

# 倍数性アスパラガスの育成に関する研究

## 第1報 コルヒチン処理による四倍体の育成\*

沖森 當・寛 三男\*\*・長谷川繁樹・谷口義彦

### 要 約

沖森 當・寛 三男・長谷川繁樹・谷口義彦 (1984) : 倍数性アスパラガスの育成に関する研究。第1報 コルヒチン処理による四倍体の育成。広島農試報告48 : 75~82。

アスパラガスの雌雄性に起因する収量差、結実種子落下による雑草化の問題を解消するために、三倍体アスパラガスの育成を目的として1976~1984年にコルヒチン処理によって四倍体植物を作出し、その特性を検討した。

四倍体は、コルヒチン濃度0.25~1.00%水溶液に発芽初期の種子を24時間浸漬処理することにより1~5%発現した。また、この処理で八倍体植物を1個体得た。

四倍体植物は、二倍体に比べて擬葉が長く着生密度が粗である。雌・雄花とも大きい。嫩茎の発生本数が多く太いなどの特長を有していた。また、花粉の形に異常なものも多く、雌花の稔性は著しく低かった。

瞭な区別性を有し、とくに収量性が優れていることから実用化が可能であると判断したので報告する。

## I 緒 言

アスパラガス (*Asparagus officinalis* L.) は染色体が  $2n=20$  の基本的に雌雄異株の植物で、通常の有性繁殖では雌株と雄株は1:1の割合で出現する<sup>9,11</sup>。栽培上は雌雄性の違いにより嫩茎の生産力に差異のあることから、雌株と雄株の性状比較 (収量、茎の太さ、茎数等) が行われ、雄株の方が生産性の高いことが報告されている<sup>2,5,11</sup>。性の識別は花器の形態によるが、育苗中において1年生苗での判定は困難である。このため、雌雄株混在のまま栽培するのが通常である。この問題解決のため雄性系統の育種並びに生産力調査<sup>3,4,12</sup>も行われつつある。筆者等は、四倍体を利用した三倍体アスパラガスを作成して雌雄性の問題解決を図ろうとし、1976年にコルヒチン処理法による四倍体アスパラガスの育成を行い、1984年まで諸特性について検討した。

コルヒチン処理による四倍体アスパラガスの育成は Braak ら<sup>11</sup>により報告されているが、実用化の点については明らかでない。しかし、作出した四倍体アスパラガスはいくつかの特性において二倍体の原品種に比べて明

## II 試験材料および方法

品種は市販のメリーワシントン500を用い、1976年にコルヒチン処理を行った。処理法は数回の予備実験の結果、種子浸漬法<sup>7,8</sup>が適当と認めたのでこの方法によった。すなわち、あらかじめ種子消毒を行った後28~30℃の恒温器内で催芽し、幼芽がわずかに白く見えた時期に濾紙 (東洋濾紙No.2) 2枚を敷いた9cmのシャーレ内に各100粒置床したのち、第1表および第2表に示す濃度のコルヒチン水溶液を入れて処理を行い、所定の時間経過後水洗した。その後ただちに外観から肥厚芽生と正常発芽のものに区別し、肥厚芽生はガラス室内で育苗した。その後、10cm前後に伸びたものを15cmのポリ鉢に鉢上げて育苗した。処理後1年目の1977年に染色体数を調査<sup>10</sup>して倍数性を判定した。

染色体の観察にあたっては根端細胞を日中に採取し、直ちに15~18℃の0.002モルの8-オキシキノリン水溶液に3~4時間浸漬し固定前処理を行った。その後、15℃の水で約10分間水洗し、10~15℃の45%酢酸で10分間浸漬固定したものを、60℃の1規定塩酸と45%酢酸との混

\* 本研究の一部は園芸学会中四国支部会において発表

\*\* 広島農業短期大学

第1表 コルヒチン処理 (試験1)

コルヒチン濃度(%)	時間(h)	温度(℃)	処理数
0.2	2	7 25	100
"	3	" "	"
"	6	" "	"
0.1	2	7 25	100
"	3	" "	"
"	6	" "	"
0.05	2	7 25	100
"	3	" "	"
"	6	" "	"

