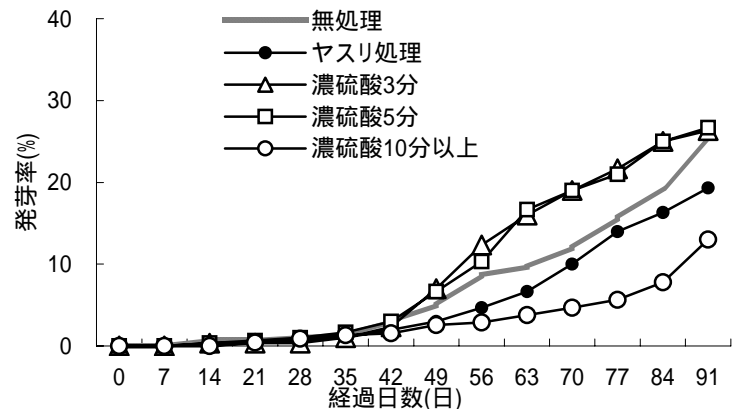


八重山諸島からベトナムに自生する *R. bracteata* (ヤエヤマノイバラ) は亜熱帯に自生する野生バラで、開花期の 6 ~ 9 月の気温が 30 以上であることから耐暑性があると推定される。現代バラ(*R. hybrida*)は耐暑性が低く、夏季の生産性や観賞価値の低下が問題となっていることから、*R. hybrida* と *R. bracteata* を交雑することで *R. hybrida* に耐暑性を付加することを考えた。しかし、*R. hybrida* は 4 倍体であり *R. bracteata* は 2 倍体であるため、交雑種を得る方法として *R. bracteata* の 4 倍体作出を考えた。4 倍体作出法としてコルヒチンなどの発芽種子処理倍數化法が効果的であることが報告されており、倍數化処理に先立って発芽勢・発芽率を向上させるための発芽促進処理を検討した。

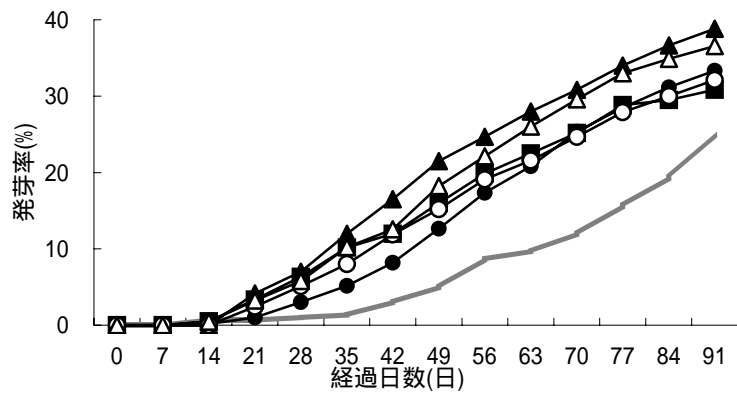
【材料及び方法】 1. **発芽促進処理** *R. bracteata* の種子にヤスリ処理、濃硫酸処理(3, 5, 10, 15, 30min)、セルラーゼ処理(0, 1, 1, 3%で 24, 48h)を行った。各処理とも 100 粒を供試し、実験反復を 3 回行った。発芽数調査は 13 週間行った。2. **催芽種子の倍數化処理** 根長が 1 ~ 5 mm に達した *R. bracteata* の発芽個体を DMSO 10% を含むコルヒチン(0.1mM ~ 10mM)及びオリザリン(0.001mM ~ 0.1mM)溶液に 6, 12, 24 時間浸漬した。反復数は各処理 60 粒とした。処理後、流水で 1 時間水洗し、調整ピート：パーライト：パーミキュライト(2 : 1 : 1v/v/v)の混合培土で育苗した。本葉展開個体の未展開葉を用い、フローサイトメーター(Partec 社 Ploidy Analyser)で倍數体を調査した。

【結果および考察】1. **発芽促進処理** ヤスリ処理は無処理より発芽率が低下する傾向が見られた(第 1 図)。濃硫酸処理においては 3 分、5 分の処理区で無処理区に比べて発芽率が高まったが、処理時間が 10 分以上の区では明らかに発芽率が低下し、長時間の濃硫酸処理によって種子内部がダメージを受けたと考えられた。一方、セルラーゼ処理ではセルラーゼ濃度が高まるに従って発芽率が高まる傾向が見られ、処理時間も長くなるに従って発芽率は高くなった(第 2 図)。したがって、セルラーゼ 3% で 48h 処理することによって発芽率は無処理区の 25% から 39% に高まり、発芽勢も向上させることができた。

