軟X線照射によって育成したカンキツ新品種‘南津海シードレス’の 特性とその無核果の要因

兼常康彦*・岡崎芳夫・宮田明義^a・西岡真理・池田行謙^b・藤本敬胤^c

山口県農林総合技術センター農業技術部柑きつ振興センター 742-2805 山口県大島郡周防大島町

Characteristics of a New Citrus Cultivar, ‘Natsumi Seedless’, Produced by Soft X-ray Irradiation and Factors Affecting its Seedlessness

Yasuhiko Kanetsune*, Yoshio Okazaki, Akiyoshi Miyata^a, Mari Nishioka,
Yukinori Ikeda^b and Takatsugu Fujimoto^c

Yamaguchi Prefectural Agriculture & Forestry General Technology Center, Suooshima, Oshima, Yamaguchi 742-2805

Abstract

‘Natsumi seedless’ is a new citrus cultivar that produces fewer seeds than the original cultivar, ‘Natsumi.’ ‘Natsumi seedless’ was produced by soft-X irradiation of the scions of ‘Natsumi.’ After top-grafting those scions, a strain was selected on the basis of few seeds per fruit. The average number of seeds in ‘Natsumi’ was 8.9 per fruit, and the rate of its seedless fruit was 0 percent. On the other hand, the number of seeds in the new cultivar was 0.2 seeds per fruit, which was extremely few, and the rate of its seedless fruit was high at 86.7%. With the exception of the number of seeds, the characteristics of fruit and trees of the new cultivar were similar to those of ‘Natsumi’. The possibility of female sterility in ‘Natsumi seedless’ was shown by cross-pollination between Natsudaaidai, as a pollen parent, and two cultivars, ‘Natsumi’ and the new cultivar, as a seed parent, revealing that only the new cultivar had seedless fruit and its rate was high. In addition, male sterility in the new cultivar was indicated by two findings: First, the pollen fertility of the new cultivar was 1.9%, being noticeably lower than that of Natsudaaidai or ‘Natsumi’. Second, cross-pollination between the new cultivar (pollen parent) and Natsudaaidai (seed parent) resulted in it not bearing fruit, while it bore fruit when the pollen parent was ‘Natsumi’. From these results, the new cultivar, ‘Natsumi seedless’, may have both female and male sterilities.

Key Words : female sterility, male sterility, ‘Natsumi’, radiation breeding

キーワード : 放射線育種, ‘南津海’, 雌性不稔, 雄性不稔

緒 言

山口県大島郡周防大島町の生産者が交配育成した‘カラ’マンダリンの珠心胚実生品種である‘南津海’は、他のカンキツ類が少ない時期である5月以降の出荷が可能なこと、連年結果性が高いことなどの優れた特性(岡崎, 2009)から、山口県をはじめ愛媛県や和歌山県など全国のカンキツ生産県において栽培されており、その栽培面積は100.7 haである(農林水産省統計部, 2012)。しかしながら、‘南津海’には種子が果実当たり平均4～5個程度含まれ、多い場合には10～15個に達することもあるため、消費者や市場関係者からは無核化の要望が強い。

カンキツ類において、無核性を備える要因としては①雄性器官に異常があり自家受粉が行われず単為結果するもの、②雌性器官の異常により受精ができないか種子の発育に異常があるもの、③自家不和合性により単為結果するもの、④三倍体のため種子が形成されないもの、がある(根角, 2002)。無核あるいは少核品種育成のためにはこれらの要因を獲得する必要がある。その手法として単胚性で葯退化による雄性不稔性の‘清見’(根角, 2002)あるいは‘無核紀州’由来の雌性不稔性(根角ら, 2001)をもつ品種の交雑利用(奥代ら, 1991; 吉田ら, 2005)、三倍体の利用(金好ら, 2014; 徳永ら, 2005; 吉田ら, 2003)、放射線の照射による突然変異(市ノ木山ら, 2009)の報告がある。しかしながら、カンキツの育種において無核化を目的に放射線を利用した報告例は少なく、無核性品種を育成した報告もほとんどない。

筆者らは、比較的扱いやすい放射線としてX線の中でも波長の長い軟X線を用いて無核品種育成のための突然変異育種に取り組んでいる。山口県農業試験場(現山口県農林総合技術センター)に導入していた照射用軟X線発生

2017年1月25日 受付. 2017年5月2日 受理.