〔注〕種子は消毒後12時間浸漬後に処理した。

第2表 コルヒチン処理 (試験2)

コルヒチン濃度(%)	処理時間(h)	処理温度(℃)	処理数
1.0	12	25	100
"	24	"	"
"	36	"	"
0.5	12	25	100
"	24	"	"
"	36	"	"
0.25	12	25	100
"	24	"	"
"	36	"	"

〔注〕催芽種子を処理した。

第3表 コルヒチン処理と四倍体発現

コルヒチン濃度(%)	処理時間(h)	処理種子数	正常芽生	肥厚芽生	四倍体個体
1	12	100	95	0	0
"	24	"	56	40	4
"	36	"	80	17	0
0.5	12	100	98	0	0
"	24	"	77	21	5
"	36	"	75	25	0
0.25	12	100	98	0	0
"	24	"	63	33	1
"	36	"	86	12	4*

※：8倍体の個体も含む

合液(2:1)中で20秒間浸漬解離処理したのちスライドガラスの上に置き、1%アセトオルセインで20~30分染色し、押しつぶし法<sup>16)</sup>によって行った。

なお、四倍体と確認した株は1978年うね幅2m、株間50cmに定植して、特性および生産力を検討した。施肥その他管理は別に定める基準により栽培した。

### III 試験結果

#### 1. 肥厚芽生と四倍体の発現

試験1. 第1表に示す。この試験条件下では肥厚芽生は認められず、各処理とも正常な発育をした。

試験2. 第2表に示す試験の結果は第3表に示すとおりである。すなわち、コルヒチン濃度1%の場合12時間浸漬処理で肥厚芽生の発現はなく、24時間浸漬で40%、36時間浸漬で17%の肥厚芽生の発現をみた。0.5%の場合、12時間浸漬で0%、24時間浸漬で21%、36時間浸漬で25%肥厚芽生が発現し、0.25%になると12時間浸漬0%、24時間浸漬33%、36時間浸漬で12%の肥厚芽生の発現をみた。これらの結果からコルヒチン濃度は1~0.25%、処理時間は24時間から36時間浸漬処理することにより肥厚芽生を得ることが可能である。

田中<sup>16)</sup>の方法によって確認した肥厚芽生株根端の染色体数は写真-1, 2に示すように4n=40であった。肥厚芽生から四倍体の発生率は第3表のように約10~33%であるが、処理濃度及び処理時間の間には一定の傾向は認められなかった。

#### 2. 草 状

定植5年目の株の収穫終了後に発生した茎の調査結果をみると第4表のようであった。四倍体株が雌、雄株とも草丈は高く、茎の太さも大きかった。また、5mm以上の茎数も多くなっていた。外観的にみて二倍体とのもつとも大きな違いは擬葉の長さが長いことであった。

花器についてみると雌花、雄花ともに四倍体の花が大きいのが特長であった。

1株に着生する雌花の着生数は年度により変化することが知られているが、二倍体より着花数は少なかった。花粉粒は写真-6, 7のように、四倍体花粉粒の中に異常花粉粒が多数混在していた。

気孔の大きさと密度を二倍体と四倍体間で比較した結果を第6表に示した。二倍体と比べて四倍体の気孔の孔辺細胞長はわずかに増大を示し、一定面積当りの気孔数は四倍体が35%減少した。

### 3. 稔 性

1978年の四倍体株の自然状態における種子結実状態は次のようであった。すなわち、四倍体に着生した果実の枇割合が19~44%であるのに対して二倍体は0%、総種子に対する完熟種子割合は二倍体の96~100%に対して四倍体は50~68%であった。1果平均種子数は、二倍体が3.3~4.9粒、完熟種子3.2~4.9粒であるのに対して四倍体では1果平均種子数1.7~2.9粒、完熟種子1.1~1.4粒と著しく少なくなっていた。しかしこれらの種子の発芽は正常であった。

