

細胞融合・細胞培養による特産ナスの品種改良

京都府農業総合研究所
稲葉幸司

京都府では、地域特産物の生産振興や健全な農産物の安定供給を図るために、主要な特産作物の品種改良に取り組んでいる。本報告では、ナスについてのバイテク育種の現状について紹介したい。

1. 細胞培養系を利用した京の伝統野菜『賀茂ナス』の品種改良

1000年の都・京都には、伝統ある特産野菜がたくさんある。当研究所ではこれらの伝統野菜の原種保存や栽培展示を行うと共に、バイテク手法等を活用した品種改良や栽培技術の改善等を行い、消費者ニーズに合った京野菜の生産振興に力を入れている。今回は、『賀茂ナス』の品種改良を目的としたプロトプラスト培養系の開発と、プロトプラスト由来賀茂ナスの培養変異について報告する。

(1) プロトプラスト培養について

供試材料：賀茂ナス（京都農総研選抜系）

プロトプラストの単離：種子をジベレリン（100 ppm）処理後、滅菌は種（70%エタノール30秒、アンチホルミン10倍液20分）し無菌的に約15日間育成した実生の胚軸を用いた。胚軸は縦に2分割し、酵素液（マセロザイムR10, 0.1%、メイセラゼ0.5%、ショ糖1%、0.5M マニトールを含む1/2濃度のMS液体培地）中で25℃・16時間静置した。そして、手で軽く振とうすることによりプロトプラストを遊離させ、ナイロンメッシュ（70 μm）でろ過し、洗浄液(W-5)で3回遠心分離により精製した。

プロトプラストの培養方法：プロトプラストを 1×10^5 個/mlに調整し、2,4-D, NAA, カイネチンを各1 mg/lとショ糖1%、0.4 Mマニトールを含む1/2濃度のMS (NH_4NO_3 のみ200mg/lに修正)液体培地で培養（25℃）した。培養開始後は、約1週間毎に培地のオーキシン濃度とマニトール濃度を下げていき、再分化培地に移す前には、2,4-D 0.1 mg/l, NAA 0.1 mg/l, カイネチン1 mg/l, ショ糖1%、0.2 Mマニトールを含む1/2濃度のMS液体培地（コロニー養成培地）で培養した。

賀茂ナスのプロトプラストは、4日目には細胞分裂を開始し、9日目には8細胞期となった。そして、25日後にはコロニー養成培地に、55日後には再分化培地にカルスを移植して不定芽を誘導させた。

再分化方法：2～3mmに成長したカルスを、ゼアチン4 mg/lとIAA0.1 mg/lを含む再分化培地（ショ糖3%を含む½濃度のMS寒天培地）に移植し、25℃、3000 lux 16時間照明下で培養した。

賀茂ナスのプロトプラスト由来カルスからのシュート形成率は、最高で30%程度であり、あまり高くなかった。得られたシュートは、そのままではほとんど発根しなかったため、2cm以上に伸長したシュートを切り取り、基部をNAA1 mg/lを含むMS液体培地に1～2日浸し、ホルモンフリーのMS寒天培地に移植することによって発根させた。

なお、この培養系は、再分化効率をさらに向上させる必要があり、不定胚形成系等を応用したプロトプラスト培養系の確立が望まれる。

(2)プロトプラスト由来賀茂ナスの特性について

プロトプラスト由来の賀茂ナス再生体を順化し、露地栽培で特性検定を行ったところ、その多くは在来系と類似していたが、果実の形や葉の大きさ、トゲの多少等について変異が見られた。また、4倍体個体も得られたが、4倍体個体は果実品質が劣悪であった。

それらの中から、生育旺盛でトゲが少なく果実の色や形の揃いの良い個体を選抜し採種を行った。その後3代にわたって優良個体の選抜と特性検定を続け、現在3つの有望系統を得ている。

中でも系統No. 3は、ボケ果（果実の黒紫色が退色して艶を無くしたもの）の発生が少なく商品果収量が約2割アップしている。また、このNo. 3系統は、青枯病に対するは場抵抗性も比較的強くなっていた。

