

‘晚白柚’ と四倍体の正逆交雑から得られた種子の重さと倍数性との関係

八幡昌紀¹・岡 信孝¹・國武久登^{2*}・山口清二^{3**}・小松春喜¹

¹九州東海大学農学部 869-1404 熊本県阿蘇郡長陽村河陽

²宮崎大学農学部 889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西1-1

³佐賀大学農学部附属農場 849-0903 佐賀県佐賀市久保泉町

Relationship between Weight of Seeds and Ploidy Level of the Seed-Derived Plantlets Obtained by the Reciprocal Crosses between ‘Banpeiyu’ pummelo and Tetraploid *Citrus* Species.

Masaki Yahata¹, Nobutaka Oka¹, Hisato Kunitake^{2*}, Seiji Yamaguchi^{3**} and Haruki Komatsu¹

¹*School of Agriculture, Kyusyu Tokai University, Choyo, Aso, Kumamoto 869-1404*

²*Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Gakuenkibanadai, Miyazaki 889-2192*

³*Saga University Farm, Kubo-izimi, Saga 849-0903*

園芸学研究 第2巻 第4号 別刷

園学研. (Hort. Res. (Japan)) 2 (4) : 247-252. 2003.

‘晩白柚’ と四倍体の正逆交雑から得られた種子の重さと倍数性との関係

八幡昌紀¹・岡 信孝¹・國武久登^{2*}・山口清二^{3**}・小松春喜¹

¹九州東海大学農学部 869-1404 熊本県阿蘇郡長陽村河陽

²宮崎大学農学部 889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西1-1

³佐賀大学農学部附属農場 849-0903 佐賀県佐賀市久保泉町

Relationship between Weight of Seeds and Ploidy Level of the Seed-Derived Plantlets Obtained by the Reciprocal Crosses between ‘Banpeiyu’ pummelo and Tetraploid *Citrus* Species.

Masaki Yahata¹, Nobutaka Oka¹, Hisato Kunitake^{2*}, Seiji Yamaguchi^{3**} and Haruki Komatsu¹

¹School of Agriculture, Kyusyu Tokai University, Choyo, Aso, Kumamoto 869-1404

²Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Gakuenkibanadai, Miyazaki 889-2192

³Saga University Farm, Kubo-izimi, Saga 849-0903

Summary

Relationship between weight of seeds and ploidy level of the seed-derived plantlets obtained from reciprocal crosses between diploid ‘Banpeiyu’ pummelo and two tetraploid varieties were examined to efficiently select triploid progenies for further breeding of the pummelo. Percentages of fully developed seeds obtained from the cross of ‘Banpeiyu’ pummelo with 4X Yuzu or 4X Natsudaikai were decreased by 48.0% and 8.4% as compared with the control, respectively. Seedlings obtained from these two crosses included triploids, tetraploids and hexaploid. ‘Banpeiyu’ pummelo as seed parent yielded a high percentage of triploids (88.0%) when crossed with 4X Yuzu, but low percentage (30.2%) when crossed with 4X Natsudaikai. In both crosses, the average weight of triploid seeds was significantly lighter than that of tetraploid seeds. Furthermore, all seedlings derived from undeveloped seeds were triploids.

Percentages of fully developed seeds obtained from 4X Yuzu or 4X Natsudaikai × ‘Banpeiyu’ pummelo were not different from those of seeds from open pollinated fruits, but weights of these seeds were extremely decreased compared to seeds from open pollinated fruits. Approximately 50% of *in vitro* cultured seedlings obtained from both crosses were triploid, while the others were tetraploids, which might be derived from nucellar embryos of seed parents. There was no difference in the average weights of seeds between have seeds yielding triploid seedlings and those yielding tetraploids that might have originated from nucellar tissue.

キーワード： 倍数性育種, ‘晩白柚’, フローサイトメトリー, カンキツ, 三倍体

緒 言

カンキツ類では生食または加工用として利用しやすい無核性が好まれており、ネーブルオレンジやウンシュウミカンのように無核あるいは種子が極めて少ない品種が多い。無核性の育種は、やく退化などの遺伝的不稔性を交雑育種に利用する方法(西浦ら, 1983)や放射線で突然変異を誘発する方法(Hensz, 1971)などが利用されてきた。この他に無核性品種の育成のための手法として三倍体育種があげられる(Soost・Cameron, 1980; 1985)。一般に、交雑による三倍体の作出方法として、二倍体×

