リンゴ3品種の自家結実性および後代実生のS遺伝子型判別

斎藤 彰¹* •深沢(赤田)朝子² •五十嵐 恵¹ •佐藤 耕² •鈴木正彦¹

 1 青森県農林総合研究センター グリーンバイオセンター 030-0142 青森県青森市野木字山口 221-10 2 青森県農林総合研究センター りんご試験場 036-0322 青森県黒石市牡丹平字福民 24

Self-compatibility of 3 Apple Cultivars and Identification of S-allele Genotypes in Their Self-pollinated Progenies

Akira Saito^{1*}, Tomoko Fukasawa-Akada², Megumi Igarashi¹, Takashi Sato² and Masahiko Suzuki¹

¹Green BioCenter, Aomori Research Center of Agriculture and Forestry, 221-10 Yamaguchi Nogi Aomori 030-0142 ²Apple Experiment Station, Aomori Research Center of Agriculture and Forestry, 24 Fukutami Botantaira Kuroishi 036-0322

Abstract

We analyzed fruit and seed sets after self-pollination in 3 apple cultivars. Between 1998 and 2001, we carried out self-pollination of cultivars 'Megumi', 'Orin' and 'Fuji', which exhibit different levels of self-incompatibility. In addition, we carried out self-pollination of 'Fuji' using X-ray irradiated pollen. Self-pollination of 'Megumi' and 'Orin' showed higher percentages ranging from 40 to 48% in the 2nd year and from 16.3 to 38% in the 3rd year. There were no differences in fruit set between experiments using X-ray irradiated pollen and non-irradiated pollen. 'Megumi' showed the production of seeded fruits, however, most of 'Orin' resulted in the production of fruits without seeds. We carried out self- and non-pollination of 'Orin', resulting in a high percentage of fruit set on average in all cases. All trees showed fruit but no seed. These results demonstrated that 'Orin' possess autonomic and/or stimulative parthenocarpy. From self-pollination of 'Fuji', we obtained many progenies from fruits containing seeds by the application of embryo culture, however, the percentages of seed set in 'Fuji' were less than those in 'Megumi'. PCR amplification using S-allele-specific primers showed the possibility that some progeny were derived from self-compatible fertilization. These self-pollinated plants were grown in green house, however, some plants showed abnormal phenotypic appearances.

Key Words: embryo culture, parthenocarpy, X-ray irradiated

キーワード:胚培養, 単為結果性, X線照射

緒言

リンゴ品種の多くは自家不和合性を有しているため、結 実量を確保するためには受粉樹の混植や人工受粉が必要であり、自家結実性品種の育成が望まれている。リンゴは配 偶体型の自家不和合性を示すが、これらはS遺伝子座の複 対立遺伝子の作用によって説明されている。例えば、'ふ じ'のS遺伝子型は (S_1S_9) であるが、これと同一の遺伝 子型を持つ花粉は自家花粉として認識され、受精できない。

しかし、リンゴ品種のなかには'恵'のように自家和合性の高い品種もある(齋藤ら、1978;山田ら、1971). 石山ら (1981)、佐藤・石山 (1993) によると、その自家結実性は後代に遺伝するとされており、'恵'を交配母本とした自家結実性品種育成の試みもなされている. また、日本ナシの

'おさ二十世紀'(S_2S_4)は雌しべの S_4 遺伝子の変異による自家和合性変異体(佐々ら、1996)であるが、これを交配 母本とした自家和合性品種育成の試みもなされている。

人為的な自家不和合性打破の試みとして、Van Nerum ら (2000) は、リンゴ 'Elster'(S_3S_5)に S_3 遺伝子をセンスまたはアンチセンスで組み込んだ形質転換体を作成し、その形質転換体が自家結実性を示したことを報告している.遺伝子組換え以外の手法では、Lewis (1949) がオウトウ 'Emperor Francis'(S_3S_4)に 'Napoleon'(S_3S_4)の X 線照射花粉を受粉して、自家和合性を示す後代実生をいくつか得ており、これらの戻し交配や他品種との交配実験の末、自家和合性品種 'Stella'の育成に成功している(Lapins、1970).これまでの研究で 'Stella' を始めとする自家和合性品種は 'Napoleon'(S_3S_4)の花粉に放射線照射して S_4 ハプロタイプの花粉側因子の変異誘発により、自家和合性品種の育成に利用されており(池田ら、2003)、自家和合性品種の育成に利用されている.そこで、壽ら(1999)は日本ナシ品種 '長十郎'及

²⁰⁰⁶年4月3日 受付. 2006年6月27日 受理.