本研究の一部は園芸学会平成25、26年度秋季大会で発表した。

* Corresponding author. E-mail: kanetsune.yasuhiko@pref.yamaguchi.lg.jp

^a 現在: 退職

^b 現在: 公益財団法人東京都農林水産振興財団東京都農林総合研究センター

^c 現在: 山口県農林水産部農業振興課

装置（OM100R、オーミック（株））を活用して‘土佐文旦’の穂木に軟X線を照射し、高接ぎ後に結実した果実の種子数を調査した結果、10～80個／果が0～10個／果程度に減少した（未発表）。この結果を踏まえて、軟X線を利用した‘南津海’の無核系統の育成に取り組み、完全無核か極めて種子数の少ない品種‘南津海シードレス’を育成した。ここでは、本品種の育成経過と樹体・果実特性の概要、および無核化の要因について報告する。

材料および方法

1. 育成過程

2001年3月に採取した‘南津海’の穂木に対して、5月に前出の照射用軟X線発生装置を用いて軟X線を照射した。穂木は照射後ただちに、‘早香’を中間台として高接ぎを行った。その育種規模は穂木数で120程度とした。初結実した2003年から含核数の調査を主とした選抜試験を開始し、2008年に無核個体を選抜した。選抜した1個体は2008年4月に再度その複製樹で特性を確認するため、2年生‘宮川早生’を中間台として高接ぎを行った。その後結実した果実においても無核特性が確認されたため、本個体を‘南津海シードレス’と命名し、2012年4月2日に種苗法に基づく品種登録出願を行い、2013年9月26日に品種登録（第22650号）された。

なお、‘南津海シードレス’が育成された軟X線の照射条件は、X線量が $208 \text{ R} \cdot \text{min}^{-1}$ ($2.08 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$)、照射時間は20分であった。同じ条件で処理して結実した約10系統の種子数を調査すると、0.2個／果～9.3個／果の分布が認められ、その中で最も種子数の少ない系統が‘南津海シードレス’である。

2. ‘南津海シードレス’の樹体および果実特性

品種登録候補として選定した系統名YOC4号（品種名‘南津海シードレス’）の特性調査は、2010年に行った。‘南津海シードレス’は2008年4月に4年生の‘宮川早生’に高接ぎを行った2樹を、対照には同一園地に栽植の12年生‘南津海’2樹を供試した。調査は枝葉、花、果実を「農林水産植物特性審査基準（その他のかんきつ類）」（農林水産省、2010）に準じて行った。枝葉の調査は、2011年3月10日に樹冠赤道部の発育枝（春枝）を両品種とも各10本採取し、この枝から採取した10枚の葉について実施した。花の調査は、2010年5月12日に採取した開花直前の花蕾を用い、両品種とも各20花を供試した。果実の調査は、2011年3月15日に、樹冠赤道部に結実して平均的な大きさおよび果形の果実各10果を採取して行った。

3. 雌性不稔性の調査

調査には、2008年に‘宮川早生’を中間台として高接ぎした少加温ハウス栽培の‘南津海シードレス’3樹および15年生の‘南津海’3樹を供試した。2013年5月9日と10日に開花直前の‘南津海シードレス’および‘南津海’の花蕾をピンセットで開いて除雄し、ナツダイダイの花粉を

授粉したのち、ただちにナシ用の小袋を被覆して、他品種の花粉を遮断した。なお、満開期は‘南津海シードレス’および‘南津海’ともに5月8日であった。処理はそれぞれ1樹当たり10花について行い、3樹で30花とした。授粉3か月後の8月に着果率を、収穫時の翌年3月に各果実の種子数などを調査した。

4. 花粉稔性の調査

雌性不稔性の調査で使用した‘南津海シードレス’、‘南津海’およびナツダイダイを供試した。2013年5月9日にこれら3種類のそれぞれ開花直前の5花蕾を採取して、シャーレ内で一晩静置したのち、ピンセットで葯を採取し、アセトカーミンで染色した。核が良好に染色された花粉を稔性とし、顕微鏡下でそれぞれ100粒以上の花粉を調査した。

