単胚性カンキツにおけるコルヒチン処理による四倍体の作出とその種子親としての利用による三倍体の獲得

金好純子^{1a*}・古田貴音^{1b}・蔵尾公紀^{1c}・山口 聡²

¹ 広島県立農業技術センター 739-0151 広島県東広島市八本松町原 6869

² 愛媛大学農学部 790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7

Induced Tetraploid by Colchicine Treatment in some Monoembryonic *Citrus* Cultivars and Triploidy Production by Using the Tetraploid as Seed Parents

Junko Kaneyoshi^{1a*}, Takane Furuta^{1b}, Masaki Kurao^{1c} and Satoshi Yamaguchi²

¹Hiroshima Prefectural Agricultural Research Center, 6869, Hachihonmatsu, Higashi-Hiroshima 739-0151

²Faculty of Agriculture, Ehime University, 3-5-7, Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566

Abstract

We carried out colchicine treatment of lateral buds and their grafting in some monoembryonic citrus cultivars to induce tetraploid plants. Among the grafted plants, 19 eutetraploid plants were obtained from 8 cultivars. The successful cultivars were 'Ootachibana', 'Suisho-buntan', 'Nouma-benihassaku', 'Kiyomi', 'Aki-tangor', 'Nishinokaori', 'Ariake' and 'Hiroshimakaken No. 11'. Then efficiency of triploid production was very high (7.68 triploid/fruit) when the tetraploid 'Kiyomi' were used as a seed parent. The efficiency was higher than those for crossing trials of diploid 'Kiyomi' × diploid 'Ootachibana' (0.05 triploid/a fruit) and diploid 'Kiyomi' × the tetraploid 'Ootachibana' (0.16 triploids/a fruit). In addition, when some other monoembryonic tetraploids were crossed with diploid cultivars, they also bore triploid plants efficiently as seed parents, such as 0.47–0.91 in the tetraploid 'Ariake', 2.13–2.86 in the tetraploid 'Hyuganatsu', 4.25–6.00 in tetraploid 'Clementine', 6.79–11.33 in tetraploid 'Kiyomi'. Although the sizes of the hybrid seeds were smaller than the averaged diploid seeds, but the seeds matured fully and germinated well (79.1%) *in vitro*. This study showed that 99.8% of the raised hybrid plants were triploid (487 plants).

Key Words : breeding, chromosome doubling, grafting, polyploidy, seedless

キーワード : 倍数性, 育種, 無核, 染色体倍数化, 接ぎ木

緒 言

カンキツ類の育種において、無核性は重要な育種目標の一つであり、その育成手法の一つとして三倍体が活用されている。三倍体品種としては、これまでにアメリカにおいて 'Oroblanco' および 'Melogold' が育成され (Soost・Cameron, 1980, 1985), 我が国においてもキンカンの 'ぶちまる' (吉田ら, 2003) およびスダチの '徳島 3X1 号' (徳永ら, 2005) が育成されており、三倍体の有用性が実証されている。

三倍体の作出は、カンキツ類では二倍体間の交雑により生じる小粒種子から得る方法 (Esen・Soost, 1971; Lapin,

1937; 生山・奥代, 1983; 揚ら, 2000) と、二倍体 × 四倍体により生じる完全種子 (Frost, 1948; Longley, 1926; 立川ら, 1961; 八幡ら, 2003) あるいは不完全種子 (金好ら, 1997; Oiyama ら, 1991; Starrantino・Recupero, 1981; 八幡ら, 2003) から得る方法、四倍体 × 二倍体により生じる完全種子から得る方法 (Cameron・Soost, 1969; Esen ら, 1978; Frost, 1948; 立川ら, 1961; 八幡ら, 2003) が報告されている。このうち、四倍体 × 二倍体では、逆方向の組み合わせに比べて種子の形成が良好であり、完全種子が得られやすいことが知られており (Cameron・Soost, 1969; Esen ら, 1978; 生山, 1992; 八幡ら, 2003), 三倍体の効率的な作出が期待できる。しかし、この組み合わせによるこれまでの報告は、多胚性四倍体 × 二倍体であるため、種子中には珠心胚実生と雑種実生が混在する。これに対して、単胚性四倍体を種子親に用いれば、二倍体との交配で得られる種子は雑種実生のみであり、効率よく三倍体 that 得られるものと予想される。これまでにコルヒチン処理により単胚性同質四倍体は作出されているが (生山, 1992), その事例は非常に少なく、交配親と

2006 年 6 月 15 日 受付. 2007 年 7 月 12 日 受理.