四倍体および四倍体×二倍体の倍数体間交雑(Longley, 1926; Esen・Soost, 1972; 金好ら, 1997)と二倍体間交雑から得られる小粒種子からの選抜(Esen・Soost, 1971; Wakanaら, 1981; Toolapongら, 1996)がある。しかしながら、二倍体×四倍体においては、組合せによって正常な受精から得られる三倍体の他に二倍性の非還元性雌性配偶子と二倍性の還元性雄性配偶子との受精による四倍体や胚と胚乳における倍数性の比のアンバランスにより早期退化した不完全種子が多数発生することが知られている(立川ら, 1961; Esen・Soost, 1972; Yamashita, 1976; 生山ら, 1982; 高原ら, 1982)。このことが、カンキツにおける三倍体育種の問題点の一つとなっている。

近年、植物の倍数性育種においてフローサイトメーター

2002年12月12日 受付。2003年5月30日 受理。

*Corresponding author. E-mail: hkuni@cc.miyazaki-u.ac.jp

** 故人

による倍数性解析が利用されている。従来、倍数性解析に用いられている押しつぶし法は、プレパラートの作成から顕微鏡観察までに少なくとも2日間は必要であり、1日に行う染色体調査にも限界がある。しかしながら、フローサイトメーターは、迅速かつ少量のサンプルで植物の倍数性を解析することが可能であり、キウイフルーツ、カキおよびブルーベリーなどの染色体が小さく、また、その数が多いために観察が困難な場合や多数のサンプルの調査を行う場合には極めて有効である (Costichら, 1993; Boase・Hopping, 1995; Tamuraら, 1996)。

そこで、本研究では、九州特産カンキツである‘晩白柚’を主な材料として三倍体育種を効率的に進めるための基礎的情報を得るために、二倍体と四倍体間で正逆交雑を行い、フローサイトメーターを利用して種子の重さと倍数性との関係を調査した。また、二倍体×四倍体から得られた不完全種子の培養を行い、得られた実生の倍数性を調査した。

材料および方法

供試材料には、熊本県農業研究センター果樹研究所栽植の二倍体‘晩白柚’(*Citrus grandis* Osbeck), 佐賀大学農学部附属農場栽植の四倍体ユズ (*C. junos hort. ex Tanaka*) および四倍体ナツダイダイ (*C. natsudaidai* Hayata) の成木を用い、‘晩白柚’×四倍体ユズ、‘晩白柚’×四倍体ナツダイダイ、四倍体ユズ×‘晩白柚’および四倍体ナツダイダイ×‘晩白柚’の二倍体と四倍体間で正逆交雑を行った。

交雑は、5月中旬の開花直前の花を除雄し、綿棒で受粉した後に袋をかけた。交雑した果実は、12月上旬に収穫し、果実重と種子数を調査した。その後、得られた種子については正常に発達しているものを完全種子、しいな状態のものを不完全種子とし、完全種子には番号をつけ、それぞれについて種子重を測定した。さらに、‘晩白柚’を種子親とした組合せから得られた全ての完全種子は、種皮を取り除き、25℃のインキュベーター内で湿った紙上に置床し、発芽させた。また、二倍体×四倍体から得られた不完全種子と四倍体×二倍体から得られた完全種子は、3.0%ショ糖、0.5 g/l 麦芽抽出物および2.0 g/l ジェランガムを添加した MT 培地 (Murashige・Tucker, 1969) 培地上で培養を行った。培養は、すべて25℃、40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、連続照明条件下で行った。

得られた実生の倍数性の解析には、フローサイトメーター (EPICS XL SYSTEM II, BECKMAN COULTER) による方法と根端の押しつぶしによる染色体観察法を用いた。フローサイトメーターによる解析には、春崎ら (2000) の方法に従い、試料として実生の幼葉を用いた。採取した試料50 mgに2 ml chopping buffer [25 mg/l propidium iodide (PI), 50 mM Na_2SO_3 , 140 mM 2-メルカプトエタノール, 1.0% Triton X-100, 50 mM トリス塩