さらに、‘南津海’の開花直前の花蕾をピンセットで開いて除雄し、‘南津海シードレス’の花粉を授粉した後、ナシ用の小袋をかけて他品種の花粉を遮断した。対照として‘南津海’およびナツダイダイの花粉についても同様の処理を行った。授粉は各々の開花直前の花蕾を採取してシャーレ内で一晩静置したのち、除雌した花を‘南津海’の花と触れ合わせる方法で行った。処理は2013年5月9日と10日に行った。‘南津海シードレス’の授粉は15花、‘南津海’は15花、ナツダイダイについては30花であった。雌性不稔性の調査と同様の方法で着果率、種子数などを調査した。

結 果

1. ‘南津海シードレス’の樹体および果実特性

‘南津海シードレス’の樹姿は開張性（第1図）であり、樹勢は中程度で対照品種の‘南津海’と同様である（第1表）。枝梢の太さは2.5mm、長さは12.5cm、節間長は1.9cm、翼葉長14.5mm、翼葉幅3.0mmでいずれも対照品種と差がない。葉身長および葉身幅は対照品種と比べて小さいものの、葉身の形が紡錘形で同じであった。トゲの発生は夏秋梢などの強い枝で認められるが、その他については発生しない。

花芽の形成は単生で、花蕾の重さは0.42g、花弁は白色で4.7枚、花糸の分離程度は一部合一で対照品種と差がない（第2表、第2図）。花粉量は対照品種と比べて少なく、花糸の数もやや少なかった。

対照品種‘南津海’の種子数は8.9個／果で無核果は認められなかったが、‘南津海シードレス’では種子数0.2個／果と極めて少なく、無核果率が85.0%と高かった（第3表、第3図）。

本品種の種子数を除く果実特性については、果実重139.0g、果形は扁球、果皮の色は濃橙、剥皮性は容易、採取時である3月15日の糖度は14.2°、クエン酸は1.19%であり、対照品種とほぼ同様である（第3表）。

‘南津海シードレス’

‘南津海’

第1図 ‘南津海シードレス’ および ‘南津海’ の樹姿

‘南津海シードレス’

‘南津海’

第2図 ‘南津海シードレス’ および ‘南津海’ の花

第1表 ‘南津海シードレス’ および ‘南津海’ の枝葉の特性

品種名	樹姿	樹勢	枝梢				葉				
			太さ (mm)	長さ (cm)	節間長 (cm)	トゲの 多少	葉身の 形	葉身長 (cm)	葉身幅 (cm)	翼葉長 (mm)	翼葉幅 (mm)
南津海シードレス ^z	開張	中	2.5 ^y	12.5	1.9	無	紡錘形	10.5	4.4	14.5	3.0
南津海	開張	中	2.7	12.3	1.9	無	紡錘形	11.5	4.9	15.0	3.0
有意性 ^x	—	—	n.s.	n.s.	n.s.	—	—	*	**	n.s.	n.s.

^z 一品種につき1区1樹10枝, 2反復, 計20枝を調査した^y 各品種における枝梢の太さなどの特性値を20枝の平均値で示す^x t検定で*は5%水準で, **は1%水準で有意であることを, n.s.は有意差がないことを示す

2. 雌性不稔性の調査結果

ナツダイダイの花粉を授粉させた‘南津海シードレス’および‘南津海’の着果率, 無核果率について第4表に示した. ‘南津海シードレス’の授粉3か月後の着果率は23.4%であり, ‘南津海’の73.3%に比べて低かった. ‘南津海シードレス’の完全種子数は果実当たり0.2個, 不完全種子数は0個, 無核果率および完全無核果率はともに80.0%であった. 一方, ‘南津海’の完全種子数は果実当

り21.0個, 不完全種子数は0.5個, 無核果および完全無核果率ともに0%で無核果は認められなかった.

3. 花粉稔性の調査

‘南津海シードレス’の顕微鏡下における花粉稔性について第4図に, その稔性率を第5図に示した. ‘南津海シードレス’の花粉稔性は1.9%で, ‘南津海’の55.7%やナツダイダイの88.6%に比べて顕著に低かった.