* Corresponding author. E-mail: j-kaneyoshi84310@pref.hiroshima.lg.jp

^a現在: 広島県立総合技術研究所農業技術センター果樹研究部 739-2402 広島県東広島市安芸津町三津 2835

^b現在: 広島県立総合技術研究所農業技術センター栽培技術研究部

^c現在: 広島県立総合技術研究所食品工業技術センター

して用いた報告はない。

そこで、単胚性でこれまでに四倍体の作出事例がない品種・系統について、コルヒチン処理した腋芽を接ぎ木する方法により、同質四倍体の作出を試みた。さらに、得られた単胚性同質四倍体を種子親として二倍体を交配し、三倍体の獲得を行った。

材料および方法

1. コルヒチン処理した腋芽の接ぎ木による単胚性四倍体の作出

供試材料は、カンキツ単胚性 11 品種・系統とし、ブンタン類の‘安政柑’ (*Citrus maxima* Merr.), ‘大橋’ (*Citrus otachibana* hort. ex Yu. Tanaka), ‘水晶ブンタン’ (‘晩王柑’ (*Citrus* spp.) × ‘土佐ブンタン’ (*Citrus* spp.) とされている), ‘ブンタン類との雑種とされている‘ハッサク’ (*Citrus hassaku* hort. ex Tanaka) の枝変わりである‘農間紅ハッサク’, タンゴールあるいはそれとの雑種である‘清見’ (‘宮川早生’ (*Citrus unshiu* Marcow.) × ‘トロビタオレンジ’ (*Citrus sinensis* Osbeck)), ‘安芸タンゴール’ (‘興津早生’ (*Citrus unshiu* Marcow.) × ‘トロビタオレンジ’), ‘西之香’ (‘清見’ × ‘トロビタオレンジ’), ‘ありあけ’ (‘清家ネーブル’ (*Citrus sinensis* Osbeck var. *brasiliensis* Tanaka) × ‘クレメンティン’ (*Citrus clementina* hort. ex Tanaka)) ‘広島果研 11 号’ (‘清見’ × ‘サザンレッド’ (‘カラ’ × ‘ボンカン’)), ‘広島果研 12 号’ (‘清見’ × ‘サザンレッド’) および ‘広島果研 13 号’ (‘安芸タンゴール’ × ‘サザンレッド’) を用いた。コルヒチン処理は生山 (1992) の方法を一部改変して 1994 ~ 1999 年に行った。すなわち、新梢伸長が停止して硬化した当年の春枝を各年の 6 ~ 8 月に採取して、腋芽を 1 ~ 2 mm に切り取り、25°C の恒温器内で 0.1% のコルヒチン溶液に 2 時間浸漬して、染色体倍数化処理を行った。コルヒチン処理を行った腋芽は、パーミキュライトに播種して暗所で 2 ~ 3 週間育苗したカラタチに接ぎ木した。

コルヒチン処理を行い、接ぎ木した腋芽が伸長した個体は、倍数体の選抜に供試した。調査は接ぎ木 2 ~ 3 ヶ月後に行い、形態等により葉が厚い、葉が丸みを帯びている、あるいは葉色が濃い等染色体倍数化の可能性のある個体を肉眼で選抜した。