^{*} Corresponding author. E-mail: akira8_saito@pref.aomori.lg.jp

び 'ゴールド二十世紀'の未熟花粉にガンマ線を急照射して自家和合性個体の誘発を試みている。また、同様に(独)農業生物資源研究所放射線育種場のガンマフィールドに裁植している '長十郎', '二十世紀', '翠星'や '幸水'にガンマ線を緩照射して、それぞれの樹から採取した花粉を自家受粉あるいは不和合の組み合わせで交雑して、自家和合性個体の誘発にも取り組んでいる。その結果、頻度は低いながらも結実果が得られ、後代実生も得られている(壽ら、2000)が、和合性個体の育成報告はまだなされていない。

本試験において、前述の日本ナシと同様にリンゴの自家和合性個体を獲得するため、自家結実性程度の異なる3品種 'ふじ', '王林' および '恵'の自家受粉試験を行うとともに、'ふじ'に対する X 線照射花粉の自家受粉を試みた。また、結実した果実の種子から胚培養により発芽シュートを得るとともに、後代実生を養成し、S 遺伝子型判定により個体識別を行うとともに自家受粉由来後代実生について、遺伝子解析および特性調査を行った。

材料および方法

1 リンゴ 'ふじ', '王林' および '恵' の自家受粉による 結実率および種子数の調査

リンゴ 3 品種 'ふじ', '王林' および '恵'の成木 (約 10 年生, 台木 M.26) を用いて自家受粉試験を行った. 試験は $1998 \sim 2001$ 年の 4 か年にわたり行った. 開花 1 週間

前頃の蕾から葯を採集し、25℃のインキュベーターに2日間静置して開葯し、花粉を調製した. 得られた花粉を開花直前の蕾の雌しべに自家受粉し、他家受粉等を予防するためにパラフィン紙袋をかけるとともに除雄した.

なお、'ふじ'は非照射花粉の自家受粉の他に X線照射花粉の自家受粉も行った。 X 線照射花粉の調製は採集した 葯に $0.2 \, \mathrm{kR} \cdot \mathrm{min}^{-1}$ の線量率で $100 \, \mathrm{s}$ たは $200 \, \mathrm{分}$ の線量を急 照射し、それぞれ $20 \, \mathrm{kR}$ および $40 \, \mathrm{kR}$ 照射花粉とした。 その後 25° C のインキュベーターに 2 日間静置して開葯して、花粉を得た。これらの X 線照射花粉を非照射花粉と同様の手法により、自家受粉した。 受粉から約 3 か月後に処理区ごとの結実数を調査し、採取した果実の種子数を調査した。

2 '王林'の受粉様式の違いによる結実調査

1の試験で'王林'の自家受粉試験区で結実果が多く得られたが、そのほとんどが無種子の単為結果であった. そこで、この単為結果性を明らかにするため、(1)除雌、除雄、無受粉、(2)除雄、無受粉および(3)除雄、自家受粉、の3処理区を設け、受粉試験を行った. '王林'の開花1週間前頃の蕾から葯を取り出し、25°Cで2日間、開葯して受粉用花粉を調製した. これらの花粉を同一樹の開花直前の蕾の雌しべに自家受粉した. なお、すべての処理区に受粉後、被袋栽培した. 受粉から約40日後に各処理区ごとの結実数を調査し、果実を採取して、その形態および種子数を調査した.