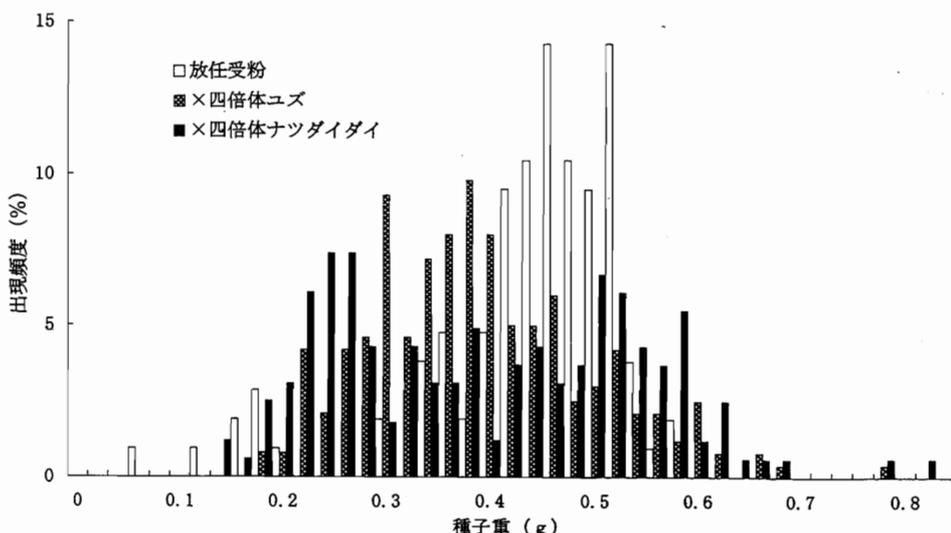
酸, pH 7.5] を加え、シャーレ上において約5分間細かく刻み、ミラクロス (Calbiochem, Co. Ltd.) でろ過した。ろ液を遠心分離 (12,000 rpm, 3分間) し、上清を除去した後、沈殿物を550 μl chopping buffer と混合し、よく懸濁した。さらに、測定直前に50 μl の500 mg/l PI 溶液を加えて混合した後、フローサイトメーターで10,000個の核の蛍光強度により倍数性の判定を行った。また、いくつかの実生については一部修正した生山 (1981) の染色体観察法を適用して染色体数を調査した。すなわち、1.5~2.0 cm に伸長した幼根の先端0.5 cm を採取し、2 mM 8-ヒドロキシキノリンで4℃、12時間前処理後、酢酸アルコールで4℃、12時間固定した。さらに、1% ラクトプロピオニック・オルセインで25℃、3時間、解離・染色した後、押しつぶし法によってプレパラートを作成し、光学顕微鏡を用いて観察した。

結果および考察

二倍体‘晩白柚’と四倍体の正逆交雑を行った結果 (第1表), 二倍体×四倍体において、放任受粉区の完全種子出現率は、93.3%であったのに対し、四倍体ユズと四倍体ナツダイダイを交雑した場合、それぞれ48.0%と8.4%となり、特に、四倍体ナツダイダイを花粉親として用いた場合、多くの不完全種子が出現した。一方、四倍体×二倍体においては、四倍体のユズおよびナツダイダイがそれぞれ多胚であるため、完全種子出現率は、放任受粉区と‘晩白柚’を交雑したものとを比較して、四倍体ユズでは95.8%と93.8%であり、四倍体ナツダイダイでは87.9%と75.0%であり、それぞれほとんど差異は無かった。

次に、二倍体×四倍体で得られた完全種子の重量別出現頻度を比較した結果 (第1図), ‘晩白柚’の放任受粉では0.5 g付近に多くの種子が分布していたのに対し、四倍体ユズを花粉親とした場合には0.4 g付近、四倍体ナツダイダイを花粉親とした場合には0.25 g付近と0.5 g付近に多く分布していた。なお、平均種子重 (総種子) は、四倍体ユズを花粉親とした場合には0.28 g、四倍体ナツダイダイを花粉親とした場合には0.11 gであり、いずれも‘晩白柚’の放任受粉区で得られた種子と比較して軽かった (第1表)。また、四倍体×二倍体で得られた完全種子について放任受粉区と‘晩白柚’を交雑したものとを比較したところ (第1表), 四倍体ユズでは0.33 gと0.22 g、四倍体ナツダイダイでは0.25 gと0.12 gで、それぞれ放任受粉の約2/3と1/2程度となり、四倍体×二倍体の交雑においても種子重が軽くなった。

二倍体×四倍体における種子形成については、不完全種子の割合が高くなり、完全種子が小さくなることが報告されている (立川ら, 1961; Esen・Soost, 1972)。特に、Yamashita (1976) は、花粉親に四倍体ナツダイダイを用いた時、得られる種子のほとんどが不完全種子とな