さらに、選抜個体はガラス室で 1 ~ 5 年間育苗した後、倍数性およびキメラの判定を行った。判定の材料には 10 月 ~ 2 月に当年枝の春枝中位の硬化した葉を用いた。葉は葉脈を含まない周縁部約 1 cm² を切り取り、核の単離溶液 (Partec 社, Cystain UV Precise P) 中で細かく刻み、核を遊離させた。これを 30 μm メッシュでろ過し、蛍光色素 DAPI (4',6-diamino-2-phenylindole) 溶液を加えて核を染色した。染色した核はフローサイトメトリー (Partec 社, Ploidy Analyzer PA) により蛍光強度を測定し、DNA 含量の差異を解析することにより倍数性およびキメラを判定した。

2. 単胚性四倍体を種子親とした二倍体との交配による三倍体の作出効率

コルヒチン処理で作出した四倍体‘清見’と四倍体‘大橋’および二倍体の‘清見’と‘大橋’を供試して、3 組み合わせの交配を行った。四倍体‘清見’ × ‘大橋’の交配は、広島県立農業技術センター生物工学研究所 (広島県東広島市八本松町原) のガラス室において 2000 年 4 月に行い、‘清見’ × ‘大橋’および‘清見’ × 四倍体‘大橋’の交配は、広島県立農業技術センター柑橘研究室 (広島県三原市木原町) の露地圃場において 2000 年 5 月に行った。なお、四倍体‘大橋’の花粉は、アセトカーミン染色での調査により、二倍体‘大橋’と同等の花粉稔性を有していることを確認して用いた。

また、単胚性の四倍体 4 品種、‘ありあけ’、‘日向夏’ (*Citrus tamurana* hort. ex Tanaka), ‘クレメンティン’および‘清見’を種子親として、二倍体花粉親と第 3 表の組み合わせの交配を 2001 年 4 月に行った。なお、四倍体‘清見’ × ‘大橋’のみは 2000 年 4 月に交配した。交配場所は広島県立農業技術センター生物工学研究所のガラス室とした。交配親のうち四倍体‘日向夏’と四倍体‘クレメンティン’は、農林水産省果樹試験場安芸津支場 (現独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所ブドウ・カキ研究拠点) より分譲を受けた。

いずれの交配組み合わせにおいても、種子は交配 5 ヶ月後の果実から採取して、完全種子は重量比で大と小に分け、植物成長調節物質無添加の 1/2 濃度の MS 培地 (ショ糖 3 %, ゲルライト 0.2 %) (Murashige・Skoog, 1962) で培養した。なお、完全種子の大小の区分は、二倍体 × 二倍体の交配で得られる完全種子の平均値を基準として、1/2 以下を小、それ以上を大とした。また、不完全種子は植物成長調節物質無添加の 1/2 濃度の MS 培地 (ショ糖 3 %, ゲルライト 1 %) で培養した。不完全種子のうち、発芽発根した個体は、同組成のゲルライト 0.2 % の培地に移植して生育を促した。いずれの種子も滅菌は、0.5 % アンチホルミンで 15 分間行い、滅菌水で 4 回洗った後に外皮と内皮を剥皮して培地に置床し、25°C, 16 h 日長, 30 μmol・m⁻²・s⁻¹ の条件下で培養した。

染色体数の調査は、培地上で約 1 cm 発根したときの根端を採取し、生山 (1981) の方法により行った。調査は 1 個体につき 10 ~ 20 核板を検鏡した。

結 果

1. コルヒチン処理した腋芽の接ぎ木による単胚性四倍体の作出

コルヒチン処理を行い接ぎ木した腋芽の伸長率は、品種・系統により異なり 5.0 ~ 40.9 % であった (第 1 表)。そのうちブンタン類における腋芽の伸長率は 5.0 ~ 9.2 % であり、特に低い傾向にあった。また、腋芽が伸長した個体のうち、11 品種・系統から 108 個体を葉の形態等により四倍体候補

