

〔夏に強く高品質なブルーベリーの育成（共同研究）〕
スノキ属野生種種子へのコルヒチン処理による倍数体作出

鵜沢玲子・宮下千枝子^a・石川駿二*・三位正洋*²

(園芸技術科・*東京農工大学・*²千葉大学) ^a現島しょ農林水産総合センター八丈事業所

【要 約】ブルーベリーに近縁なスノキ属野生種の種内交雑種子および種間交雑種子にコルヒチン1000～2000mg/ℓ を処理することで倍数体が得られる。得られた倍数体は、ブルーベリー栽培種との交配に有望な素材である。

【目 的】

日本の亜熱帯地域に自生する、ブルーベリーに近縁のスノキ属野生種ムニンシャシャンボおよびギーマは、ブルーベリーに耐暑性・耐乾性を導入する育種素材として有望である。これらの野生種は2倍体であり、栽培種である4倍体のハイブッシュ種（以下、HB）との交配は困難である。そこで、コルヒチン処理により野生種の倍数体を作成し、HBとの交配に用いる。本試験では、倍数体の作出に適正なコルヒチン処理濃度を明らかにする。

【方 法】

野生種種子は、ムニンシャシャンボを別個体間で交配して得た種子（以下、MM）および、種間雑種では倍数体の作出が容易であるとの報告から（Perryら，1984；宮下ら，2005），♀ムニンシャシャンボ×♂ギーマの交配組合せで得た種子（以下、MG）を用いた。図1の方法により、2008年1月17日にコルヒチン処理を行った。濃度はMMが0（対照区）、250、500、1000、2000、4000mg/ℓ，MGが0（対照区）、250、500、1000mg/ℓ とした。1区あたり種子35粒の3反復とし、発芽率を調査した。発芽4～5ヵ月後に、実生の倍数性をフローサイトメーター（PA, Partec）により検定した。

【成果の概要】

- 1) MM種子のコルヒチン処理区における発芽率は79～98%であった（表1）。対照区の発芽率は99%であり、処理濃度の高い2000、4000mg/ℓ 区では各79%、89%と、若干低い傾向にあった。MG種子では90～95%であり、対照区の91%と大きな差はみられなかった。
- 2) フローサイトメーターによる倍数性検定の結果、MMでコルヒチン濃度500、2000mg/ℓ 処理区、MGで同500、1000mg/ℓ 処理区から、倍数体（4x）または倍数性キメラ（2x+4x）と推定される実生が得られた（図2 B C E F）。倍加個体率はMMの500mg/ℓ 区で2%、2000mg/ℓ 区で6%、MGの500mg/ℓ 区で2%、1000mg/ℓ 区で12%であった（表2）。種間交配であるMGでは、MMより倍数体（4x）が得られる確率がやや高かった。
- 3) まとめ：スノキ属野生種の種内交雑種子および種間交雑種子に対し、MMでは500および2000mg/ℓ，MGでは500および1000mg/ℓ のコルヒチン処理で倍数体または倍数性キメラを得られる。倍数体（4x）はMMの2000mg/ℓ 区、MGの1000mg/ℓ 区で得られる。MMの2000、4000mg/ℓ 区では発芽率が低い、80%程度の発芽率があり実生を得ることができる。こうしたことから、スノキ属野生種種子からの倍数体作出には、コルヒチン処理濃度1000～2000mg/ℓ が適正である。

果実から種子を採取し、ただちに殺菌処理（1%アンチホルミン10分）
アガロース0.8%シャーレ培地に無菌播種
発芽促進のため、5℃暗黒下で2ヵ月処理
滅菌シャーレ内のろ紙にコルヒチンを含ませる。種子をろ紙上に置き、22℃、24時間照明下で6日間処理
種子を1/2WPM培地に移植。22℃、24時間照明下で発芽・生育促進
発芽実生の展開葉の倍数性検定

図1 スノキ属野生種種子に対するコルヒチン処理の手順

表1 スノキ属野生種種子へのコルヒチン処理が発芽率に及ぼす影響

供試種子の交配組合せ	コルヒチン 処理濃度 (mg/l)	発芽率 (%)
	250	98
	500	96
♀ムニンシャシャンボ	1000	92
×♂ムニンシャシャンボ	2000	79
	4000	89
	対照区	99
♀ムニンシャシャンボ	250	95
×♂ギーマ	500	95
	1000	90
	対照区	91

コルヒチン処理後8週目に調査

表2 スノキ属野生種種子へのコルヒチン処理が実生の倍数性に及ぼす影響

供試種子の交配組合せ	コルヒチン検定 処理濃度 (mg/l)	検定 個体数 (個)	倍数性別個体数 (個)				倍加個 体率 ^a (%)
			x	2x	4x	2x+4x	
	250	57		57			0
	500	50		49		1	2
♀ムニンシャシャンボ	1000	50		50			0
×♂ムニンシャシャンボ	2000	54	1	50	1	2	6
	4000	47		47			0
	対照区	62		62			0
♀ムニンシャシャンボ	250	45		45			0
×♂ギーマ	500	60		59		1	2
	1000	43		38	4	1	12
	対照区	29		29			0

a) 倍加個体 = 4x, 2x+4x個体

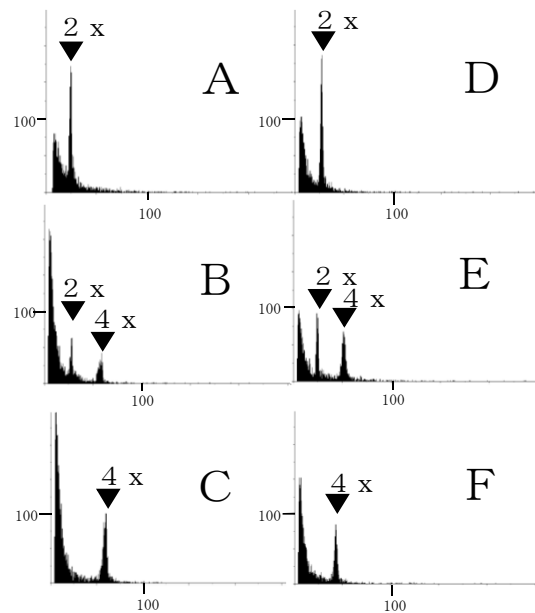


図2 フローサイトメーターによるスノキ属野生種実生の葉の倍数性検定
縦軸は核数、横軸は相対蛍光強度
A: ♀ムニンシャシャンボ
×♂ムニンシャシャンボ (対照区)
B, C: ♀ムニンシャシャンボ
×♂ムニンシャシャンボ
(コルヒチン2000mg/l処理)
D: ♀ムニンシャシャンボ
×♂ギーマ (対照区)
E: ♀ムニンシャシャンボ
×♂ギーマ
(コルヒチン500mg/l処理)
F: ♀ムニンシャシャンボ
×♂ギーマ