結実果 試験条件 有種子果 胚培養 試験 交配 結実 結実率 1果 交配組み合わせ 年次 花数 果実 (%)白家z 当たり 他家z 無種子 供試 後代 (照射条件) 種子数 果数 種子数 実生数y 果数 種子数 果数 種子数 '& C' 1998 0 0.0 ___x 50 2 4 4 1.0 6 0 6 112 4.5 1 (非照射) 1999 5 0 0 1 1 1.0 1 2000 0.90 1 114 1 0 100 0.0 2001 '&U' 2 12 1 3 3.0 15 15 1998 50 4.0 0 1 1999 104 0 0.0 (20 kR)4 0 0 0 4 4 1.0 4 2000 104 4 3.8 0 2001 100 0.0 0 1998 50 0.0 'SU' 1999 74 0 $(40 \, kR)$ 0.0 0 0 1 2000 108 0.9 0 1 1 1.0 1 2001 100 0 0.0 35 38.0 31 1 1 3 3 1.0 4 4 1999 92 '王林' 27 2 6 2000 100 30 30.0 1 3 3 1.5 6 (非照射) 2001 98 16 16.3 16 2.9 58 48 2000 50 20 40.0 4 nt^w nt nt '恵' nt. 2001 50 24 48.0 0 nt nt 3.9 93 68 nt nt (非照射)

第1表 自家受粉による結実状況と種子数および胚培養で得られた後代実生数

²DNA マーカーによる S 遺伝子型から判定

y他家受粉で得られた果実由来の実生も含まれる

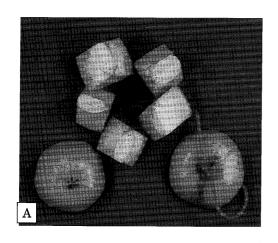
[×]一は結実果無しのため数値なし

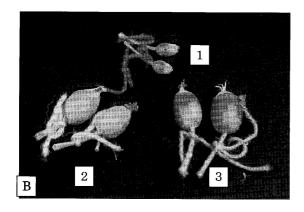
^{*}nt は DNA マーカーによる S 遺伝子型の判定を行っていないので数値なし

第2表 '王林'の各受粉様式の違いによる結実状況

処理条件 (すべて被袋)	供試 花数	結実 果数		単為 結果数	単為結果率 ^z (%)
除雌,除雄,無授粉	80	36	45	36	100
除雄,無授粉	50	36	72	36	100
除雄,自家授粉	50	46	92	46	100

²いずれの区もすべて無種子の単為結果による結実果であった





第1図 '王林'の授粉試験で得られた結実果の状況

- A: '王林'の自家授粉試験で得られた結実果,満開 50日後の収穫果の種子数調査,種子のない単為結 果が多い
- B: '王林'の単為結果性に関する授粉試験で結実した 各試験区の果実;(満開後30日の収穫果実,1:除 雌・除雄・無受粉区,2:除雄・無受粉区,3:除 雄・自家受粉区)

3 獲得種子の胚培養および後代実生の DNA マーカーによる S 遺伝子型の判定と自家受粉由来および他家受粉由来個体の識別

1 の試験で結実した果実の種子の中から,形態的に健全な種子を表面殺菌して胚を無菌的に摘出し,胚培養を行った.培養方法は MS ホルモンフリー寒天培地(8 g・L $^{-1}$ Bacto-Agar, 30 g・L $^{-1}$ シュークロース添加)に移植して,4 $^{\circ}$ C の低温室で 60 日間の低温処理後に 25 $^{\circ}$ C の培養室に移し,30 日後に発芽率を調査した.これらの胚培養により得られた発芽個体を鉢上げして,後代実生を育成した.

得られた後代実生のうち'ふじ'、'王林'の全個体につ

いて識別調査を行った. まず, 幼葉 $0.1 \, \mathrm{g}$ から改変 CTAB 法により DNA を抽出し、Janssen ら(1995)の報告に基づき、 S_1 , S_2 , S_3 , S_5 , S_7 , S_9 , S_2 4遺伝子DNAマーカーの有無を調査し、S 遺伝子型を決定した. 次にこれらの S 遺伝子型を母本と比較して、母本と異なる S 遺伝子を検出した個体を他家受粉由来個体と判定し、それ以外の個体を自家受粉由来個体の可能性が高いものとして選抜した.