### 4. 生産力

二倍体は1977年定植、四倍体は1978年定植のため本圃期間に1年間の違いがあるが、6~7年目の収量を参考までに示すと第8表のとおり、二倍体の株あたり収穫本数は30本、512g、四倍体は52本で959gとなった。倍数体になると収量が増加し、とくに20g以上の太い嫩茎が多くなった。しかし、株ごとの調査によると二倍体にみられる株間の収量差は四倍体でも同様であった。

## IV 考 察

1937年 Blakeslee and Avery 両氏によるコルヒチン処理による同質倍数体作物の発表以来、多くの四倍体作物が発表されている。わが国においても1950年代を中心として普通作物、特用作物、飼料作物、園芸作物について同質四倍体の作出が報告<sup>15)</sup>されている。

野菜ではダイコン(西山ら1939)をはじめ、ハクサイ、タイサイ、キョウナ、カブ、ヒサゴナ、キャベツ(西山1949)、ハクサイ、シロナ(門田ら1949)、スイカ(木原ら1947)、キュウリ(山田1941)、ナス(田中1949)、メロン(鈴木1958)、カボチャ(内川1952)、アスパラガス(Braak, J.P.ら1957)などが作出された。しかし、経済品種の中で人為倍数体の数は花きでは比較的多いが、キンギョソウ、コスモスなどが中心で、世界を通じても10品種程度に過ぎない<sup>15,20)</sup>。

本実験で作出した四倍体アスパラガス(1976)は、作出以来7年間の試作結果、収量性が優れていることから実用性があると判断した。コルヒチン法による倍数体の発生率は、コルヒチン濃度、処理時間ならびに処理温度に支配されるだけでなく、植物の種類、または品種により、あるいは処理する部位ならびに処理方法などによりいちじるしい差異がある<sup>7,18)</sup>。

肥厚芽生は、すなわち倍数体ではないが処理の効果を

第4表 地上部の特性

区別	草丈 cm	茎の太さ(mm)			茎数* (本/株)	擬葉長 (mm)
		長径	短径	平均		
雄株						
二倍体 (10株)	$\bar{x}$ 175.1	12.3	11.0	11.6	18.7	16.8
	$\sigma_n$ 23.75	2.19	2.04		11.43	2.67
	CV%	13.6	17.8	18.6	61.2	15.9
四倍体 (9株)	$\bar{x}$ 182.6	17.2	14.8	16.0	21.9	23.1
	$\sigma_n$ 21.34	2.97	1.87		11.60	5.60
	CV%	11.7	17.3	12.7	53.0	24.3
雌株						
二倍体 (10株)	$\bar{x}$ 183.0	12.0	10.6	11.3	16.0	19.3
	$\sigma_n$ 19.77	1.78	1.49		4.79	5.64
	CV%	10.8	14.9	14.1	30.0	29.2
四倍体 (6株)	$\bar{x}$ 186.7	14.5	13.5	14.0	24.7	26.2
	$\sigma_n$ 25.05	3.09	2.98		8.95	2.19
	CV%	13.4	21.3	22.1	36.3	8.4

\*：径5mm以上のもの、1984年7月調査。

第5表 花器の比較 (mm)

区 別	雄 花		雌 花	
	花 長	花 径	花 長	花 径
二倍体	7.2±0.09	2.9±0.08	3.8±0.08	2.5±0.07
四倍体	7.6±0.12	3.4±0.07	4.3±0.11	2.9±0.11

第6表 倍数体の気孔の大きさ

区 別	気孔数(個/mm <sup>2</sup> )	長径(μm)
二倍体(雄)	67.5 (100)	32.6 (100)
四倍体(♀)	43.7 (65)	33.8 (104)

〔注〕気孔調査は若茎の表皮細胞で行ったが、表皮の剝離が困難なため、茎を冷凍処理して剝離を容易にして検鏡材料を準備した。

知る目安となるものである。試験1では肥厚芽生の発現は認められなかった。これは、アスパラガスは発芽に長時間を必要とする種類であるため、浸種後コルヒチン処理2~6時間の浸漬では、処理時間が短かすぎたためではないかと推定される。一方催芽種子を12~36時間処理