第1表 コルヒチン処理^zした腋芽の接ぎ木による単胚性四倍体の作出

品種・系統 ^y	供試えき芽数	伸長えき芽数	伸長えき芽率 (%)	形態 ^x での 選抜個体数	倍数性別選抜個体数 ^w		
					二倍体	倍数性キメラ	四倍体
安政柑	412	38	9.2	1	0	1 (0.2)	0 (0.0)
大橋	823	54	6.6	3	1	0 (0.0)	2 (0.2)
水晶ブント	258	13	5.0	12	9	1 (0.4)	2 (0.8)
農間紅ハッサク	658	62	9.4	3	0	1 (0.2)	2 (0.3)
清見	227	52	22.9	2	0	0 (0.0)	2 (0.9)
安芸タンゴール	430	133	30.9	10	3	5 (1.2)	2 (0.5)
西之香	695	284	40.9	13	11	1 (0.1)	1 (0.1)
ありあけ	279	59	21.1	9	6	0 (0.0)	3 (1.1)
広島果研 11 号	627	205	32.7	44	24	15 (2.4)	5 (0.8)
広島果研 12 号	187	41	21.9	3	1	2 (1.1)	0 (0.0)
広島果研 13 号	270	79	29.3	8	7	1 (0.4)	0 (0.0)
合計 ^v	4866	1020	21.0	108	62	27 (0.6)	19 (0.4)

^z コルヒチン処理条件は濃度 0.1%, 温度 25°C, 時間 2 h, 材料は伸長が停止して硬化した 6 ~ 8 月の春枝

^y ‘安芸タンゴール’; ‘興津早生’ × ‘トロビタオレンジ’, ‘広島果研 11 号’; ‘清見’ × ‘サザンレッド’
‘広島果研 12 号’; ‘清見’ × ‘サザンレッド’, ‘広島果研 13 号’; ‘安芸タンゴール’ × ‘サザンレッド’

^x 形態等により葉が肉厚等の染色体倍数化の可能性がある個体を選抜

^w 形態等で肉眼により選抜した個体の葉を供試し, フローサイトメトリーにより倍数性を調査

なお, 倍数性キメラとは二倍性細胞と四倍性細胞が混在するキメラ

カッコ内は倍数性キメラあるいは四倍体の作出率 (作出数/供試えき芽数 × 100) で単位は%

^v 伸長えき芽率, 倍数性キメラ作出率および四倍体作出率は 11 品種の平均値

第1図 コルヒチン処理により得られた個体のフローサイトメトリーによる倍数性解析

A: 二倍体, B: 二倍性細胞と四倍性細胞のキメラ, C: 四倍体

として選抜した. この選抜個体について, フローサイトメトリーで倍数性調査を行ったところ, 62 個体は染色体数の倍数化が認められず二倍体 (第1図 A) であった. 染色体数が完全に倍数化した四倍体 (第1図 C) は 8 品種・系統から 19 個体得られた. 二倍体細胞と四倍体細胞が混在するキメラ (以下倍数性キメラとする) (第1図 B) は, 8 品種・系統から 27 個体得られた. 四倍体の獲得率は, 供試材料の種類等による差異が明らかではなかった. 倍数性キメラの獲得率は, ‘広島果研 11 号’ が高い傾向にあった.

2. 単胚性四倍体を種子親とした二倍体との交配による三倍体の作出効率

‘清見’ と ‘大橋’ の交配において, 交配親の倍数性の違いによる三倍体獲得率を比較調査した (第2表). 二倍体 × 二倍体の組み合わせでは, 得られた種子のうち 93.6% が大粒の完全種子で, 倍数性調査を行った種子はすべて二倍体であり, 三倍体は小粒の完全種子から少数しか得られなかった. また, 二倍体 × 四倍体の組み合わせでは, 得られ

た種子のうち 98.3% が不完全種子であり, 発芽した 3 個の不完全種子はすべて三倍体であったが, その発芽率は 2.6% と極めて低く, 少数の三倍体しか得られなかった. このように, 交配の結果得られた一果実当たりの三倍体獲得数は, 二倍体 × 二倍体が 0.05 と最も少なく, 二倍体 × 四倍体では 0.16 であった. それに対して四倍体 × 二倍体では, 得られた種子のうち 89.6% が小粒の完全種子であった. この種子は培養すると 76.4% が植物体に再生し, その植物体はすべて三倍体であった. そのため, 四倍体 × 二倍体では, 一果実当たりの三倍体獲得数は 7.68 と極めて多かった.