選抜個体の中には、半数体やその自然倍加個体が含まれている可能性があるため、フローサイトメトリーによる倍数性判定を行うとともに、'ふじ'ではヘテロで存在するRAPDマーカーの出現頻度を調査した.なお、フローサイトメトリーによる倍数性判定は(株)池田理化に委託し、Partec 社製 Ploidy Analyzer(PA型)にて測定した.

結果および考察

1 リンゴ 'ふじ', '王林'および '恵' 3 品種の自家受粉 による結実率および種子数の調査:

リンゴ 'ふじ', '王林' および '恵' 3 品種の自家受粉を行った結果,第 1 表に示すようにそれぞれの品種,組み合わせで結実果が得られた. 'ふじ'では試験年次および処理条件(照射条件)によって結実数に差が認められたが,全般的に結実数は少なかった. すなわち, 1998 年には $0.2 \, \mathrm{kR} \cdot \mathrm{min}^{-1}$, $20 \, \mathrm{kR} \circ \mathrm{X}$ 線照射花粉の自家受粉試験区でのみ $2 \, \mathrm{R}$, 1999 年には非照射試験区で $5 \, \mathrm{R}$ の他の試験区では両年とも結実が認められただけで,その他の試験区では両年とも結実が認められなかった. $1000 \, \mathrm{K}$ 年には非照射区および照射試験区いずれの試験区でも結実が認められず, $1000 \, \mathrm{K}$ 年間の平均結実が認められず、 $1000 \, \mathrm{K}$ 年間の平均結実率は $1000 \, \mathrm{K}$ 年間の平均結実率は $1000 \, \mathrm{K}$ 年間の平均結

'王林'(3 年間)及び'恵'(2 年間)ではそれぞれ,16 \sim 35 果と 20 \sim 24 果と結実果が多く得られ,それぞれ結実率も16.3 \sim 38%,40 \sim 48%と高かった(第1表).なお,'王林'の自家受粉では3年間とも高い結実率を示した.'王林'の自家和合性に関する報告例は少ないが,本試験の結果からこの品種の自家結実性の高さが明らかになった.

上記の自家受粉試験により得られた結実果の種子数を調査した結果、第1表に示すように'ふじ'の試験区の1998年 X線照射20kR区では結実した2果から15個の種子が得られた。しかし、2果のうち種子数が12個と多かった果実は、DNAマーカーによるS遺伝子型の判定結果から他家受粉由来個体であることが判明した。それを除くと、この試験区での1果当たりの種子数は3個であった。その他の試験区では、他家受粉由来個体も種子数が少なかったが、それらを除いた種子数は1果あたり1種子であった。

一方、'王林'で得られた結実果は試験した 3 年間ともに、そのほとんどが単為結果した果実であり、無種子果が多かった(第 1 図、A). なお、'恵'では'王林'に比較すると、単為結果数は少なく、得られた種子は 1 果当たり 2.9

~3.9 個と多かった.

一般に自家受粉で得られた果実の種子数は放任受粉の場合に比較して非常に少ない(齋藤ら、1987; 山田ら、1971). 小森ら(1999)は結実率と果実内種子数を指標として、結実率30%で種子数3個以上のものは自家和合性品種で、結実率20~30%で種子数1.2 個以下は自家不和合の混合領域、結実率20%以下で種子数1.2 個以下は自家不和合と規定している。今回の試験においても 'ふじ'の自家受粉で得られた結実果の種子数を平均すると1.0 個、'恵'では平均2.9~3.9 個であり、既報のデータと一致していた. しかし、'王林'では種子のない単為結果の割合が89%以上と高く、種子数は非常に少なかった.