第7表 二、四倍体株の稔実状況 (1978)

株の 番号	調査 批		同左 割合	調査 果実 当り		種子 数		1 果 平 均		
	果実	果実		完熟 総数	同左 種子	批	同左 種子	種 完熟 種子	種 完熟 種子	
2n-1	100	0	0	494	494	100	0	0	4.9	4.9
2	100	0	0	330	316	96	14	4	3.3	3.2
4n-2	119	33	28	203	138	68	65	32	1.7	1.1
61	113	50	44	293	157	53	136	46	2.6	1.3
98	252	88	35	729	419	57	312	42	2.9	1.7
104	24	9	38	54	27	50	27	50	2.3	1.1
114	84	15	19	215	118	55	97	45	2.6	1.4

第8表 嫩莖の品位と収量 (1株当り)

區別	莖の 20g以上		20~10g		10~5g		5g以下 異常莖		合 計		
	太さ (mm)	本数 (本)	重量 (g)	本数 (本)	重量 (g)	本数 (本)	重量 (g)	本数 (本)	重量 (g)	本数 (本)	重量 (g)
二倍体	12.7	9.0	259.5	10.7	167.0	6.2	54.5	4.1	31.3	30.0	512.4
四倍体	13.8	19.5	601.7	16.9	291.9	9.7	66.7	5.9	53.5	52.0	959.0

収穫期間 1984年4月10日～6月15日

した試験2では、肥厚芽生の発生は12～40%であった。西山ら<sup>11)</sup>による聖護院大根の種子処理の場合、濃度が0.02%で50%の肥厚芽生を生じ、0.4%以上では全芽生が肥厚型となっている。しかし本試験の場合、濃度による肥厚芽生の増加には一定の傾向は認められなかった。このことは種類の違いによるものか明らかでなかった。神代ら<sup>9)</sup>はタバコの半数体の幼苗に対してコルヒチン濃度0.2%、浸漬時間48～78時間で高い倍加率を得ていることからみて、アスパラガスのような発芽勢、発芽率の劣る種類では浸漬時間を長くすることにより、肥厚芽生の発現率が高められるのではないかと考えられる。

また、処理時の温度がコルヒチンの効果に影響することが報告されている。山本<sup>10)</sup>によると小麦×ライ麦のF<sub>1</sub>種子に対するコルヒチン処理では、室温より低い温度で処理した場合に高い倍加率が得られた。また、山崎ら<sup>10)</sup>は赤丸二十日大根と秋ソバに対するコルヒチンの幼芽処理において、四倍体発現が低温下処理ほど多かったことを報告している。筆者らの行った試験1の処理温度を組合せた実験では、処理時間が短かったためか温度と肥厚生の関係については明らかにすることはできなかった。また、高温(25℃)下での処理ではコルヒチン致死作用<sup>10)</sup>が

指摘されている。試験2は処理温度25℃のみであったが、本試験の結果では温度による影響は明らかでない。

植物の芽、あるいは種子に対してコルヒチン処理すると、その後発生してくる葉は縮れたり、ゆがんだり葉肉が厚くなったり、あるいは葉色に濃淡を生じ、明らかに奇形葉となり、その奇形の程度によってコルヒチン処理効果のある程度まで推定できることが明らかにされている。アスパラガスの場合も肥厚芽生の程度について詳細に観察すると、最初から擬葉に異常が認められるものから、嫩莖のみ肥厚したものなど肥厚芽生の程度に大きな差が認められた。