第1図 ‘晩白柚’ 放任受粉, ‘晩白柚’ × 四倍体ユズおよび ‘晩白柚’ × 四倍体ナツダイダイから得られた種子の重量別出現頻度の比較

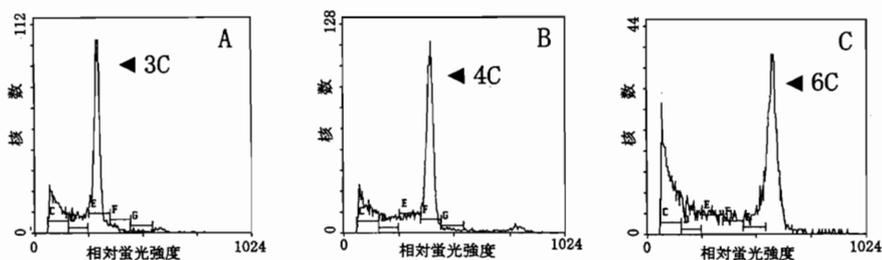
第1表 ‘晩白柚’ と四倍体の正逆交雑結果

種子親	花粉親	交配花数	着果数	着果率 (%)	平均果実重 (g)	種子数				一果あたり の完全種子数	平均種子重 (g)		完全種子 出現率 (%) [*]
						通常	小粒	計	不完全		総種子 ²	完全種子	
晩白柚	放任授粉	—	3	—	1332.0	95	3	98	7	32.7	0.43 a ⁷	0.44 NS	93.3
	四倍体ユズ	30	10	33.3	1599.4	224	14	238	258	23.8	0.28 b	0.40	48.0
	四倍体ナツダイダイ	60	30	50.0	1850.4	137	26	163	1775	5.4	0.11 c	0.41	8.4
四倍体ユズ	放任授粉	—	5	—	111.5	66	2	68	3	13.6	0.32 a	0.33 a	95.8
	晩白柚	5	1	20.0	53.7	15	0	15	1	15.0	0.21 b	0.22 b	93.8
四倍体ナツダイダイ	放任授粉	—	5	—	450.0	51	0	51	7	10.2	0.23 a	0.25 a	87.9
	晩白柚	21	1	4.8	366.0	1	11	12	4	12.0	0.10 b	0.12 b	75.0

^{*} 通常種子+小粒種子+不完全種子

⁷ ダンカンの多重検定により, 異なるアルファベット間に有意差 (5%) があることを示す

² (完全種子数 (通常種子+小粒種子) / 総種子数) × 100



第2図 ‘晩白柚’ と四倍体ユズとの交雑から得られた実生のフローサイトメーターによる倍数体解析
A, 三倍体; B, 四倍体; C, 六倍体

ることから, ヒュウガナツの無核果生産に四倍体ナツダイダイを受粉樹として利用することを提唱している. 一方, Esenら (1978) は, 四倍体 × 二倍体から得られる種子は, 四倍体 × 四倍体から得られる種子の約 1/6~1/3 の重さになることを報告している.

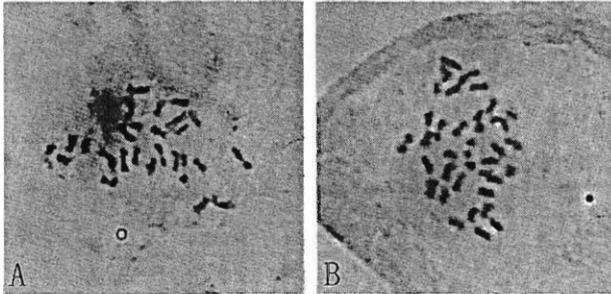
次に, これらの種子を播種したところ, ‘晩白柚’ × 四倍体ユズと ‘晩白柚’ × 四倍体ナツダイダイからそれぞれ 117 と 86 本, また, 四倍体ユズ × ‘晩白柚’ と四倍体ナツダイダイ × ‘晩白柚’ からそれぞれ 13 と 12 本の実生が得られた. これらの実生の倍数性をフローサイトメーターで解析した結果 (第2図, 第2表), ほとんどが三倍体と四倍体であり, 花粉親に四倍体ユズを使用した区では六倍体が1個体確認された. さらに, 無作為に選抜した 10

個体の実生について染色体数を調査した結果, 六倍体の染色体数の観察はできなかったが, 三倍体と四倍体についてはフローサイトメーターによる倍数性解析とすべて一致した (第3図). 調査した個体の中に異数体は観察されなかった. カンキツ類の育種におけるフローサイトメーターの利用は, 体細胞雑種 (Mirandaら, 1997; Ollitraultら, 1998) や三倍体 (Ollitraultら, 1996a; 春崎ら, 2000) の選抜において既に利用されている. フローサイトメーターによる倍数性解析は, カンキツ類の倍数性育種を効率的に進めるための有効な手法であると考えられる.