2 受粉様式の違いによる '王林'の結実調査

リンゴの自家結実性を論ずる場合、その要因として自家和合性、単為結果性の他に一部の3倍体野生種 Malus hupehensis、Malus torigoides に認められるアポミクシス性の高さ(石山ら、1987)も考慮しなければならない。自家和合性もアポミクシス性も種子形成が認められることから、種子形成のない単為結果性と容易に区別できる。そこで、本試験では'王林'の受粉様式の違いによる結実状況に関して試験を行った。その結果、第2表に示すように「除雌、除雄、無受粉」処理においても45%と高い結実率を示し、「除雄、無受粉」および「除雄、自家受粉」2試験区でもそれぞれ、72%と92%と高い結実率を示したが、いずれも無種子であり、単為結果による結実果であった。

このように、'王林'の自家結実率の高さは自家和合性やアポミクシス性によるものではなく、自動的および他動的単為結果性によることが明らかとなった(第2表)。なお、「除雌、除雄、無受粉区」の結実果が他の試験区の結実果に比較して非常に小さかったが(第1図、B)、これは除雌処理による影響が大きかったためと思われた。

3 獲得種子の胚培養および後代実生の DNA マーカーによる S 遺伝子型の判定と自家受粉由来および他家受粉由 来個体の識別

リンゴのS遺伝子型はこれまで交配や系統図をもとに推定されてきたが(小森ら, 2001), 野外の交配試験では曖昧さが残る. Janssen ら (1995) は、リンゴ品種の5つのS複対立遺伝子群に特異的なDNAマーカーを設定して、S遺伝子型の同定を行い、交配試験の結果と合わせて比較し、この方法がS遺伝子型の同定に有効であることを示した。その後、北原ら (1997) は国内の品種においてもこの方法が有効であり、試験に用いた品種のS遺伝子型の同定を行っている。さらに、深澤(赤田)ら (2002) は国内主要品種や新規育成品種等のS遺伝子型を決定し、受粉親和性の判定に応用している.

1の試験で得られた結実果から種子を採取し、胚培養を行った結果、ほとんどの種子から後代実生が得られた(第1表). そこで、これらの後代実生のうち'ふじ'、'王林'は全個体について、DNAマーカーによるS遺伝子型および自

家受粉由来個体の識別を行った. その結果,第3表に示すように,'ふじ'のS遺伝子型は S_1S_0 であるが,1998年の20 kR 照射試験区で結実した果実2果のうち,結実果No.2の種子由来の8 個体はS遺伝子が'ふじ'にない S_2 あるいは S_3 を有していることから,'ふじ'と他品種(S_2S_3)との交雑によるものと思われた. 一方,結実果No.1由来の3 個体については系統1-1 および1-2 では S_0 のみ,系統1-3 では S_1 のみが認められ,自家受粉の可能性や半数体又はその自然倍化個体の可能性が示唆された.

この識別法に従い,残りの後代実生についても検討した結果,1999年非照射区の結実果No.4由来の2個体は S_3 のS遺伝子を有していることから,他品種との他家受粉によるものと思われた.本実験では,開花前の閉じた花を用い

第3表 'ふじ' および'王林'後代実生の DNA マーカーに よる S 遺伝子型と自家結実の可能性の判定

交配		照射	果実	実生	S 遺伝子型	自家結実		
組み合わせ	年	線量	No	No	3 週四丁至	可能性		
'ふじ'			_		1, 9			
			1	1-1	9, –	000		
'ふじ'	1998	20 kR		1-2	9, –	0		
			2	1-3	1, -	_		
			2	2–1 2–2	1, 3 1, 2	×		
				2-2	1, 2	×		
				2-3	3, 9	×		
				2-5	3, 9	×		
				2-6	2, 9	×		
				2-7	1, 3	×		
				2-8	1, 3	×		
			1	1-1	1, 9	0000 × × 0 000000		
	1999	非照射	2	2-1	9, –	\circ		
			3	3-1	1, 9	\circ		
			4	4–1	1, 3	×		
				4–2	3, 9	X		
			5	5-1	1, 9			
		非照射	1	1-1	1, 9	\circ		
	2000	20 kR	1	1 - 1	9, –	\circ		
			2	2–1	1, 9	Ō		
			3	3–1	9, –	Õ		
				3–2	1, 9	Ó		
		40.1 B	4	4–1	9, –	\bigcirc		
		40 kR	1	1-1	9, –			
"王林"				_	2, 7			
		非照射	1	1-1	2, 7	000		
'王林'	1999		2	2–1	2, 7	Ō		
			3	31	2, 7			
			4	4–1	2, 3	×		
		非照射	1	1-1	2, 9	×		
	2000			1–2	7, 9	×		
				1–3	7, 9	×		
			2	2-1	2, –	0		
			3	3–1	2, 7	0		
				3–2	7, –			

園学研. (Hort. Res. (Japan)) 6 (1): 27-32. 2007.