コルヒチン処理で作出した単胚性四倍体に二倍体を交配した 10 組み合わせでは, 9 組み合わせにおいて不完全種子よりも完全種子の比率が高く, その完全種子の重量は, ほとんどが通常の種子の 1/2 以下であった (第3表). この小粒の完全種子は, MS 培地で培養すると 79.1% が植物体に再生した. その植物体のうち四倍体 ‘ありあけ’ × ‘大橋’ から生じた 1 個体は五倍体であった. しかし, それ以外の

第2表 ‘清見’ と ‘大橘’ の交配における交配親の倍数性の違いによる三倍体作出効率の差異

交配親		調査 果実数	種子数 ^z			調査個体数 ^x			倍数性別個体数 ^w					一果実当たり 三倍体獲得数		
種子親	花粉親		完全 ^y			不完全	完全 ^y			不完全	完全				不完全	
			大	小	不完全		大	小	不完全		大		小			
											2x	3x	2x			3x
四倍体清見	大橘	22	5 (2.1)	216 (89.6)	20 (8.3)	4 (80.0)	165 (76.4)	0 (0)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	165 (100)	— —	7.68		
清見	大橘	61	1473 (93.6)	34 (2.2)	67 (4.3)	16 (1.1)	29 (85.3)	0 (0)	16 (100)	0 (0)	26 (89.7)	3 (10.3)	— —	0.05		
清見	四倍体大橘	31	2 (1.7)	0 (0)	114 (98.3)	2 (100)	— —	3 (2.6)	0 (0)	2 (100)	— —	— —	3 (100)	0.16		

^z調査した果実に含まれていた種子の総数であり、カッコ内はその割合を示す^y完全：完全種子を重量で区分し、二倍体 × 二倍体の交配で得られる完全種子の平均値を基準として、1/2 以下を小、それ以上を大とした^x調査した果実に含まれていた種子すべてを培養し、発根して倍数性が判定できた個体数であり、カッコ内はその割合を示す
なお、‘清見’ × ‘大橘’ の完全種子の大は、1473 粒から無作為に 16 粒を選んで培養して調査した^w倍数性は染色体数調査により判定した倍数性個体数であり、カッコ内はその割合を示す

第3表 単胚性四倍体を種子親とした二倍体との交配による三倍体の作出効率

交配親		調査 果実数	種子数 ^z			調査個体数 ^x			倍数性別個体数 ^w				一果実当たり 三倍体獲得数		
種子親	花粉親		完全 ^y			不完全	完全 ^y			不完全	完全			不完全	
			大	小	大		小	大	小		大	小			
															3x
四倍体ありあけ	水晶ブント 大橘	19	2	10	36	1	8	0	1	8	0	—	0.47		
		22	6	22	18	5	16	0	5	15	1	—	0.91		
四倍体日向夏	水晶ブント 大橘	8	0	19	7	—	16	1	—	16	0	1	2.13		
		7	1	19	9	1	19	0	1	19	0	—	2.86		
四倍体クレメンティン	水晶ブント 安政柑	1	0	8	0	—	6	—	—	6	0	—	6.00		
		4	0	26	10	—	17	0	—	17	0	—	4.25		
四倍体清見	水晶ブント	14	0	109	28	—	91	4	—	91	0	4	6.79		
	安政柑	6	2	74	9	2	65	1	2	65	0	1	11.33		
	サザンイエロー	11	3	114	37	2	85	1	2	85	0	1	8.00		
	大橘	22	5	216	20	4	165	0	4	165	0	—	7.68		
合計 (%)		114	19 2.3	617 76.2	174 21.5	15 7.9	488 79.1	7 4.0	15 100	487 99.8	1 0.02	7 100			