次に, 二倍体 × 四倍体の完全種子から得られた倍数体の出現頻度を調査したところ (第2表), ‘晩白柚’ × 四倍

第2表 ‘晩白柚’ と四倍体の正逆交雑から得られた実生の倍数性とその実生が出現した種子の重さの比較

種子親	花粉親	倍数性	個体数	出現頻度 (%) ^a	平均種子重 (g)	種子重 (g)	
						最大値	最小値
晩白柚	四倍体ユズ	三倍体	103	88.0	0.43 b ^y	0.78	0.23
		四倍体	13	11.1	0.51 a	0.75	0.38
		六倍体	1	0.9	0.24	0.24	—
晩白柚	四倍体ナツダイダイ	三倍体	26	30.2	0.36 b	0.59	0.16
		四倍体	60	69.8	0.53 a	0.82	0.20
四倍体ユズ	晩白柚	三倍体	6	46.2	0.23 NS	0.27	0.18
		四倍体	7	53.8	0.22	0.32	0.10
四倍体ナツダイダイ	晩白柚	三倍体	6	50.0	0.10 NS	0.12	0.05
		四倍体	6	50.0	0.12	0.34	0.05

^a 個体数/総個体数^y ダンカンの多重検定により、異なるアルファベット間に有意差 (5%) があることを示す

第3図 ‘晩白柚’ と四倍体ユズとの交雑から得られた実生の根端の染色体

A, 三倍体 (2n=3X=27); B, 四倍体 (2n=4X=36)

体ユズでは三倍体出現率が 88.0% と高かったのに対し、‘晩白柚’×四倍体ナツダイダイでは 30.2% と低く、四倍体の出現率の方が高くなった。カンキツ類の二倍体×四倍体において、三倍体は胚と胚乳との倍数性比 (3:4) のアンバランスによりそのほとんどが不完全種子となり、非還元性の雌性配偶子が関与した四倍体 (4:6=2:3) は正常に成長し、完全種子になりやすいことが報告されている (Esen・Soost, 1972)。本研究の獲得個体数における四倍体の出現頻度をみた場合、‘晩白柚’×四倍体ユズでは 11.1%、‘晩白柚’×四倍体ナツダイダイでは 69.8% であり、カンキツ類の二倍体×二倍体から出現する非還元性の雌性配偶子の出現頻度と全く異なっていた。しかし、両交雑組合せの四倍体出現頻度について不完全種子を含めた総種子数に対する割合で見たところ、それぞれ 2.6% と 3.1% であり、二倍体間の交雑から出現する非還元性の雌性配偶子の出現頻度と近似していた。しかし、三倍体出現頻度を同様に不完全種子を含めた総種子数に対する割合で見たところ、それぞれ 20.8% と 1.3% と異なっており、四倍体の花粉親の違いが三倍性胚の発育過程に何らかの影響を与えていることが推察された。立川ら (1961) と生山ら (1982) も、四倍体ナツダイダイを花粉親に用いた場合、不完全種子が多く出現し、完全種子から得られた実生のほとんどが四倍体であったことを報告しており、特に四倍体ナツダイダイを花粉親として用いた場合、受精後の胚の発育が停止しやすいものと推察された。今後、受精後の胚の発育過程について詳細な調査が必要であると考えられる。なお、染色体数は未確認であるが、‘晩白

柚’×四倍体ユズから 1 個体の六倍体が得られた。二倍体×四倍体の交雑での六倍体の出現は、立川ら (1961)、Esen・Soost (1972) および生山ら (1982) などによって報告されている。Esen・Soost (1972) は、その六倍体の発生起源について、四倍性の二重非還元性雌性配偶子と二倍性の還元性雄性配偶子の受精によるものと推測している。しかしながら、楊ら (2002) は、‘土佐文旦’ と ‘水晶文旦’ との二倍体間交雑で得られる三倍体および四倍体について、CMA 分染パターンに基づく染色体構成を調査し、得られた三倍体および四倍体の発生は、非還元性の雌性配偶子だけでなく、非還元性の雄性配偶子も関与していることを報告している。本研究で得られた六倍体は、非還元性の雌性および雄性配偶子の受精あるいは二重非還元性の雌性配偶子と還元性雄性配偶子間の受精の可能性が考えられ、細胞遺伝学的手法による発生起源の解明が必要であると思われる。

一方、四倍体ユズおよび四倍体ナツダイダイを種子親とした両組合せでは、珠心胚由来の実生に混じって、それぞれ約 50% の頻度で三倍体を得られた (第 2 表)。生山 (1992) は、四倍体 ‘川野ナツダイダイ’ を種子親として二倍体の 5 品種を交雑し、その成熟胚の染色体数を調査した結果、三倍性胚は 30~50% の種子で認められ、それ以外の種子は小粒となっているにもかかわらず四倍性胚しか認められなかったことを報告している。さらに、この原因として、三倍性受精胚の発達が珠心胚の発生によって抑えられたものと推測している。