第4表	'&E'	の X 線照射花粉の自家受粉試験で得られた後代実生の倍数性判定と DNA マーカー出現率	
-----	------	--	--

品種	倍数性		プライマー* / マーカー タ												
後代実生 No		D11 C12		D11 D97		D12 Bb13	D12 C12		D12C41		D12D30	D13C48		- マーカー	
			D1.1	R0.3	D0.9	R0.5	R1.1	D1.1	R0.4	R0.8	R0.4	D0.9	R2.2	D0.3	出現率
'& Ľ'	2n	1, 9	D	R	D	R	R	D	R	R	R	D	R	D	12/12
1-1	2n	9, –	D		_		_	D		R	R		R	D	6/12
1–2	2n	9, –	D	R	D	R	R	D	R	_			R	D	9/12
1–3	2n	1, –	_	R	D		R	_	R		R		_	D	6/12
2–1	2n	1, 3	_	R	_		R	_	R	_			R	D	5/12
2–2	2n	1, 2	_	R				_	_		-	_	R	D	3/10
2–3	2n	1, 3	D	R	D	R	_	D	R		_	_	_	-	6/10
2–4	2n	3, 9		R	_	_	R	_	R		_		R		4/11
2–5	2n	3, 9		R	_		R		R	R	_	_	_	-	4/12
2–6	2n	2, 9		R	_	R	~~~		R	R		of morning.			4/11
2-7	2n	1, 3	D	R	D	R	R	D	R			D		D	9/12
2–8	2n	1, 3	_	R	_	R	_	_	R			D	R	_	5/12

²上記番号 D11 C12 等の 2 プライマーを使用して、PCR 反応を行った際に現われる多型のなかでマーカーとして利用できるもの y 'ふじ'の両親は'国光'と'デリシャス'であるが、D は'デリシャス'由来のマーカー、R は'国光'由来のマーカーで D1.1、R0.3 等の数値は出現マーカーのサイズで Kb を表しており、'ふじ'ではヘテロで存在している.

袋かけ等の他家受粉を防ぐ手段を講じているにもかかわらず、得られた後代実生のなかにはS遺伝子型から他家受粉由来と識別されるものが認められたことから、野外での交雑試験で自家結実性の高低を判断する難しさが再認識された. しかし、このような自家受粉試験において DNA マーカーを用いたS遺伝子型の判定により、他家受粉由来個体を識別する方法の有効性が示唆された.

同様に、'王林'のS遺伝子型は S_2S_7 であるが、'王林'の後代実生の中で S_3 あるいは S_9 を有している個体は他品種との他家受粉個体とした(第3表). 今後はDNAマーカーによる解析途中の'恵'の後代実生について解析を行う予定である.

小森ら(1997)は'ふじ'(1個体)と'恵'(23 個体)の自家受粉由来の後代実生の中から S 遺伝子型ホモと思われる'ふじ'由来(S_1S_1)個体と'恵'由来の(S_2S_2)2 個体および(S_2S_2)1 個体を選抜している。本実験においても得られた後代実生の中に S 遺伝子型を片方だけ持っている個体が認められている。そこで、これらの遺伝子型や特性解析の基礎試験として、'ふじ'の 1998 年の放射線照射花粉の自家受粉で得られた後代実生のうち、自家受粉由来個体とした S 個体について、フローサイトメトリーによる倍数性判定を行った(第 S 表).

また, 'ふじ'の両親である, 'デリシャス'と'国光'由来の DNA マーカーで'ふじ'ではヘテロで出現する RAPD マーカーの出現頻度を調査した(第 4 表).

