

カンキツ‘清見’をコルヒチン処理して得られた個体の特性

津村哲宏・山尾正実・徳永忠士

Characteristics of ‘kiyomi’ tangors treated by the colchicine solution

TSUMURA, T., M. yamao, T. tokunaga

## I 緒言

‘清見’（西浦ら、1983）はそれ自身も優秀な品種であるが、育種親としても優秀な品種であり、今までに‘不知火’（松本、2001）をはじめ多数の品種の種子親となっている（松本ら、1991；奥代ら、1991；三股ら、1997；吉田ら、2000；松本ら、2001）。‘清見’の特徴として、単胚性、雄性不稔で単為結果性があり無核果実が得られるが、雌性稔性が強く、交配されると沢山の種子が形成される。この雌性稔性が強いという形質は後代にも遺伝し、交配組み合わせによっては多数の種子が形成される（山本ら、1992）。無核系が求められている現状では、品質が良くても種子が多いと普及品種として認められにくい。

無核になる要因としては、単為結果性、雄性不稔性、雌性不稔性、自家不和合性等、多数の要因が関連している。無核系育種の手法として、含核数の少ない品種同士の組み合わせでその出現率が高いこと（山本ら、1992）、‘無核紀州’及び‘無核紀州’の後代を花粉親に用いることにより無核系統が高確率で得られること（根角ら、1992）、3倍体カンキツは無核、または、少核になること（Soostら、1980）との報告がある。

無核系作成の一手法である3倍体の育成について、カンキツでは3倍体を獲得する方法として、2倍体の種子の中から小粒種子を播種すると3倍体得られることが知られており（岩政、1976）、‘イヨカン’や‘アンコール’に含まれる小粒種子を播種することにより多数の3倍体得られている（喜多ら、1987）。しかし、3倍体の育成には、4倍体と2倍体の交雑が基本となる。単胚性2倍体カンキツに4倍体カンキツを交配すると3倍体得られるがほとんどの種子は「しいな」となり（立川ら、1961）、また、4倍体や6倍体も得られる（生山ら、1992）。この、2倍体カンキツに4倍体カンキツを交配して4倍体得られる原因として非還元性雌性配偶子の存在を指摘しており（生山ら、1992）、単胚性2倍体カンキツと2倍体カンキツとの交配から3倍体得られる現象も非還元性雌性配偶子の存在によるものであると考えられる。非還元性雌性配偶子の形成は品種によってその程度が異なり（生山ら、1992）、‘清見’に4倍体カンキツを交配して得られた種子から4倍体得られなかった（生山ら、1992）ことは、‘清見’は非還元性雌性配偶子が形成されにくい品種であると考えられ、‘清見’に2倍体カンキツを交配しても3倍体カンキツは得られないと推測される。

カンキツについても、効率的に3倍体を得るには4倍体が必要である。3倍体カンキツ育成事例について、キンカンでは、珠心胚実生変異から得られた4倍体ニンポウキンカン花粉親に単胚性の2倍体長実キンカンに交配を行い、3倍体キンカンの‘ぷちまる’が育成されている（根角ら、2000）。しかし、単胚性2倍体カンキツを種子親とした場合、胚乳が退化し、種子がしいなになる（立川ら、1961）ため胚培養が必要となる。スダチでは、枝変わり得られた4倍体スダチ（多胚性）を種子親に2倍体スダチ花粉親として交配を行い、3倍体スダチ‘徳島3 x 1号’が育成されている（徳永ら、2000）。4倍体多胚性カンキツを種子親とした場合、同品種の2倍体カンキツを種子親とした場合よりも胚数が減少する（立川ら、1961）が、珠心胚の生育が旺盛で交雑胚は退化してしまう場合が多く（生山ら、1992）、交雑実生獲得のためにはやはり胚培養が必要となる。

さらに効率的に3倍体を獲得するためには、完全種子が得られる単胚性4倍体カンキツの存在が必要である。しかし、4倍体カンキツの報告は、単胚性では枝変わりによる4倍体‘日向夏’（下郡ら、1987）、コル