次に、‘晩白柚’×四倍体から得られた実生の種子重を倍数体ごとに比較した結果 (第 2 表)、『晩白柚’×四倍体ユズおよび‘晩白柚’×四倍体ナツダイダイから得られた三倍体および四倍体の平均種子重は、それぞれ 0.43g と 0.51g および 0.36g と 0.53g であり、両組合せにおいて三倍体は四倍体の種子より有意に軽いことが認められた。そこで、種子重とそれぞれの倍数体の出現頻度をみたところ (第 4 図)、『晩白柚’×四倍体ユズでは、三倍体と四倍体の種子の分布に明らかな違いはみられなかったが、『晩白柚’×四倍体ナツダイダイでは、0.25g 付近に三倍体、0.5g 付近に四倍体が多く出現しており、三倍体と四倍体の種子重の分布には明確な差異が認められた。なお、六倍体の種子重は 0.24g の小粒種子由来であった。一方、

四倍体ユズ×‘晩白柚’および四倍体ナツダイダイ×‘晩白柚’から得られた種子について三倍体実生と四倍体実生のみが得られた種子の重さを比較した結果、両者の種子重には有意な差異は観察されなかった。金好・蔵尾(2000)は、単胚性品種である‘清見’の四倍体に二倍体のオオタチバナを交雑した結果、得られた完全種子のほとんどが中～極小の大きさであり、完全種子の実生は全て三倍体であったことを報告している。本研究では、種子親が多胚性の四倍体であり、出現した四倍体実生はいずれも‘晩白柚’の特徴である翼葉を持たず珠心胚由来であると考えられた。したがって、多胚性品種でも前述したように放任受粉の種子と比べ小粒となり、その大きさは珠心胚形成や雑種胚由来である三倍体の出現の如何に関わらず雑種胚と胚乳の倍数性比(3:5)によって決定されるものと推察される。

二倍体×四倍体から得られた不完全種子の培養を行った結果、‘晩白柚’×四倍体ユズと‘晩白柚’×四倍体ナツダイダイからそれぞれ13個体と12個体の実生が得られ、それらの倍数性はすべて三倍体であった。単胚性二倍体×四倍体により得られた不完全種子の胚は、そのほとんどが三倍体であることが報告されている(Starrantino・Recupero, 1981)。また、単胚性二倍体と体細胞雑種(異質四倍体)との交雑により得られた不完全種子の胚も同様にすべて三倍体であったことが報告されている(Oiyamaら, 1991; Kobayashiら, 1995)。以上のように、単胚性二倍体と四倍体との交雑より得られる不完全種子は、培

養により効率的に三倍体を獲得することができ、特に、完全種子の三倍体が得にくい交雑組合せでは有効な手法になるものと考えられる。

本研究では、‘晩白柚’と四倍体の正逆交雑によって得られた種子の重さとその種子より発生した実生の倍数性を明らかにした。‘晩白柚’を種子親とした場合には、四倍体の花粉親によって三倍体の発生頻度が異なり、三倍体と四倍体の種子の重さには有意な差異が観察された。また、フローサイトメーターは、カンキツ類の倍数性育種を効率的に進めるために有効な手法であることが確認された。今後、単胚性品種や優良品種における四倍体の育成とその遺伝育種学的利用、様々な品種の倍数体間交雑における倍数体の発生頻度の規則性、予期しない倍数体における発生起源の解明等に関する基礎的研究を行うことにより、既存品種間交雑での効率的な三倍体作出が可能になるものと思われる。