‘南津海シードレス’, ‘南津海’およびナツダイダイの

花粉を‘南津海’に授粉した結果を第5表に示した。‘南津海’の花に‘南津海シードレス’の花粉を授粉した場合、着果率は0%となり着果が認められなかった。同一の試験

で‘南津海’の花粉を授粉した場合は着果率が13.3%、ナツダイダイの花粉を授粉した場合は73.3%と、‘南津海シードレス’の花粉を用いた場合と比べて高く、ナツダイダイの花粉による着果率が最も高かった。また、‘南津海’およびナツダイダイの花粉により着果した‘南津海’の果実は、いずれも無核果率が0%と無核果が認められず、完全種子数は‘南津海’の花粉の場合、果実当たり5.5個、ナツダイダイの花粉の場合で21個認められた。なお、これらの調査にあたって花粉を観察する中で、花粉の量はナツダイダイで最も多く、次いで‘南津海’、最も少なかったのが‘南津海シードレス’であった。

‘南津海シードレス’

‘南津海’

第3図 ‘南津海シードレス’ および ‘南津海’ の果実

考 察

育成した‘南津海シードレス’の果実特性は、種子数を

第2表 ‘南津海シードレス’ および ‘南津海’ の花の特性

品種名	花序の特性	花蕾の重さ(g)	花卉				花糸		花粉の多少
			長さ(mm)	幅(mm)	色	数	数	分離程度	
南津海シードレス ^z	単生	0.42 ^y	18.6	7.5	白	4.7	15.9	一部合一	少
南津海	単生	0.45	18.6	7.9	白	4.9	17.0	一部合一	中
有意性 ^x	—	n.s.	n.s.	*	—	n.s.	*	—	—

^z 一品種につき1区1樹20花、2反復、計40花を調査した

^y 各品種における花蕾の重さなどの特性値を40花の平均値で示す

^x t検定で*は5%水準で有意であることを、n.s.は有意差がないことを示す

第3表 ‘南津海シードレス’ および ‘南津海’ の果実の特性

品種名	果実の形	果形指数	果皮		剥皮の容易	果実の重さ(g)	糖度(°Brix)	クエン酸(%)	無核果率(%)	種子数(個/果)
			色	厚さ(mm)						
南津海シードレス ^z	扁球	122.9 ^y	濃橙	3.2	易	139.0	14.2	1.19	85.0	0.2
南津海	扁球	123.4	濃橙	3.1	易	134.5	14.4	1.07	0	8.9
有意性 ^x	—	n.s.	—	n.s.	—	n.s.	n.s.	n.s.	—	**

採収日・調査日は2011年3月15日

^z 一品種につき1区1樹10果、2反復、計20果を調査した

^y 各品種における果形指数などの特性値を20果の平均値で示す

^x t検定で**は1%水準で有意であることを、n.s.は有意差がないことを示す

第4表 ナツダイダイの花粉で授粉した‘南津海シードレス’および‘南津海’の着果率、種子数および無核果率に及ぼす影響

品種名	着果率 ^z (%)	果実重(g)	種子数(個/果)		無核果率 ^y (%)	完全無核果率 ^x (%)
			完全	不完全		
南津海シードレス	23.4	162.0	0.2	0	80.0	80.0
南津海	73.3	157.5	21.0	0.5	0	0
有意性 ^w	**	n.s.	**	—	—	—

着果率、果実重、種子数および無核果率の値は、30花(果)の調査による

^z 統計処理はアークサイン変換数値で行った

^y 完全種子のない果実を無核果とした

^x 完全種子および不完全種子のない果実を完全無核果とした

^w t検定で**は1%水準で有意であることを、n.s.は有意差がないことを示す

第4図 アセトカーミン染色による‘南津海シードレス’、‘南津海’およびナツダイダイの花粉
A：稔性花粉

第5図 ‘南津海シードレス’、‘南津海’およびナツダイダイの花粉稔性

^z アセトカーミン染色による観察

統計処理はアークサイン変換数値で行った

^y 異符号間で Tukey の多重検定により 1%水準で有意差あり

縦線は標準偏差を示す (n=5)