ヒチン処理と簡易茎頂接ぎ木を合わせた方法により育成された‘クレメンティン’‘ハッサク’‘日向夏’‘宮内イヨカン’‘平紀州’(生山ら、1992)の6品種しかない。また、多胚性4倍体カンキツについても、4倍体珠心胚実生、2倍体と4倍体との交雑による4倍体交雑実生(生山ら、1992)、2倍体カンキツのカルスと体細胞との細胞融合による4倍体体細胞雑種(Kobayasiら、1988)等であり、2倍体カンキツの多様性に比べてはるかに劣る。枝変わりによる4倍体の出現(下郡ら、1987;徳永ら、2000)は希だと考えられ、単胚性4倍体カンキツとなると、その人為的作成にはコルヒチン処理しかない。

そこで、2倍体同士の交配では3倍体を得ることが難しく、また、優秀な育種親である‘清見’を種子親として無核系作成の一手法である3倍体を育成するために、コルヒチン処理(生山ら、1992)により‘4倍体清見’を作成し、‘4倍体清見’を種子親として2倍体カンキツとの交配による3倍体カンキツの獲得を試みた。

## II材料及び方法

コルヒチン処理(生山ら、1992)は、1997年5月に未硬化枝の腋芽を切り取り0.1%コルヒチン溶液に室温で2~6時間浸漬後、暗黒下28℃で2週間生育させたカラタチ実生に簡易茎頂接ぎ木を行い、温度28℃、4000ルクス、16時間照明下の室内培養室に置いた。発芽した個体は1998年5月に2年生カラタチに寄接を行い生育を促進させた(高原ら、1981;生山ら、1992)。その中から倍数化していると思われる2個体について、1999年2月にフローサイトメーターによる倍数性調査(竹中ら、1997)を行った。2001年5月に倍数化していると思われる1個体「‘清見’コルヒチン処理個体」に着花が認められたので、‘阿波オレンジ’(日向夏×トロビタオレンジ)及び‘チャンドラポメロ’(ブンタン類)を花粉親として交配を行った。果実は2001年10月に収穫し、得られた種子は各交配組み合わせ18粒について、種皮を剥いてロックウール状の培地に播種した。実生は播種1ヶ月後に、暗黒下28℃で2週間生育させたカラタチに割り接ぎ木を行い、温度28℃、4000ルクス、16時間照明下の室内培養室で3ヶ月生育させた後、2002年4月にガラス室に移し生育させた。なお、得られた実生について2002年2月にフローサイトメーターによる倍数性調査を行った。

## III結果

コルヒチン処理した個体は、ほとんどが枯死したが、十数個体が発芽してきた。そのほとんどが2倍体と変わらない形状であったが、その内2個体が2倍体に比べて葉が厚く倍数化している(生山ら、1992)と思われた。この2個体について染色体数を顕微鏡で調査したところ4倍体の細胞が認められた(写真1)。また、フローサイトメーターによる倍数性調査を行ったところ、1個体は4倍体の細胞よりも2倍体の細胞が多いキメラ個体であった(図1)が、1個体はほぼ倍数化していると思われる個体(以下「‘清見’コルヒチン処理個体」)であった(図2)。生育した「‘清見’コルヒチン処理個体」(写真2)は2倍体‘清見’に比べて葉が厚く幅があり、トゲが大きく、枝数は少ない傾向であり(表1、写真3)、果実は2倍体‘清見’と外観上差は認められず、果皮の厚さにも大きな違いは認められなかった(写真4)。「阿波オレンジ」及び‘チャンドラポメロ’を花粉親として交配を行った果実からは多数の種子が得られ、全てが2倍体の清見の種子に比べて小さかった(写真5)。各交配組み合わせについてそれぞれ種子18粒を播種したところ全て正常に発芽・成長した(写真6)。これらの実生の倍数性についてフローサイトメーターで調査したところ、花粉親が‘阿波オレンジ’では6個体が3倍体(図3)、12個体は2倍体であり、花粉親が‘チャンドラポメロ’で