コルヒチン処理によって得られた肥厚芽生から、四倍体であるかどうかの判定は複雑な方法によって染色体数の確認を行わなければならない。そこで、簡易な判定法を見出すため、擬葉、花器、花粉、気孔の形態調査を行った。その結果、二倍体と四倍体間では擬葉の大きさに顕著な差異が認められ、また、花器では雄花、雌花とも四倍体が大きく一見して区別が可能である。さらに花粉は四倍体が大きく、とくに四倍体花粉には異常花粉が多数混在している。多くの人為同質倍数体では共通的に稔性の低下が報告されている。ことに稔実度の低下は、本来同質四倍体を構成する遺伝子の重複によって惹起される先天的な形質発現に関する不均衡性によるものといわれているが、個々の植物の生育している環境条件、ことに温度の高低がとりわけ四倍体に鋭敏に作用し、その稔実度を低下させている事実を齊藤<sup>13)</sup>が報告している。アスパラガスの場合も稔性の低下が認められた。四倍体花粉に異常花粉が混在することから、花粉母細胞の成立から成熟分裂を繰返して花粉粒が完成されるまでの過程において、生理的な異常が起こったものと推定される。

## V 摘 要

四倍体アスパラガスを育成するため、コルヒチン処理について検討した。

1. コルヒチン濃度0.25～1.00%の水溶液を用い、発芽初期の種子浸漬法により1～5%の四倍体が発現した。
2. 浸漬時間は24時間処理がもっとも良かった。
3. コルヒチン処理により得られた四倍体植物は、二倍体植物に比べて擬葉が長く着生が粗である。雌、雄花とも大きいなどの形態的な特徴があり、区別性が明瞭であった。
4. 1984年(定植後7年目)度の収量は本数、重量とも四倍体株が多く、特に20g以上の嫩莖の発生が多かった。

## 引用文献

- 1) BRAAK, J.P. and A.E. ZEILINGA: 1957. Production of a colchicine-induced tetraploid asparagus. *Euphytica* 6 (3): 201—212.
- 2) ELLISON, J.H., D.F. SCHEER and J.J. WAGNER: 1960. Asparagus yield as related to plant vigor, earliness and sex. *Proc. Amer. Soci. Hort. Sci.*, 75: 411—415.
- 3) 八鍬利郎・原田 隆・笠井 登: 1983. アスパラガスにおける雄性系統の育成に関する研究. 第2報. 雄性系統における花の発育と果実着生について. 北大農邦文紀要, 13 (4): 564—570.
- 4) 花岡 保: 1977. 導入アスパラガス全雄系統の比較に関する2, 3の考察. 園芸学会53春要旨: 160—161.
- 5) 岩垣駿夫・岩間誠造: 1948. アスパラガス品種試験成績. 性による Green spear の収量. 園学雑, 17: 161—165.
- 6) 神代 隆・岡 克: 1978. 薬培養によるタバコの半数体育種法に関する研究. 第7報. 半数体幼苗のコルヒチン処理による倍加法. 磐田たばこ試報, 10: 31—39
- 7) 西山市三: 1947. 人為的倍数體の育種の意義. 學術研究会議編 農学綜報第一輯: 207—236 創元社.
- 8) 西山市三: 1961. 新編細胞遺伝学研究法: 247—27. 247—270.
- 9) RICK, C.M. and HANNA, G.C.: 1943. Determination of sex in *Asparagus officinalis* L., *Amer. J. Bot.*, 30: 711—714.
- 10) MOORE, R.J.: 1973. Index to plant chromosome numbers 1967—1971. Oosthoek's Uitgeversmaats-

chappij Netherlands.