除き、‘南津海’とほぼ同様で、樹体、枝葉および花の外観的特性も‘南津海’に酷似していることが明らかになった。このことと‘土佐文旦’（未発表）の事例から、穂木への軟X線処理によって種子数が少なくなる傾向が認めら

れた。育成過程における変異個体では、種子の分布が0.2個/果～9.3個/果、無核果率の分布が0～85.7%となり、同じ軟X線処理条件でも、その効果にはばらつきがあった。これは、軟X線の照射時における穂木上における芽の位置、あるいは芽の成熟程度が異なることによって軟X線の照射による変異効果が異なったためと推察される。一方、無核系統の育成を目的としていたため、種子数以外の形質について詳細な調査はほとんど行っておらず、変異個体における矮性および耐病性などの他の形質の変異については不明である。

種子は、配偶子すなわち花粉と胚のうが形成され、受精胚が発達してできる（岩政，1999）。このため、無核性を有している品種は、雌づいが機能不全で受粉しても種子が不形成の雌性不稔、あるいは雄づいが機能不全で花粉が不形成もしくは生殖能力のある花粉を形成しない雄性不稔を有している。そこで、‘南津海シードレス’における無核化の要因を解明するため、雌性不稔性と雄性不稔性を調査した。

ナツダイダイの花粉を‘南津海シードレス’および‘南津海’の花に授粉すると、‘南津海シードレス’のみに無核果実が認められ、その割合は80.0%と高く、平均種子は0.2個/果と極めて少なかった。このことから、‘南津海

第5表 ‘南津海シードレス’、‘南津海’およびナツダイダイの花粉を授粉した‘南津海’の着果率および種子数

花粉親	着果率 ^z (%)	果実重 (g/果)	完全 種子数 (個/果)	不完全 種子数 (個/果)	無核果率 ^y (%)
南津海シードレス	0	—	—	—	—
南津海	13.3 a	110.3 a	5.5 a	1.5	0
ナツダイダイ	73.3 b	157.5 b	21.0 b	0.5	0
有意性 ^x	**	*	**	n.s.	—

着果率、果実重、種子数および無核果率の値は、‘南津海シードレス’と‘南津海’では15花、ナツダイダイは30花の調査による

^z 2013年8月に調査

統計処理はアークサイン変換数値で行った

^y 完全種子のない果実を無核果とした

^x アルファベットは、異符号間でt検定により*は5%水準で、**は1%水準で有意であることを、n.s.は有意差がないことを示す

シードレス’は雌性不稔性を有していると考えられる。一方で、前述した3品種の花粉稔性をアセトカーミン染色法で調査すると、‘南津海’およびナツダイダイの花粉に比べて‘南津海シードレス’の花粉稔性は明らかに低く、3品種の花粉をそれぞれ‘南津海’の花に授粉すると‘南津海’やナツダイダイの花粉では着果が認められたが‘南津海シードレス’の花粉では着果が認められなかったことから、‘南津海シードレス’は雄性不稔性も合わせもっていると考えられる。以上のことから、無核化の要因は雌性、雄性両方の不稔性であることが明らかとなった。

カンキツの経済栽培には、これらの不稔性に加えて単為結果性を必要とする。単為結果には自動的単為結果と他動的単為結果がある。‘南津海シードレス’の花に対して、ナツダイダイの花粉を授粉した場合の結実率は23%（第4表）であった一方、除雄ののち小袋をかけて他品種の花粉を遮断した場合には0～3%（データ未公表）とほとんど結実しなかった。これらのことから、‘南津海シードレス’は、花粉やそれに代わる刺激によって結実する他動的単為結果を有すると推察されるが、このことについては今後さらなる詳細な研究が必要である。

ナツダイダイの花粉を‘南津海シードレス’に授粉した場合の着果率は‘南津海’に比べて低かった。このことから、通常栽培時における‘南津海シードレス’の着果率の低下が懸念されるが、収穫果に対して生理落果後の着果数は多く、‘南津海’で行われている着果管理（岡崎, 2009）で対応可能である。具体的には粗摘果を8月中下旬から始め、仕上げ摘果を9月下旬から10月までにかけて行い、最終葉果比を30～40程度に仕上げる管理である。2013～2014年の2か年の1m³当たりの収量は、‘南津海シードレス’で2.7kgと2.9kg、‘南津海’では2.6kgと3.0kgと大きな差は認められないことから、着果率の低さが収量の低下につながる可能性は低いと考えられるが、今後も経年的な収量性を確認する必要がある。