は 18 個体全てが 2 倍体 (図 4) であった (表 2)。

表 1 ‘清見’ 及び ‘清見’ コルヒチン処理個体の外観特性

	葉の厚さ	葉身指数*	トゲの大きさ	枝数
清見 ( 2 倍 体 )	0.33mm	2.4	無～小	中
清見コルヒチン処理個体	0.45mm	1.8	小～中	少

\* : 葉身指数 = 葉身長 / 葉身幅

表 2 ‘清見’ コルヒチン処理個体から得られた後代実生の倍数性

交配組み合わせ		出現個体数			
♀	♂	2 倍体	3 倍体	4 倍体	合計
清見コルヒチン処理個体	阿波オレンジ	12	6	0	18
清見コルヒチン処理個体	チャンドラポメロ	18	0	0	18

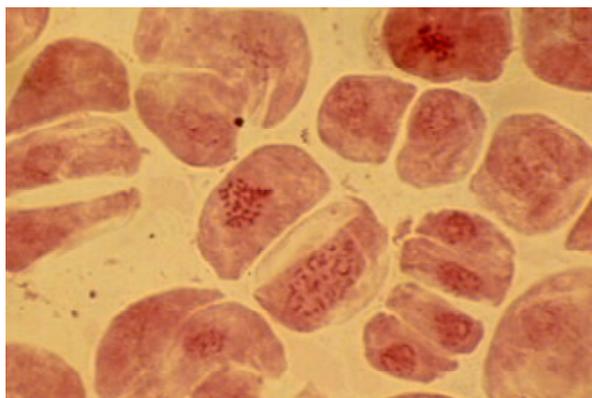


写真 1 ‘清見’ コルヒチン処理個体の染色体数 ( $2n = 36$ )



写真 2 ‘清見’ コルヒチン処理個体の樹 (二代目)



写真3 ‘清見’及び‘清見’コルヒチン処理個体の葉の形状  
右：‘清見’、左：‘清見’コルヒチン処理個体



写真4 ‘清見’及び‘清見’コルヒチン処理個体の果実  
上段：‘清見’コルヒチン処理個体、下段：‘清見’