その結果,供試した11個体の倍数性はすべて2nの2倍体を示し、半数体は認められなかった。自家受粉由来個体のRAPDマーカーの出現頻度は理論上9/12を示すと考えられるが、供試した3個体のうち1個体が9/12で、残りの2個体は出現頻度が6/12で半数体由来の自然倍加個体の可能

性がある. 他家受粉由来 8 個体の RAPD マーカーの出現頻度は $3/10 \sim 9/12$ と個体毎にバラツキが認められ、それぞれの花粉親の遺伝子型の違いによる影響と思われた.

我々の得ている自家受粉由来として判定した個体群が、 実際に自家受粉によるものか、半数体の配偶子が倍加した ものかは、優性マーカーである RAPD マーカーでは判定で きず、共優性マーカーである SSR マーカー等を用いた調査 が必要になる. 共優性マーカーである SSR マーカーについ て、我々はリンゴで効率よく SSR 遺伝子型を判定するため の方法を確立し、'ふじ'を含む多くの品種・系統の SSR 遺伝子型大量解析を行っている(阿部ら、2005). また、同 じく共優性マーカーであるリンゴ CAPS マーカーについて も開発しているので(五十嵐ら、2001)、今後の後代実生の 遺伝子型の解析等にはこれらの共優性マーカーを利用する 予定である.

さらに、自家受粉由来個体として選抜した'ふじ'と'王林'の後代実生の生育や形態的な特性についての調査を行った結果、'王林'で得られた実生はほとんどのものが同程度の生育を示した.しかし、なかには非常に生育の旺盛なものが1系統、生育が非常に悪く節間がつまり、葉の形態も異常で柳葉状を呈しているものが1系統認められた.'ふじ'で得られた実生は生育の悪い系統が2系統認められた(データ省略).これらの生育異常が倍数性の違いによるものか個体変異によるものか今後、確認する.

摘 要

本試験では1998年~2001年にわたり、自家結実率の高さに違いのある3品種を用いて自家受粉試験を行った. 'ふじ'では花粉にX線を急照射した花粉を自家受粉する試験区も設けた. 自家受粉による結実数の調査をした結果, 'ふ

じ'の自家受粉試験区では、全般的に結実数は少ない傾向であり、4年間の結実率は $0 \sim 4.5\%$ であった. '王林' および'恵'の自家受粉試験区ではそれぞれ、 $16 \sim 35$ 果と $20 \sim 24$ 果と結実果が多く得られ、それぞれ結実率も $16.3 \sim 38\%$ 、 $40 \sim 48\%$ と高かった. また、X 線照射花粉の自家受粉でも結実率の向上は認められなかった.

結実果の種子数を調査した結果、それぞれ差が認められ 'ふじ'は'恵'よりも少なく、'王林'の結実果のほとんど は種子の無いものが多かった。'王林'の受粉、無受粉試験 を行った結果、いずれの試験区でも高い結実率を示したが、 内蔵する種子はすべて退化していた。この様に'王林'の 自家結実率の高さは自動的単為結果性の高さに加えて、受 粉の刺激によりさらに単為結実率が高くなったことが明ら かになった。

なお、受粉試験で得られた結実果から種子を取り出して、 胚培養を行い多数の後代実生を得、これらの S 遺伝子に特 異的 DNA マーカーにより S 遺伝子型の判定を行い、自家 受粉由来個体と他家受粉由来個体を識別した. これらの後 代実生は温室で育成しているが、なかには生育異常を示す 個体も認められた.