- 11) 沢田英吉: 1962. アスパラガス: 49—57. 養覧堂.
- 12) ———・田村 勉・八鍬利郎・原田 隆・今河茂・山本茂雄・佐藤滋樹・山吹一芳: 1983. アスパラガスにおける雄性系統の育成に関する研究. 第1報. 超雄性 (MM) の選抜と雄性系統の試作について. 北大農場研究報告, 23: 41—49.
- 13) 齊藤 清: 1959. 同質4倍体花卉の利用と稔実の特異性に関する研究. 第1報. 大輪八重咲ベチュニアの育成とその稔実に関与する遺伝的及び環境的要因について. 園学雑, 28: 45—51.
- 14) ———: 1959. 同質4倍体花卉の利用と稔実の特異性に関する研究. 第2報. すいせんのう4倍体の形態的および稔実生理的特性について. 園学雑, 28, 139—142.
- 15) ———: 1962. 倍数体作物の農業的利用 (1, 2) 農及園, 37: 21—24, 337—340.
- 16) 田中隆荘: 1976. ラン細胞学の基礎. 鳥潟博高編. ラン科植物の種子形成と無菌培養: 5—19. 誠文堂.
- 17) 浦上敦子: 1984. アスパラガスの諸問題. タマネギ・アスパラガスの生産安定をめぐる技術的諸問題: 1—5. 野菜試.
- 18) 山崎守正・後藤虎男・横田正信: 1954. コルヒチン処理期間の温度が倍数体発現率に及ぼす影響について. 育雑, 4: 9—13.
- 19) 山本善良: 1953. 小麦ライ麦間の  $F_1$  種子に対するコルヒチン処理時に於ける温度及び濃度に就て. 日作紀, 21: 325—327.
- 20) 山川邦夫: 1980. 倍数性育種法. 野菜園芸大事典編集委員会編. 野菜園芸大事典: 221—224. 養覧堂.

Studies on Polyploid Breeding in *Asparagus officinalis* L.)

1. Polyploid induction by colchicine application

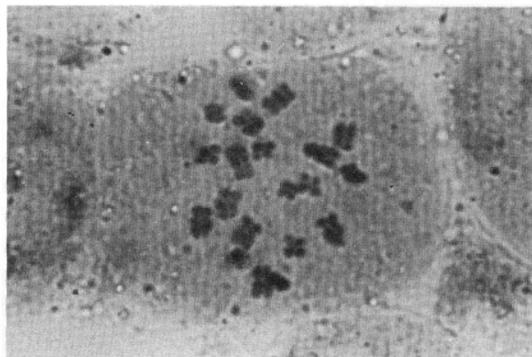
Ataru OKIMORI, Mitsuo KAKEHI, Shigeki HASEGAWA and Yoshihiko TANIGUCHI

Summary

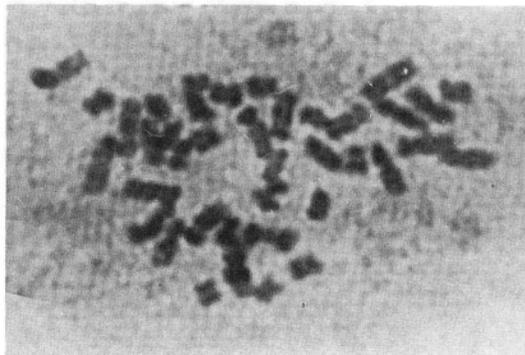
Some experiments on colchicine treatment of asparagus, cultivar Mary Washington 500, were undertaken to obtain tetraploids for breeding triploid plants.

Seeds which germinated slightly under the condition of 28—30°C were proved to colchicine treatment. Thickening seedlings were produced at the rate of 33—40 percent of seedlings with 0.25—1.00 percent colchicine solution for 24 hours and tetraploids could be obtained at the rate of 1—5 percent of seedlings.

The tetraploid plants thus obtained had some morphological differences in comparison with diploid ones. The tetraploids were distinguished by long cladophyll and the cladophyll density was thinner than diploids. The flowers of tetraploids were obviously larger, especially in the diameter. The spears of tetraploids were thicker and the yield in tetraploids was pronouncedly more than that of in diploids. Many of the pollen grains of the tetraploids were deformed and fertility of the female flowers decreased considerably.