写真5 ‘清見’及び‘清見’コルヒチン処理個体の種子  
右：‘清見’、左：‘清見’コルヒチン処理個体



写真6 ‘清見’ コルヒチン処理個体×‘阿波オレンジ’ から得られた3倍体実生

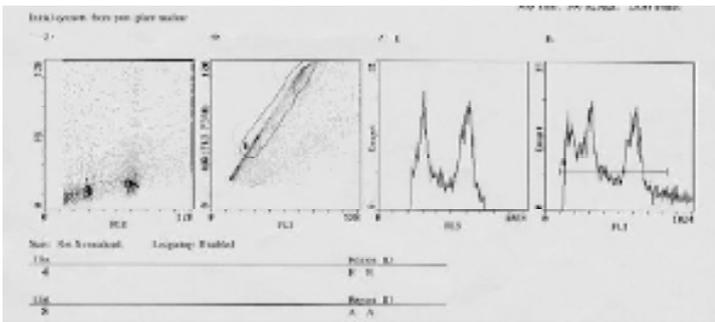


図1 2倍体と4倍体細胞が混在する‘清見’キメラ個体

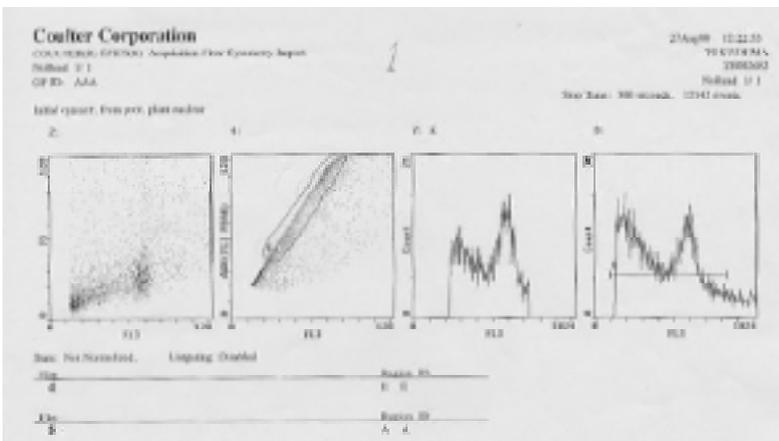


図2 ‘清見’ コルヒチン処理個体

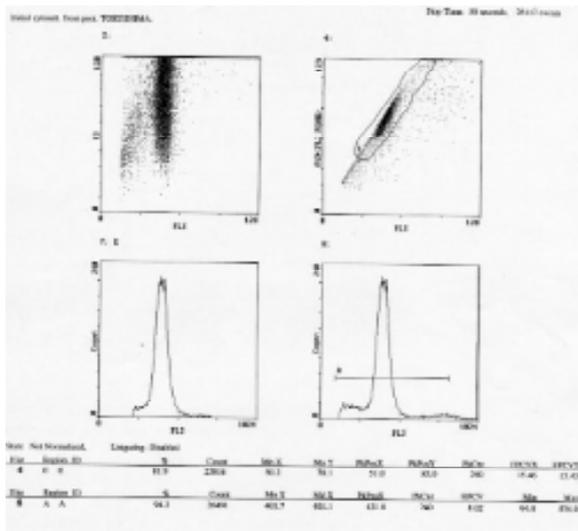


図3 「清見」コルヒチン処理個体×「阿波オレンジ」（3倍体）

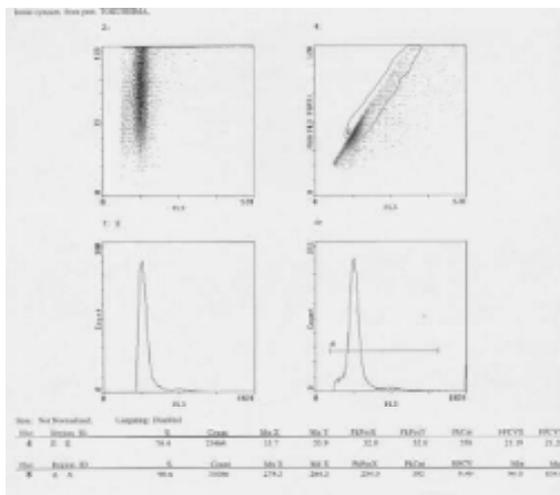


図4 「清見」コルヒチン処理個体×「チャンドラポメロ」（2倍体）

#### IV 考察

今回、コルヒチン処理により作成した「清見」コルヒチン処理個体は2倍体に比べて葉が厚く丸みがあり、また、トゲも大きく倍数（4倍体）化している（生山ら、1992）と思われ、フローサイトメーターによる倍数性調査からもほぼ倍数化していると思われた。この「清見」コルヒチン処理個体に2倍体カンキツを交配したところ全て小粒ではあるが完全種子が得られた。「阿波オレンジ」を花粉親とした場合は3分の1の確率で3倍体個体が獲得できたが、「チャンドラポメロ」を花粉親とした場合は2倍体個体しか得られなかった。「阿波オレンジ」を交配した果実より得られた種子から3倍体と2倍体の個体が発生した原因として、4倍体個体を得られなかったことから「清見」コルヒチン処理個体は2倍体と4倍体の細胞が混在するキメラであることが考えられる。「チャンドラポメロ」を交配した果実より得られた種子から2倍体の個体しか発生しなかった原因として、「清見」コルヒチン処理個体は2倍体と4倍体の細胞が混在するキメラであると考えられるため、このようなキメラは不安定なために部分的に4倍体の細胞が少ないこと、また、単胚