無核果実への消費者ニーズは高く、本品種の無核特性は販売に大きく寄与するものと考えられる。さらに、他品種との混植によっても無核果実の生産が可能であり、周辺品種への種子形成に影響を及ぼさないことから、生産面においても有利な特性といえよう。

摘 要

‘南津海’の無核化を目的に、突然変異を誘発する放射線の一つである軟X線を‘南津海’の穂木に照射した。その穂木を高接ぎして、得た果実について含核数を主とした調査を行った結果、種子数が極めて少ない個体を選抜し、‘南津海シードレス’を育成した。‘南津海’の種子数は1果実当たり9個程度、無核果率は0%であるが、‘南津海シードレス’では0.2個と極めて少なく、無核果率も85.0%と高かった。種子数を除く果実特性や樹体特性は、‘南津海’とほぼ同様であった。ナツダイダイの花粉を‘南

津海シードレス’および‘南津海’の花に授粉した結果、‘南津海シードレス’のみに無核果実が認められ、その割合が高かったことから、‘南津海シードレス’は雌性不稔性を有すものと考えられる。また、‘南津海シードレス’の花粉稔性率は1.9%で、‘南津海’およびナツダイダイの花粉と比べて顕著に低かったこと、これら3品種の花粉を‘南津海’の花に授粉した場合、他の品種では着果が認められたが‘南津海シードレス’の花粉では着果が認められなかったことから、‘南津海シードレス’では雄性不稔性も有している。これらの結果から、‘南津海シードレス’は、雌性不稔性と雄性不稔性の両方を有していることが明らかとなった。

引用文献

- 市ノ木山浩道・大野秀一・前 博視. 2009. 放射線育種によるカンキツ‘早香’の少核系統の作出. 園学雑. 8 (別2): 381.
- 岩政正男. 1999. 種子形成—花粉, 胚のう, および胚の発達. p. 263–287. 岩堀修一編著. カンキツ総論. 養賢堂. 東京.
- 金好純子・古田貴音・塩田 俊・赤阪信二・柳本裕子・栗久宏昭. 2014. レモン自然交雑実生における三倍体の出現と新品種‘イエローベル’の育成. 園学研. 13: 19–26.
- 根角博久. 2002. カンキツの雄性不稔の遺伝と育種. 果実日本. 57(12): 66–69.
- 根角博久・中野睦子・吉田俊雄. 2001. 無核紀州に由来する受精胚珠発育異常の遺伝様式. 園学雑. 70 (別2): 403.
- 農林水産省. 2010. 農林水産植物種類別審査基準. その他のかんきつ類. <<http://www.hinsyu.maff.go.jp/sinsakijun/kijun/1172.pdf>>.
- 農林水産省統計部. 2012. 平成24年産特産果樹生産動態等調査. <<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001129267>>.
- 岡崎芳夫. 2009. 南津海. p. 352の70–352の77. 農業技術大系果樹編1カンキツ. 農文協. 東京.
- 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. 1991. カンキツ新品種‘清峰’. 果樹試報. 21: 43–49.
- 徳永忠士・新居美香・津村哲宏・山尾正実. 2005. スダチにおける四倍体と二倍体との交雑による三倍体雑種の作出および無核品種‘徳島3X1号’の育成. 園学研. 4: 11–15.
- 吉田俊雄・根角博久・吉岡照高・家城洋之・伊藤祐司・中野睦子・上野 勇・山田彬雄・村瀬昭治・瀧下文孝. 2003. キンカン新品種‘ぶちまる’. 果樹研報. 2: 9–16.
- 吉田俊雄・根角博久・吉岡照高・伊藤祐司・上野 勇・山田彬雄. 2005. 無核性と早熟性の品種育成に有用な育種素材‘かんきつ中間母本農5号’. 果樹研報. 4: 47–52.