引用文献

- 阿部佳枝・初山慶道・上田高則・五十嵐 恵・神 みさを・ 今 智之・鈴木正彦. 2005. リンゴ品種・系統の SSR 遺伝子型大量解析. 園学雑. 74(別1):182.
- 深澤(赤田)朝子・工藤 剛・佐藤 耕・今 智之・初山 慶道・五十嵐恵・鈴木正彦. 2002. DNA マーカーを利 用したリンゴ育種母本の評価とデータベース化の試み. 育学研. 4(別1):98.
- 五十嵐 恵・深澤(赤田)朝子・初山慶道・白鳥孝子・ 工藤 剛・鈴木正彦. 2001. リンゴ品種のゲノムマッ ピング III. CAPS マーカーの開発. 育学研. 3 (別 1):81.
- 池田和生・渡 晶子・牛島幸一郎・山根久代・A. F. lezzoni・田尾龍太郎. 2003. 甘果オウトウの自家和合性 S4'ハプロタイプの解析. (第1報) DNA ブロット分析による S ハプロタイプ特異的 F ボックスタンパク質遺伝子(SFB) の解析. 園学雑. 72(別2): 291.
- 石山正行・佐藤 耕・瀬川一衛. 1987. リンゴ属植物の結 実様式. 東北農業研究. 40: 241-242.
- 石山正行・佐藤 耕・山田三千穂・鈴木長蔵・北山 弘. 1981. リンゴ「恵」とその後代における自家和合性について. 東北農業研究. 29:191-192.
- Janssens, G. A., I. J. Goderis, W. F. Broekaert and W.

- Broothaerts. 1995. A molecular method for S-allele identification in apple based on allele-specific PCR. Theor. Appl. Genet. 91: 691–698.
- 北原健太郎・今津聡美・副島淳一・松本省吾. 1997. リンゴ 15 栽培品種の S 遺伝子型と自家和合品種 '恵'の部分 S 遺伝子構造. 園学雑. 66 (別 1): 22-23.
- 小森貞男. 2001. 交雑不和合性とリンゴの安定生産. 園学 雑. 70(別2):58-59.
- 小森貞男・副島淳一・阿部和幸・工藤和典・京谷英壽. 1997. リンゴ S 遺伝子型ホモ個体の選抜. 園学雑. 66(別2): 100-101.
- 小森貞男・副島淳一・伊藤祐司・別所英男・阿部和幸・ 古藤田信博. 1999. 種子数および結実率によるリンゴ の交雑不和合性の判定. 果樹試報. 33:97-112.
- 壽 和夫・吉岡藤治・増田哲男・齋藤寿広・寺井理治・阿部和幸・真田哲朗・佐藤義彦. 1999. ナシ未熟花粉へのガンマ線急照射による自家和合性突然変異遺伝子の誘発. 園学雑. 68(別1):155.
- 壽 和夫・吉岡藤治・増田哲男・佐藤義彦・齋藤寿広・ 阿部和幸・齋藤寿広・真田哲朗. 2000. ガンマ線急照 射によるニホンナシ自家和合性突然変異遺伝子の誘 発. 園学雑. 69 (別1):193.
- Lapins, K. O. 1970. The Stella cherry. Fruit. Var. Hort. Digest. 24: 19–20.
- Lewis, D. 1949. Structure of the incompatibility gene. II. Induced mutation rate. Heredity 3: 339–355.
- 齋藤健一・新関 稔・肥田野 豊. 1987. リンゴの交雑育 種に関する基礎的研究. 弘大農報. 48: 126-135.
- 齋藤健一・武田和義・中山林三郎. 1978. リンゴの交雑育種に関する基礎的研究. 第6報「恵」の自家結実性について. 弘大農報. 29:41-49.
- 佐々英徳・平野 久・木庭卓人. 1996. ナシの自家和合性 突然変異体 'おさ二十世紀'の S 遺伝子の解析. 育学 雑. 46 (別 1): 285.
- 佐藤 耕・石山正行. 1993. リンゴ '恵' の後代における 自家結実性の遺伝. 育学雑. 43 (別2):318.
- Van Nerum, I., F. Incerti, J. Keulemans and W. Broothaerts. 2000. Analysis of self-fertility in transgenic apple lines transformed with an S-allele either in sense or antisense direction. Acta Hort. 538. 625–629.
- 山田三智穂・鈴木長蔵・石山正行・佐藤 正・中村喜治・石沢 清. 1971. リンゴ品種相互ならびに自家受粉による結実率について. 東北農業研究. 12: 282-285.