摘 要

‘晩白柚’を用いた三倍体育種を効率的に進めるために、二倍体と四倍体間での正逆交雑から得られた種子の重さとその倍数性との関係を調査した。

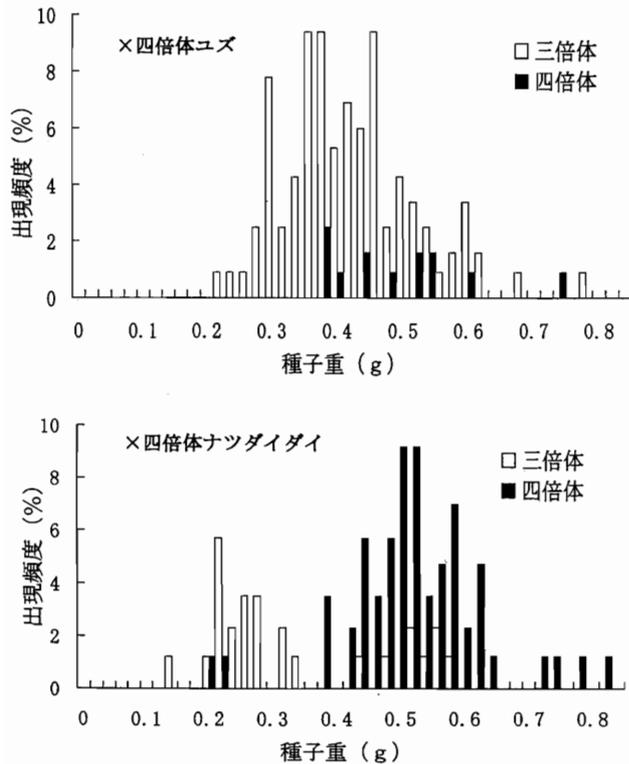
‘晩白柚’に四倍体ユズまたは四倍体ナツダイダイを交雑したところ、完全種子出現率が対照区(放任受粉果)と比較してそれぞれ48.0%と8.4%まで減少した。それらの実生の倍数性を調査した結果、三倍体と四倍体が確認され、前者の組合せからは六倍体が1個体得られた。‘晩白柚’×四倍体ユズでは三倍体の発生率が高く(88.0%)、‘晩白柚’×四倍体ナツダイダイでは低かった(30.2%)。二倍体×四倍体の両組合せから得られた三倍体と四倍体の平均種子重は、三倍体が四倍体より有意に軽いことが明らかとなった。さらに、これらの組合せから得られた不完全種子を培養した結果、得られた実生はすべて三倍体であった。

一方、四倍体ユズおよび四倍体ナツダイダイに‘晩白柚’を交雑した結果、放任受粉果と比較して、それぞれの完全種子出現率には大きな差異は観察されなかったもの、種子重は有意に減少した。三倍体は、珠心胚由来と考えられる四倍体に混じって、それぞれの組合せで約50%の頻度で得られた。三倍体が発生した種子とそれ以外の種子の重さには有意な差異は観察されなかった。

謝 辞 本研究の遂行にあたり、染色体観察法の技術的な御指導をいただいた九州東海大学農学部長野克也助教授、三嶋賢太郎氏、平尾知士氏に深く感謝の意を表す。さらに、供試樹等のご協力をいただいた熊本県農業研究センター果樹研究所所長磯部 暁氏に深く感謝の意を表す。