写真—1 メリーワシントン500の染色体  
(Diploid  $2n=20$ )  $\times 3,500$



写真—2 四倍体メリーワシントン500の染色体  
(Tetraploid  $4n=40$ )  $\times 3,500$

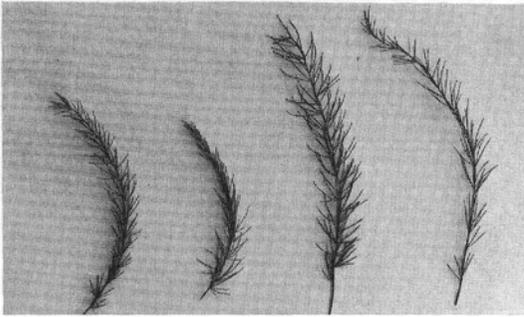


写真-3 擬葉の形態  
左よりメリーワシントン500, 雌株, 同雄株,  
四倍体雌株, 同雄株

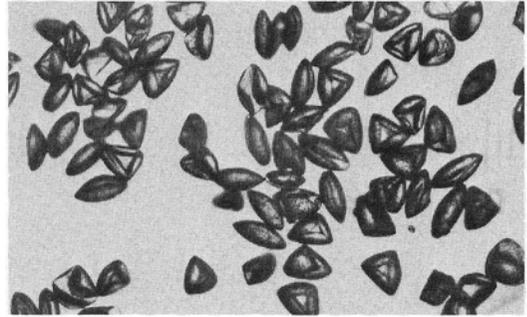


写真-6 Tetraploid の花粉 (1目盛9.58 $\mu$ m)

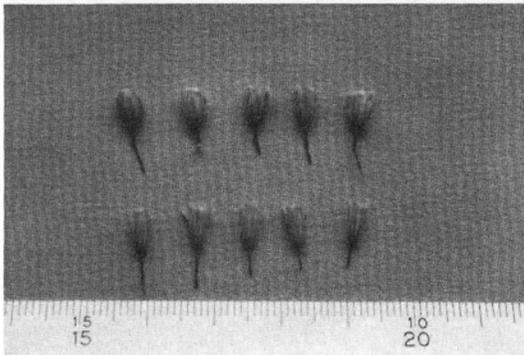


写真-4 雄花 上 Tetraploid (4n=40)  
下 Diploid (2n=20)

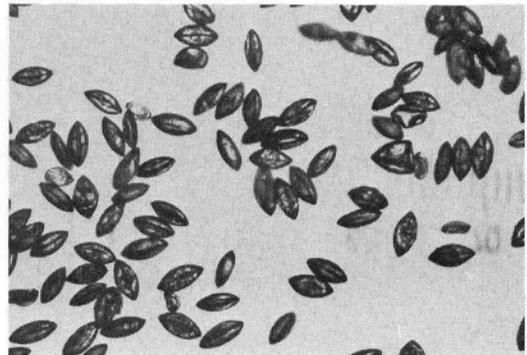


写真-7 Diploid の花粉粒 (1目盛9.58 $\mu$ m)

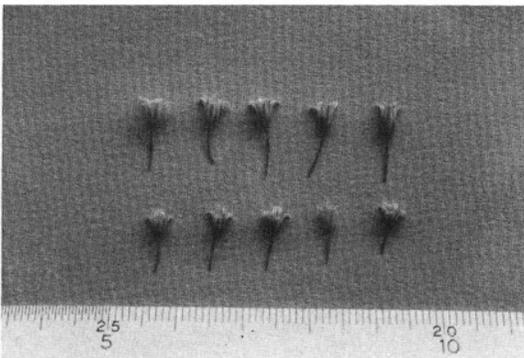


写真-5 雌花 上 Tetraploid (4n=40)  
下 Diploid (2n=20)

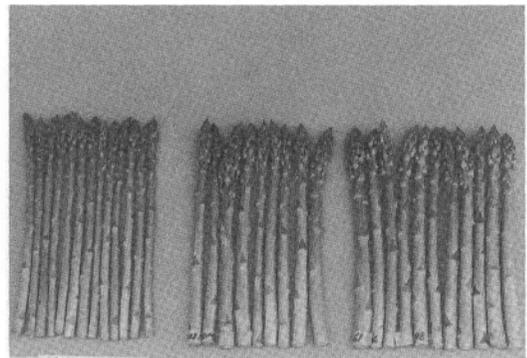


写真-8 若茎の形態  
左よりメリーワシントン500, 四倍体雄株, 同  
雌株