向夏」は S_I 対立遺伝子以外に同じS対立遺伝子を持たない($S_A \neq S_B \neq S_I$)と考えられた。

「90T9」($S_I S_A$)の由来が「土佐文旦」($S_I S_3$)×「日向夏」($S_I S_B$)の交雑実生であることが正しいと仮定した場合、「90T9」のS遺伝子型は $S_I S_B$ または $S_3 S_B$ のいずれかとなる。しかし、 $S_A \neq S_3$ かつ $S_A \neq S_B \neq S_I$ であることから、どちらのS遺伝子型も矛盾する。一方で、「土佐文旦」($S_I S_3$)×「水晶文旦」($S_I S_A$)の交雑実生であることが正しいと仮定した場合、「90T9」のS遺伝子型は $S_I S_A$ または $S_3 S_A$ のいずれかとなり矛盾しない。したがって、S遺伝子型からみて「90T9」の由来は、「土佐文旦」×「水晶文旦」の交雑実生であると考えられた。

最後に、矢野ら¹⁴⁾が報告した「はやさき」×「90T9」の不親和現象について、S遺伝子型の観点から検討した。「はやさき」は兄弟品種である「紅まどか」と同時に、1962年に旧果樹試験場興津支場(現国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門)で、「麻豆文旦」に「平戸文旦」を交配して育成された品種である^{8,13)}。矢野ら¹⁴⁾は、「紅まどか」×「90T9」の組み合わせでは結実良好で完全種子が多数得られたのに対し、「はやさき」×「90T9」の組み合わせでは結実率が低

く、完全種子および不完全種子のない単為結果した果実しか獲得できなかったと報告している。また、‘はやさき’×‘水晶文旦’の組み合わせでも同様であったと報告している(未発表)。

本報告では、‘はやさき’×「90T9」、‘はやさき’×‘水晶文旦’および‘紅まどか’×「90T9」の組み合わせともに和合性を示した。また、果実数は少ないものの、‘水晶文旦’×‘はやさき’の果実において完全種子が多数認められた。したがって、‘はやさき’×「90T9」、‘水晶文旦’で観察された交配不親和は、S遺伝子によるものではない作用機構で発生したと考えられた。この交配不親和は、無核性ブンタン品種の更なる育成に有用であると考えられ、今後は受精胚の観察等を行い、原因を明らかにする必要がある。

以上より、‘水晶文旦’および「90T9」の由来に関する従来の説を検証した。ブンタン類の品種・系統は極めて多く、また自然交雑の可能性もある。近年は、DNA マーカーを用いてカンキツ類の類縁関係を明らかにする研究も進んでおり⁹⁾、これらの知見も含め、研究が進展することに期待したい。