^z調査した果実に含まれていた種子の総数^y完全：完全種子を重量で区分し、二倍体 × 二倍体の交配で得られる完全種子の平均値を基準として、1/2 以下を小、それ以上を大とした^x調査した果実に含まれていた種子すべてを培養し、発根して倍数性が判定できた個体数^w倍数性は染色体数調査により判定

小粒の完全種子から生じた 487 個体はすべて三倍体であった。また、10 組み合わせの交配では、大粒の完全種子から生じた 15 個体および不完全種子から生じた 7 個体はすべて三倍体であった。四倍体 × 二倍体の交配による一果実当たりの三倍体獲得数は、四倍体 ‘ありあけ’ では 0.47 ~ 0.91、四倍体 ‘日向夏’ では 2.13 ~ 2.86、四倍体 ‘クレメンティン’ では 4.25 ~ 6.00、四倍体 ‘清見’ では 6.79 ~ 11.33 であった。

考 察

カンキツ類の単胚性同質四倍体については、これまでに単胚性同質四倍体枝変わりで発生した 1 品種の報告（下郡ら、1987）と、コルヒチン処理した腋芽の接ぎ木により ‘ハッサク’、‘日向夏’、‘宮内イヨカン’、‘クレメンティン’ および ‘平紀州’ の 5 品種で 10 個体の四倍体を得られた報告（生山、1992）があるのみである。そのため、三倍体を利用した無核性品種の育成を進めるには、さらに多くの単

胚性四倍体育種素材の作出が重要な課題である。本試験においては、コルヒチン処理した腋芽の接ぎ木により 11 品種の染色体倍数化を試み、‘大橋’、‘水晶ブント’、‘農間紅ハッサク’、‘清見’、‘安芸タンゴール’、‘西之香’、‘ありあけ’ および ‘広島果研 11 号’ の 8 品種・系統において、19 個体の完全な四倍体が作出でき、育種素材の幅を広げることができた。これらの単胚性四倍体は、ブント類の無核化の育種素材として、あるいは無核化に重要な形質である単為結果性を有する育種素材として、三倍体品種の育成に有用である。

カンキツにおいては、コルヒチン処理した腋芽を接ぎ木する四倍体作出法で、完全な四倍体が得られており、キメラの出現は報告されていない（生山，1992）。一方、Barret（1974）は、単胚性カンキツ 11 品種・系統の鉢に植えられている腋芽にコルヒチン処理を行ったが、キメラのみが得られ、四倍体の作出までには至っていない。本試験ではコルヒチン処理した腋芽の接ぎ木による四倍体作出を試みたところ、19 個体の四倍体と 27 個体の倍数性キメラが得られた。Sanford（1983）は、果樹類での倍数体植物作出について、コルヒチン処理を行う組織が大きいほどキメラになりやすいことを指摘している。本報告では、手法の平易化のため生山（1992）の方法を変更して、コルヒチン処理を行う腋芽を大きくしており、このことがキメラの出現率が高かった一因であると考えられる。このキメラと四倍体の識別は、フローサイトメトリーで葉組織の倍数性を調査することにより、容易に行うことができたことから、キメラの出現は四倍体作出の大きな支障とはならないと考える。

二倍体と四倍体の正逆交配については、ビワで結実数、種子数および三倍体出現率に大きな差異はないことが報告されている（八幡ら，2005）。ブドウでは二倍体を種子親にして四倍体を交配すると、得られる種子の胚形成率および発芽率は、四倍体を種子親とした際に比べて著しく劣ることが報告されている（山下ら，1993）。カンキツでは多胚性四倍体を種子親として二倍体を交配した場合、逆方向の組み合わせに比べて種子形成が良好で、完全種子が得られやすく、また、その完全種子は二倍体同士の交配に比べ小さくなることが報告されている（Esen ら，1978; 生山，1992; 八幡ら，2003）。本試験では‘清見’と‘大橋’の交配組み合わせにおいて、二倍体同士の交配および二倍体と四倍体の正逆交配における三倍体獲得効率の違いを調査した。カンキツの二倍体 × 二倍体では、交雑果実中の種子は大半が完全種子となるが、そのうちの小粒種子で三倍体得られることが報告されている（Esen・Soost, 1971; Lapin, 1937; 生山・奥代，1983; 揚ら，2000）。本試験でも‘清見’×‘大橋’で小粒種子が得られたが極少数であり、三倍体獲得率は低かった。また、カンキツの二倍体 × 四倍体では不完全種子が大半であることが知られている（金好ら，1997; Oiyama ら，1991; Starrantino・Recupero, 1981; 八幡ら，2003）。これらのカンキツにおける報告およびブドウでの報告（山下