2. **催芽種子の倍數化処理** コルヒチン及びオリザリン濃度が高まるにしたがって生存個体率は低下した。オリザリンの生存個体数は著しく低かった。コルヒチン処理では 0.1mM・24h 処理、1mM・12h 処理、1mM・24h 処理、3mM・12h 処理、3mM・24h 処理、10mM・6h 処理において各々 1 個体の 4n が判別され、6h 処理に比べて 12h 処理及び 24h 処理が多い傾向が見られた。また、2n+4n のキメラも 7 個体確認できたが、濃度及び処理時間との関係は認められなかった。オリザリン処理では 0.03mM・6h 処理で 1 個体の 2n+4n が確認されたのみであった。これらの 4n および 2n+4n 個体の小葉は 2n 個体に比べて葉色が濃く、小葉は硬く丸みを帯びていたことから、4n および 2n+4n 個体を外観から判断することが可能であった。



第1図 発芽率に及ぼす物理処理の影響



第2図 発芽率に及ぼすセルラーゼ処理の影響

— 無処理区 ● セルラーゼ 0.1% ■ 1%
 ▲ 3% ○ 24h ▲ 48h

コルヒチンおよびオリザリンによるノイバラ(*Rosa multiflora*)の4倍性個体の作出

横田知樹・陳敏詩・福井博一(岐阜大農学部)

Induction of tetraploid in *Rosa multiflora* by colchicine or olysalin.

Yokota, T., B.S. Tan and H. Fukui

〔目的〕根頭がんしゅ病抵抗性に関する研究の中で PEKcoulgel が極めて高い抵抗性を示し、その抵抗性形質が遺伝することが明らかとなったことから、一般に国内でバラ台木として使用されている根頭がんしゅ病に罹病性のノイバラ(*R. multiflora*)と PEKcoulgel との交雑によって、根頭がんしゅ病抵抗性台木育成の可能性がでてきた。一方、*R. multiflora* は根腐病に対して抵抗性を持つことから、両者の交雑によって得られた個体から両病害に対して複合抵抗性を持つ個体も選抜できる可能性が考えられる。しかし *R. multiflora* は2倍体であり、4倍体の PEKcoulgel との交雑で得られる F1 から後代を得ることが困難となる可能性があり、本研究では *R. multiflora* の4倍体を作成することを目的としてコルヒチンおよびオリザリン処理を行った。

〔材料および方法〕1. **催芽種子処理** *R. multiflora* '松島3号'の種子を播種し、1~2mm 程度発根した個体に DMSO 10% を含むコルヒチン(0.1mM~3mM)とオリザリン(1 μ M~30 μ M)溶液を6~24時間処理する24区を設け、反復数は各区100とした。処理後流水で24時間水洗し、調整ピート：パーライト：パーミキュライト(2:1:1v/v/v)の混合培土で育苗した。本葉10枚以上展開した個体の展開葉を用い、フローサイトメーター(Partec社 Ploidy Analyser)で倍数性を調査するとともに、葉の外部形態および孔辺細胞を観察し、倍数性と形態の特徴との関係を見た。2. **In vitro での腋芽処理** 茎頂培養後、継代維持されている *R. multiflora* '松島3号'を用いた。継代培養8週間後のシュートに DMSO 5%含むコルヒチン(0.01mM~1mM)とオリザリン(0.1 μ M~10 μ M)の0.6%寒天溶液にシュート節部を浸漬した後、MS培地に Sucrose 3%、Gelrite 0.2%、GA₃ 1 μ M、BAP 0.1 μ M を添加した培地に置床し、置床後1週間目と3週間目に移植を行い、4週間目にフローサイトメーターで倍数性を調査した。

〔結果および考察〕1. **催芽種子処理** コルヒチン処理では、3mM・24時間処理、0.3mM・6時間処理、0.3mM・24時間処理で各々1個体と3mM・6時間処理で3個体の計6個体の2n+4nのキメラが得られ、1mM・24時間処理で2個体の4n個体が得られた。オリザリン処理ではキメラ、4nともに得られなかった。これらのキメラおよび4n個体と2n個体における葉の形態を比較した結果、葉長、葉幅、葉柄長、孔辺細胞の葉緑体数では差が認められなかったが、葉長葉幅比、葉の重心、鋸歯の形態、気孔長では差が認められ、2n個体の小葉が長楕円形であるのに対してキメラや4n個体では丸みを帯びた心臓形を呈し、鋸歯が発達して外に広がっていた。また、4n個体では明らかに気孔長が長かったのに対してキメラでは2n個体と差が認められず、キメラは表皮層が2nで皮層が4nの表層キメラであった。催芽種子処理したものは、葉の形態を用いてキメラあるいは4倍体を判別することが出来た。

2. **In vitro での腋芽処理** 4n個体は確認できなかったが、2n+4nのキメラ個体がコルヒチン1mMで3個体、0.3mM、0.1mM、0.01mMでそれぞれ1個体ずつ確認された。さらに、0.3mMでは2n+4n+8nを示す個体も確認された。一方、オリザリン処理では10 μ M、3 μ M、0.3 μ Mで各2個体、0.3 μ Mで1個体の2n+4nのキメラが確認された。

以上のことから、催芽種子処理ではコルヒチンで容易に4倍体を作成でき、*In vitro*での腋芽処理も有効であった。