利益相反の有無

著者は開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) 岩政正男 (1976). 柑橘の品種. 静岡. 静岡県柑橘農業協同組合連合会. P208.
- 2) 金好純子・北島宣・竹岡賢二・中野龍平・中崎鉄也 (2021). 種子が少なくカットフルーツに適する晩生カンキツ新品種‘瑞季’. 京大農場報告. 30:7-10.
- 3) Kim, J-H., E. Handayani, A. Wakana, M. Sato, M. Miyamoto, R. Miyazaki, X. Zhou, K. Sakai, Y. Mizunoe, M. Shigyo and J. Masuda (2020). Distribution and Evolution of *Citrus* Accessions with S_3 and/or S_{11} Alleles for Self-incompatibility with an Emphasis on Sweet Orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck; S_7S_3 or S_7S_{3m}]. Genet. Resour. Crop. Evol. 67:2101-2117.
- 4) Kim, J-H., T. Mori, A. Wakana, B. X. Ngo, K. Sakai and K. Kajiwara (2011). Determination of Self-incompatible *Citrus* Cultivars with S_1 and/or S_2 Alleles by Pollination with Homozygous S_1 Seedlings (S_1S_1 or S_2S_2) of ‘Banpeiyu’ Pummelo. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 80(4):404-413.
- 5) Kim, J-H., M. Sato, A. Wakana, F. Takamatsu, K. Sakai, M. Sigyo and J. Masuda (2021). Genotyping of *Citrus* Accessions with S_9 and/or S_{10} Alleles for Self-incompatibility and Their Allelic Distribution. Hort. Sci. Technol. 39(6):807-822.
- 6) 北島宣・及部真夕・柳本裕子・山崎安津・西森空・戸梶裕太・小原敬弘・中野龍平・中崎鉄也・舟附秀行・佐藤隆徳 (2023). 三倍体無核性ブンタン新品種‘ポナルーナ’と‘汐里’における自家和合性の程度と結実および種子形成. 園学研. 22(別1):243.
- 7) Ngo, B. X., J-H. Kim, A. Wakana, S. Isshiki and T. Mori (2011). Estimation of Self-incompatibility Genotypes of *Citrus* Cultivars with Got-3 Allozyme Markers. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 80(3):284-294.
- 8) 奥代直巳・七條寅之助・生山巖・松本亮司・石内伝治・高原利雄・村田広野 (1991). カンキツ新品種‘はやさき’. 果樹試報. 20:63-69.
- 9) Shimizu, T., A. Kitajima, K. Nonaka, T. Yoshioka, S. Ohta, S. Goto, A. Toyoda, A. Fujiyama, T. Mochizuki, H. Nagasaki, E. Kaminuma and Y. Nakamura (2016). Hybrid Origins of Citrus Varieties Inferred from DNA Marker Analysis of Nuclear and Organelle Genomes. PLOS ONE. DOI:10.1371/journal.pone.0166969.
- 10) Soot, R. K. (1969). The incompatibility gene system in citrus. Proc. First Int. Citrus Symp. vol. 1:189-190.
- 11) Wakana, A., B. X. Ngo, I. Fukudome and K. Kajiwara (2004). Estimation of the Degree of Self-incompatibility Reaction during Flower Bud Development and Production of Self-fertilized Seeds by Bud Pollination in Self-incompatible Citrus Cultivars. J. Fac. Agr., Kyushu Univ. 49(2):307-320.
- 12) 渡辺正夫・日向康吉 (1994). 自家不和合性研究の最近の動向—分子遺伝学的研究を中心にして—(I). 花粉誌. 40(1):43-53.
- 13) 山田彬雄・奥代直巳・生山巖・七條寅之助・松本亮司・高原利雄・石内傳治・山本雅史・浅田謙介・村田広野・池宮秀和・岩政正男・西浦昌男 (1993). ブンタン新品種‘紅まどか’. 果樹試報. 24:13-22.
- 14) 矢野臣祐・田中満稔・小原敬弘・谷岡英明 (2011). ‘土佐文旦’実生「90T9」の特性. 高知農技七研報. 20:63-71.
- 15) Zhou, X. H., J-H. Kim, A. Wakana, K. Sakai, K. Kajiwara and Y. Mizunoe (2018). Distribution and Evolution of Citrus with S_4 and/or S_5 Gene Alleles for Self-incompatibility with Special Focus on the Origin of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc. : S_7S_4).

Genet. Resour. Crop. Evol. 65:1013-1033.

Summary

'Suisho-buntan' (*Citrus grandis* Osbeck) is a pummelo cultivar with few seeds, whereas '90T9' is a seedless pummelo hybrid. Although both cultivars are useful as breeding parents, their origins are unclear. Therefore, I estimated the origins of these cultivars based on the self-incompatibility exhibited by the genus *Citrus*. My findings suggest that 'Suisho-buntan' is not a hybrid seedling of 'Tosa-buntan' (seed parent) and 'Ban-oka' (pollen parent), which is considered to be the most reliable; but that '90T9' is a hybrid seedling of 'Tosa-buntan' (seed parent) and 'Suisho-buntan' (pollen parent), which had the same self-incompatibility genotype of 'Shisho-buntan'.

Key words: pummelo, pollen tube, cross compatibility, S genotype