引用文献

Boase, M. R. and M. E. Hopping. 1995. DNA dodecaploid



第4図 ‘晩白柚’×四倍体ユズと‘晩白柚’×四倍体ナツダイダイから得られた実生の倍数性とその実生が出現した種子の重さとの関係

- plants detected among somaclones of *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* cv. Hayward. Plant Cell Rep. 14: 319-323.
- Costich, D. E., R. Ortiz, T. R. Meagher, L. P. Bruedfrle and N. Vorsa. 1993. Determination of ploidy level and nuclear DNA content in blueberry by flow cytometry. Theor. Appl. Genet. 86: 1001-1006.
- Esen, A. and R. K. Soost. 1971. Unexpected triploids in citrus: their origin, identification and possible use. J. Hered. 62: 329-333.
- Esen, A. and R. K. Soost. 1972. Tetraploid progenies from $2x \times 4x$ crosses of citrus and their origin. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97: 410-414.
- Esen, A., R. K. Soost and G. Geraci. 1978. Seed set, size and development after $4x \times 2x$ and $4x \times 4x$ crosses in citrus. Euphytica 27: 283-294.
- 春崎聖一・國料大輔・國武久登・小松春喜. 2000. フローサイトメトリーによるカンキツ類の倍数性の判定. 九州東海大農紀要. 19: 45-52.
- Hensz, R. A. 1971. Star Ruby, a new deep-red-fleshed grapefruit variety with distinct tree characteristics. J. Rio Grande Hort. Soc. 25: 54-58.
- 金好純子・加納徹治・桑田祐二・平尾 晃・中谷宗一・小林省蔵. 1997. カンキツ類の三倍体品種の育成(第1報) ウンシュウミカンと四倍体ポンカンの交雑による雑種三倍体の作出. 園学雑. 66(1): 9-14.
- 金好純子・蔵尾公紀. 2000. カンキツ類のコルヒチン処理による四倍体の作出と交配親としての活用. 園学雑. 69(別2): 129.
- Kobayashi, S., T. Ohgawara, W. Saito, Y. Nakamura and J. Shimizu 1995. Fruit characteristics and pollen fertility of somatic hybrids. J. Japan Soc. Hort. Sci. 64: 283-289.
- Longley, A. E. 1926. Triploid citrus. Washington Acad. Sci. 16: 543-545.
- Miranda, M., T. Motomura, F. Ikeda, T. Ohgawara, W. Saito, T. Endo, M. Omura and T. Moriguchi. 1997. Somatic hybrid obtained by fusion between *Poncirus trifoliata* ($2x$) and *Fortunella hindsii* ($4x$) protoplasts. Plant Cell Rep. 16: 401-405.
- Murashige, T. and D. P. H. Tucker. 1969. Growth factor requirements of citrus tissue culture. p. 1155-1161. In: H.D. Chapman (ed.). Proc. First Int. Citrus Symp. Vol. 3. University of California, Riverside.
- 西浦昌男・七条虎之助・上野 勇・岩政正男・木原武士・山田彬雄・吉田俊雄・岩崎藤助. 1983. カンキツの新品種‘清見’について. 果樹試報. B10: 1-9.
- 生山 巖. 1981. カンキツ類の根端細胞における染色体の一観察法について. 果樹試報. D4: 1-10.
- 生山 巖・奥代直己・高原利雄. 1982. カンキツ類の倍数性、育種に関する研究 II $2x \times 4x$ の組合せにおいて出現する倍数体の種類及びその頻度について. 果樹試報. D3: 1-17.
- Oiyama, I., S. Kobayashi, K. Yoshinaga, T. Ohgawara and S. Ishii. 1991. Use of pollen from a somatic hybrid between *Citrus* and *Poncirus* in the production of triploids. HortSci. 26: 1082.
- 生山 巖. 1992. カンキツ類の倍数性育種に関する研究—主として四倍体育種素材の作出について. 果樹試報. 特報3: 41-48.
- Ollitrault, P., D. Dambier, C. Jacquemond, V. Allent and F. Luro. 1996a. In vitro rescue and selection of spontaneous triploids by flow cytometry for easy peeler Citrus breeding. Proc. Int. Soc. Citricult. 1: 254-258.
- Ollitrault, P., D. Dambier, Sudahono, F. Mademba-Sy, F. Vanel, F. Luro and B. Aubert. 1998. Biotechnology for triploid mandarin breeding. Fruits. 53: 307-317.
- Soost, R. K. and J. W. Cameron. 1980. ‘Oroblanco’, a triploid pummelo-grapefruit hybrid. HortSci. 15: 667-669.
- Soost, R. K. and J. W. Cameron. 1985. ‘Melogold’, a triploid pummelo-grapefruit hybrid. HortSci. 20: 1134-1135.
- Starrantino, A. and G. R. Recupero. 1981. Citrus hybrids obtained from $2x$ female \times $4x$ males. Proc. Intl. Soc. Citricult. 1: 31-32.
- 立川忠夫・田中諭一郎・原 節夫. 1961. 柑橘の品種改良に関する研究 (I) 三倍体柑橘の育成. 静岡柑試報. 4: 33-46.
- 高原利雄・生山 巖・奥代直己. 1982. カンキツ類の自家不和合性品種に対する受粉樹としての4倍体花粉の影響. 果樹試報. D4: 11-24.
- Tamura, M., R. Tao and A. Sugiura. 1996. Production of dodecaploid plants of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* L.) by colchicines treatment of protoplasts. Plant Cell Rep. 15: 470-473.
- Toolapong, P., H. Komatsu and M. Iwamasa. 1996. Triploids and haploid progenies derived from small seeds of ‘Banpeiyu’ pummelo, crossed with ‘Ruby Red’ grapefruit. J. Japan Soc. Hort. Sci. 65: 255-260.
- 楊 曉伶・北島 宣・長谷川耕二郎. 2002. ‘土佐文旦’ \times ‘水晶文旦’の倍数性交雑実生の染色体構成に基づく対合染色体の非還元配偶子の推定. 園学雑. 71: 538-543.
- Yamashita, K. 1976. Production of seedless fruit in Hyuganatsu, *Citrus tamurana* Hort ex Tanaka and Hassaku, *Citrus hassaku* Hayata through pollination with pollen grains from the $4x$ Natsudaidai, Citrus natsudaidai Hayata. J. Japan Soc. Hort. Sci. 45: 225-230.
- Wakana, A., M. Iwamasa and S. Uemoto. 1981. Seed development in relation to ploidy of zygotic embryo and endosperm in polyembryonic citrus. Proc. Int. Soc. Citricult. 1: 35-39.