

カンキツ類茎頂培養系におけるコルヒチンによる4倍体の作出

大藪榮興・野方俊秀・*大村三男 (佐賀県果樹試験場・*果樹試験場興津支場)

Eikou OHYABU, Toshihide NOGATA and Mitsuo OMURA :
Colchicine-induced Tetraploid in Shoot Tip Culture of Citrus

カンキツ類における4倍体の作出は、2倍体との交配で無核性が期待できる3倍体品種を育成する上で重要である。4倍体は珠心胚実生において偶発的な発生が見られる以外に人為的には側芽をコルヒチン処理して作出されている。本実験ではカンキツの茎頂培養系において、苗条をコルヒチン溶液に浸漬処理して4倍体の作出を効率的に行うため、コルヒチンの濃度と浸漬処理日数が茎頂の生育に及ぼす影響及び4倍体発生頻度について検討した。

1. 材料及び方法

約1か月間隔で1年間継代培養し増殖したシンタラ (84335) の苗条を約5mmの長さで切り取り、コルヒチン0, 0.01, 0.1, 1%を含むシュクロース3%, ベンジルアデニン 10^{-6} M, ナフタレン酢酸 10^{-7} M, ジベレリン 5×10^{-6} Mを加えたMurashige and Skoog (MS) 培地 (pH 5.6) に1, 3, 5, 10日間暗黒下25°Cで浸漬処理した。処理後、コルヒチンを含まない前述の同培地で3回洗浄し、ゲルライトを0.2%加えてゲル化したこの培地に苗条を1本ずつ植え付け、25°C16時間日照 (2000LUX) 条件下で培養した。浸漬処理開始から30日後に茎数、茎長を測定し、併せて植え付けた苗条の状態を観察した。更に20日間培養した後、処理株の先端から約10mmの長さで、苗条を2本切り取り、ゲルライト0.2%でゲル化したシュクロース3%添加のMS培地 (pH5.6) を植えかえて発根させた。

植えかえ後、85日目までに発生した根をメタノール酢酸 (3 : 1) で固定し、根端の染色体を押しつぶし法で観察した。また、根の形態から無処理区の平均的な形の根に比べて太くなっている根についてその染色体数を観察した。

2. 結果

植え付け後の茎数は、コルヒチンの各濃度内では、処理日数に関係なくほぼ同数で、濃度間で見ると高濃度になるにしたがって茎の発生が抑制された。茎長は、処理濃度が高くなり、処理日数が長くなるにつれて伸長が抑制された。また、処理濃度が高くなるにしたがって、成長点部への障害が認められ、局部的に肥大したものや、白色のカルスが発生したものが認められた。さらに、葉の褐変や、茎頂が枯死したものが見られた。発根は、植え付け後10日目ころから85日目まで長期に認められた。植え付け株当たりの発根率をみると、コルヒチン濃度、処理日数に一定の傾向は見られず最高97%、最低52%であった。根端の染色体を観察した結果、コルヒチンを含まない区は、全て2Xであったが、コルヒチン処理区では、2Xのみ、4Xのみ及び、2Xと4Xの両方の根が発生したものが観察された。また2Xの根が発生した後で4Xの根が発生したり、4Xの根が発生した後に2Xの根が発生した茎頂も認められた。根の形態における調査では、処理区で発生した太い根の大半が4Xであった。

第1表 コルヒチン処理から30日後における苗条の生育状況

コルヒチン濃度	処理日数	処理苗条数	茎数	茎長 (mm)	障害発生率			
					カルス (%)	局部肥大 (%)	葉枯れ (%)	枯死 (%)
0	1	20	4.2	20	0	0	0	0
	3	21	4.1	19	0	0	0	0
	5	23	4.9	16	0	0	0	0
	10	22	4.4	13	0	0	0	0
	1	21	3.4	21	0	0	0	0
0.01	3	21	4.1	15	0	0	0	0
	5	21	3.4	15	0	24	0	0
	10	20	3.1	12	0	10	0	0
0.1	1	22	2.0	13	0	32	0	0
	3	20	2.6	11	10	45	0	0
	5	20	2.4	13	0	55	0	0
	10	20	2.2	8	0	35	0	0
1	1	21	1.8	9	29	33	0	0
	3	21	1.5	9	24	29	0	10
	5	20	1.0	6	0	10	60	5
	10	20	1.0	4	0	5	65	20

第2表 コルヒチン処理による4倍体の発生状況

コルヒチン濃度	処理日数	植付け苗条数	発根苗条数	発根率 (%)	倍率性			
					2X (%)	4X (%)	2Xと4X (%)	不明 ^{a)} (%)
0	1	37	25	68	21	0	0	4
	3	42	32	76	24	0	0	8
	5	48	39	81	25	0	0	14
	10	46	38	83	21	0	0	17
	1	39	38	97	25	4	5	4
0.01	3	41	32	78	16	6	2	8
	5	43	27	63	12	5	3	7
	10	37	28	76	18	1	1	8
	1	15	10	67	4	2	0	4
0.1	3	27	14	52	7	4	1	2
	5	17	13	77	6	4	0	3
	10	20	16	80	7	3	2	4
	1	23	21	91	8	6	2	5
1	3	19	12	63	2	4	5	1
	5	8	5	63	4	1	0	0
	10	0	0	-	-	-	-	-

注) a) : 同一苗条から2本以上発根し、その染色体数が2X, 4Xの両方を示したもの。

b) : 発根した苗条のうち染色体数が確認できなかったもの及び未調査のものを含む。