ら，1993）と同様に、本試験においても‘清見’×四倍体‘大橋’では、不完全種子の割合が 98.3% と高く、その植物体再生率が非常に低いため、三倍体獲得率は低かった。それに対して、カンキツの多胚性四倍体 × 二倍体で得られる完全種子の割合は、Esen ら（1978）は 60 ~ 80%，生山（1992）は 91 ~ 96% であったと報告している。本試験でも四倍体‘清見’×‘大橋’では、完全種子の割合は 91.7%（大：2.1%，小：89.6%）であり、‘清見’×四倍体‘大橋’の 1.7% に比べて非常に高かった。また、四倍体‘清見’×‘大橋’で得られた完全種子は、培養により効率よく植物体に再生して、それらはすべて三倍体であった。このように単胚性四倍体‘清見’を種子親として二倍体を交配する三倍体作出法は、完全種子の形成率の高さ、その植物体再生率の高さ、および発芽した植物体の三倍体出現率の高さなどからみて、二倍体 × 二倍体および四倍体 × 二倍体に比べて、飛躍的に三倍体獲得率が向上した。

コルヒチン処理で作出した 4 品種の単胚性四倍体を種子親として、10 組み合わせで二倍体との交配を行った試験では、一果実当たりの三倍体獲得数は種子親品種により異なっていた。しかし、得られた植物体における三倍体出現率はいずれの種子親品種でも高かった。また、単胚性四倍体を種子親とする本法では、得られた実生はすべて雑種であり、交雑実生と珠心胚実生を識別する必要がなかった。このように、単胚性四倍体 4 品種を種子親とした二倍体との 10 組み合わせの交配においても、三倍体交雑実生が多数得られ、三倍体獲得における単胚性四倍体の種子親としての有用性を示唆することができた。

摘 要

カンキツにおいて三倍体育成の交配親となる単胚性四倍体を作成するため、コルヒチン処理した腋芽を接ぎ木する方法により染色体倍数化を行った。その結果、8 品種・系統で 19 個体の四倍体を得た。四倍体得られた品種・系統は、‘大橋’、‘水晶ブント’、‘農間紅ハッサク’、‘清見’、‘安芸タンゴール’、‘西之香’、‘ありあけ’ および ‘広島果研 11 号’ であった。

作出した四倍体‘清見’を種子親として二倍体‘大橋’を交配すると、一果実当たりの三倍体獲得数は 7.68 であり、二倍体‘清見’×二倍体‘大橋’の 0.05、二倍体‘清見’×四倍体‘大橋’の 0.16 に比べて、極めて効率よく三倍体得られた。

また、他の単胚性四倍体を種子親とした二倍体との 10 組み合わせの交配においても、三倍体が効率的に得られ、一果実当たりの三倍体獲得数は、四倍体‘ありあけ’では 0.47 ~ 0.91、四倍体‘日向夏’では 2.13 ~ 2.86、四倍体‘クレメンティン’では 4.25 ~ 6.00、四倍体‘清見’では 6.79 ~ 11.33 であった。この 10 組み合わせの交配では、主に小粒の完全種子を形成したが、培養すると 79.1% が植物体に再生して、そのうち 99.8%（487 個体）が三倍体であった。

謝 辞 本研究を行うに当たり、元果樹試験場安芸津支場放生山 巖博士から、四倍体の作出法、染色体調査法等のカンキツの倍数性育種について、懇切なご教授と貴重なご助言をいただいた。ここに記して心から深謝申し上げる。