性2倍体カンキツに4倍体‘川野ナツダイダイ’及び4倍体‘フナドコ’を花粉親として交配した場合、非還元性雌性配偶子による4倍体の出現率が花粉親により異なること(生山ら、1992)から、「‘清見’コルヒチン処理個体」についても花粉親の違いによる影響があることも考えられる。

多胚性4倍体カンキツに2倍体カンキツを交配すると3倍体(交雑)または4倍体(珠心胚)が得られるが、受精胚は3倍体となるため珠心胚が形成されても全て小粒種子となる(生山ら、1992)。「‘清見’コルヒチン処理個体」は4倍体と2倍体の細胞が混在するキメラと推測されるが、得られた2倍体の種子も3倍体と同様に小粒種子であった原因は不明である。

「‘清見’コルヒチン処理個体」に2倍体カンキツ‘阿波オレンジ’を交配して得られた3倍体獲得率は1果実当たり6個体、完全種子数当たり33.3%であった。‘清見’に4倍体‘フナドコ’を交配して得られた3倍体獲得率は、1果実当たり0.6個体、完全種子数当たり100%(生山ら、1992)であるが、多数得られている「しいな」等の不完全種子についての胚培養は行われておらず、もし、胚培養を行ったとした場合、1果実当たりの3倍体獲得数はもう少し高い値であったと考えられる。このことを考慮すると、今回の数値は高いとは言えないが、「‘清見’コルヒチン処理個体」から胚培養の手間が必要としない3倍体完全種子が1果実当たり30%の確率で得られたことは高確率であると言える。カンキツ等の木本性植物へのコルヒチン処理は4倍体と2倍体の細胞が混在するキメラになることが多いと言う報告もあり(Sanford, 1983)、「‘清見’コルヒチン処理個体」も4倍体と2倍体の細胞が混在するキメラであると考えられる。キメラ個体から完全な4倍体を得るためには、コルヒチン処理を重ねることにより2倍体の細胞を減らしていくことが必要であると考えられる。‘清見’に限らず、完全な単胚性4倍体カンキツを作出する事ができれば、高確率で3倍体カンキツが獲得できると考える。

## V 摘要

無核カンキツ作成の一手法である3倍体を育成する目的で、‘清見’にコルヒチン処理を行い4倍体を作成し、2倍体カンキツとの交配により3倍体個体の獲得を試みた。

1. 「‘清見’コルヒチン処理個体」は2倍体‘清見’に比べて葉が厚く幅があり、トゲが大きく、枝数は少ない傾向であった。
2. フローサイトメーターによる倍数性調査を行ったところ、「‘清見’コルヒチン処理個体」はほぼ倍数化していると思われた。
3. 交配を行った果実からは多数の種子が得られ、全てが2倍体の清見の種子に比べて小さい小粒種子であったが、正常に発芽・成長した。
4. ‘清見’コルヒチン処理個体に‘阿波オレンジ’を交配して得られた実生18個体について倍数性をフローサイトメーターで調査したところ、6個体の3倍体実生が得られた。
5. 今回作成した「‘清見’コルヒチン処理個体」は2倍体と4倍体の細胞が混在するキメラであると考えられる。

## VI 参考文献

岩政正男. 1976. カンキツの品種. 静岡, 静岡県柑橘農業組合連合会.

喜多景治・佐川正典・窪田聖一・松本英紀. 1987. 3倍体利用によるカンキツ類の無核品種育成に関する研

究. 昭和 62 年度春季大会園芸学会研究発表要旨. 6-7.

Kobayasi,S.,T.Ohgawara,E.ogawara,I.oiyama and S.Isii. 1988. A somatic hybrid plant obtained by protoplast fusion between navel orange (*Citrus sinensis*) and satsuma mandarin(*C.unshiu*). *Plant Cell Tissue Organ Culture* . 14 : 63-69.

松本亮司・奥代直巳・山本雅史・高原利雄・山田○雄・生山 巖・石内伝治・浅田謙介・池宮秀和・村田広野・國賀 武・七條寅之助・吉永勝一・内原 茂・小泉銘○・岩波徹. 1999. カンキツ新品種‘陽香’. 果樹試報. 33 : 67-76.

松本亮司. 2001. 晩生カンキツ‘不知火’. 果樹試報. 35 : 115-120.

松本亮司・奥代直巳・生山 巖・高原利雄・山本雅史・浅田謙介・石内伝治・村田広野. 1991. カンキツ新品種‘津之香’. 果樹試報. 21 : 59-65.

松本亮司・山本雅史・奥代直巳・高原利雄・山田○雄・國賀 武・生山 巖・浅田謙介・石内伝治・池宮秀和・村田広野・内原 茂・吉永勝一・家城洋之・岩波 徹. 2001. カンキツ新品種‘あまか’. 果樹試報. 35 : 47-56.

三股 正・佐藤 隆・甲斐一平・小原 誠. 1997. カンキツ新品種「キヨマー」・「清の香」の特性. 大分柑試報. 7 : 7-15

根角博久・吉田俊雄・吉岡照高・家城洋之・伊藤祐司・野々村睦子・上野勇・山田○雄・村瀬昭治・瀧下文孝. 2000. 種子が少なく食べやすいキンカン新品種「ぷちまる」. 果樹研究成果情報. 3-4.

西浦昌男・七條寅之助・上野 勇・岩政正男・木原武士・山田○雄・吉田俊雄・岩崎藤助. 1983. カンキツ新品種‘清見’について. 果樹試報. B10 : 1-9.

生山 巖. 1992. カンキツの倍数性育種に関する研究. 果樹試報. 特報 3 : 1-68.

奥代直巳・松本亮司・生山 巖・高原利雄・浅田謙介・山本雅史・石内伝治・村田広野. 1991b. カンキツ新品種‘清峰’. 果樹試報. 21 : 43-49.

Sanford,J.C.. 1983. Ploidy manipulations.In : *Methods in fruit breeding*.Moore,J.N.and Janick,J.(eds.). Purdue University Press,Indiana,100-123.

下郡嘉勝・無田上重治・山本泰嗣. 1987. 少核系ヒュウガナツの特性について. 園芸学会昭和 62 年度秋季大会発表要旨. 10-11.

Soost,R.K.and J.W.Cameron.. 1980. ‘Oroblanco’,triploid pummelo-grape-fruit hybrid. *Hort-science* 15 : 667-669.

高原利雄・奥代直巳・生山 巖. 1981 寄せ接ぎによるカンキツ類の実生及び茎頂接ぎ木苗の生育促進. 果樹試報. D3 : 23-34.

竹中美香・徳永忠士・平林利郎・赤井昭雄. 1997. フローサイトメーターを用いた三倍体香酸カンキツの簡易選抜. 徳島果試報. 25 : 17-20.

立川忠夫・田中諭一郎・原 節生. 1961. カンキツの品種改良に関する研究 I. 3 倍体カンキツの育成. 静柑試験報. 4 : 33-46.

徳永忠士・山尾正実・竹中美香. 2000. 3 倍体無核早生のスダチ新品種「徳島 3 x 1 号」. 四国農業の新しい技術. 10 : 65-66.

山本雅史・山田○雄・松本亮司・池宮秀和・奥代直巳. 1992. カンキツにおける含核数の遺伝. 果樹試報. 23 : 47-56.

吉田俊雄・根角博久・伊藤祐司・吉岡照高. 1992. ‘ムカクキシユウ’の雌性不稔性とその遺伝. 園学雑. 61 (別1) : 36-37.

吉田俊雄・山田○雄・根角博久・上野 勇・伊藤祐司・吉岡照高・日高哲志・家城洋之・七條寅之助・木原 武・富永茂人. 2000. カンキツ新品種 ‘はるみ’. 果樹試報. 34 : 43-52.

吉田俊雄・山田○雄・上野 勇・七條寅之助・根角博久・日高哲志・伊藤祐司・吉岡照高・木原 武・家城 洋之・平井正志・富永茂人. 2000. カンキツ新品種 ‘あけみ’. 果樹試報. 34 : 53-62.