引用文献

- Barrett, H. C. 1974. Colchicine-induced polyploidy in citrus. *Bot. Gaz.* 135: 29–41.
- Cameron, J. W. and R. K. Soost. 1969. Characters of new population of citrus polyploids and the relation between tetraploidy in the pollen parent and hybrid tetraploid progeny. *Proc. 1st. Int. Citrus Symp.* 1: 199–205.
- Esen, A. and R. K. Soost. 1971. Unexpected triploids in citrus: their origin, identification and possible use. *J. Hered.* 62: 329–333.
- Esen, A., R. K. Soost and G. Geraci. 1978. Seed set, size and development after $4x \times 2x$ crosses in citrus. *Euphytica* 27: 284–294.
- Frost, H. B. 1948. Genetics and breeding. p. 817–885. H. J. Webber and L. D. Bachelor (eds.). *The Citrus Industry*, vol. I. University of California Press, Berkley and Los Angeles.
- 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: 9–14.
- Lapin, W. K. 1937. Investigations of polyploidy in citrus. *U. S. S. R. All-Union Sci. Res. Int. Humid Subtropics Works.* 1: 1–68.
- Longley, A. E. 1926. Triploid citrus. *Washington Acad. Sci.* 16: 543–545.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473–497.
- 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.* D3: 1–7.
- 生山 巖. 1992. カンキツ類の倍数性育種に関する研究—主として四倍性育種素材の作出について—. *果樹試報. 特報* 3: 20–26, 41–52.
- 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. *Hort-Science* 26: 1082.
- 生山 巖・奥代直巳. 1983. カンキツ類の倍数性育種に関する研究 III $2x$ スイートオレンジ $\times 2x$ の組合せにおける 3 倍体の出現について. *果樹試報.* D5: 1–8.
- Sanford, J. C. 1983. Ploidy manipulations. p. 100–123. In J. N. Moore and J. Janick, (eds.). *Methods in fruit breeding*. Purdue University Press, Indiana.
- 下郡嘉勝・無田上重治・山本泰嗣. 1987. 少核系ヒュウガナツの特性について. *園学要旨.* 昭 62 秋: 10–11.
- Soost, R. K. and J. W. Cameron. 1980. ‘Oroblanco’, a triploid pommelo-grapefruit hybrid. *HortScience* 15: 667–669.
- Soost, R. K. and J. W. Cameron. 1985. ‘Melogold’, a triploid pommelo-grapefruit hybrid. *HortScience* 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 節生. 1961. 柑橘の品種改良に関する研究 (I) 3 倍体柑橘の育成. *静岡柑試報.* 4: 33–46.
- 徳永忠士・新居美香・津村哲宏・山尾正美. 2005. スダチにおける四倍体と二倍体との交雑による三倍体雑種の作出および無核品種 ‘徳島 3X1 号’ の育成. *園学研.* 4: 11–15.
- 八幡昌紀・岡 信孝・國武久登・山口清二・小松春喜. 2003. ‘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. *園学研.* 2: 247–252.
- 八幡茂木・佐藤三郎・小原 均・松井弘之. 2005. ビワの倍数性による形態および結実特性の差異と二倍体と四倍体の交雑による三倍体の獲得. *園学研.* 4: 379–384.
- 山下裕之・堀内昭作・平 知明. 1993. ブドウの 2 倍体と 4 倍体の正逆交雑から得られた 3 倍体の種子形成とその発育. *園学雑.* 62: 249–255.
- 吉田俊雄・根角博久・吉岡照高・家城洋之・伊藤祐司・中野睦子・上野 勇・山田彬雄・村瀬昭治・瀧下文孝. 2003. キンカン新品種 ‘ぶちまる’. *果樹研報.* 2: 9–16.
- 揚 暁伶・北島 宣・別府まゆみ・長谷川耕二郎. 2000. ‘土佐文旦’ と ‘水晶文旦’ との交雑実生における染色体数の変異. *園学雑.* 69: 308–314.