今後、このNo. 3系統を中心にさらに現地適応性等の検討を進める予定である。

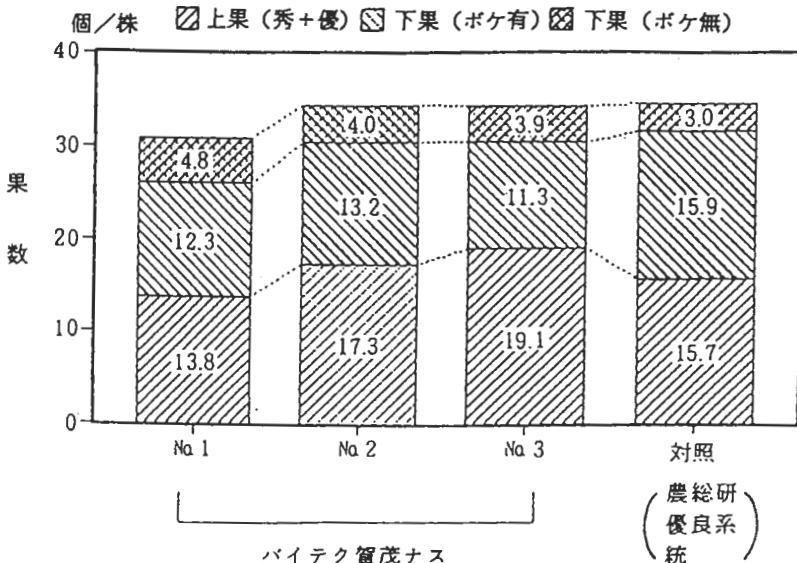


図 賀茂ナスの規格別収穫果数 (H.4 調査)

2. 細胞融合によるナス青枯病抵抗性台木の育成

ナス栽培では、連作や輪作年限の短縮に伴い青枯病や半身萎ちょう病等の土壌伝染性病害の被害が大きくなって来ている。その対策の一つとして、接ぎ木栽培が広く行われているが、現在使われているナス用台木では耐病性の点で不十分である。そのため、青枯病等により強い耐病性をもつナス用台木の育成が求められている。そのため、青枯病に抵抗性を持つナス近縁種間で細胞融合を試み、今回青枯病に強い抵抗性を持つ長ナスとナス用台木として栽培特性の優れるアカナスとの間で細胞融合による種間雑種を得ることができたので紹介する。

(1) 細胞融合による種間雑種の作出

長ナス (*Solanum melongena*) 'Dingaras Multiple Purple' (以下DMPと略す) とアカナス (*Solanum integrifolium*) の胚軸または子葉からプロトプラストを単離し、電気細胞融合法により細胞融合を行った。そして、融合細胞を含むプロトプラストを培養し、カルス(不定形の細胞の塊)を経て植物体を再生させた。

プロトプラスト培養系：前記の賀茂ナスの方法とほぼ同じ系を用いた。

細胞融合方法：プロトプラストを0.4Mマニトール液で $1\sim 2\times 10^5$ 個/mlに調整し、両者のプロトプラストを等量混合する。これを6穴マイクロプレートに1.2mlずつ入れ、丸型電極(電極間隔1mm)を差し込む。そして、高周波電界の周波数を1MHz、電圧VAC=30V_{r-r}、印加時間10sでパールチェーンを形成させた後、高電圧パルスとして電圧VDC=300~400V、印加時間30 μ sを2~3回印加させると5%程度の率で融合した。その後、約30分間静置してから、2倍に濃縮した初代液体培地を添加して培養に移した。

細胞融合雑種の獲得：細胞融合実験によって得られた多数のコロニーの中から1264個のコロニーを再分化培地に置床したところ、159個のカルスから植物体が再生した。再生体を鉢上げし、形態観察及びDNAや酵素の分析により雑種性検定を行い、7個体の細胞融合雑種を得た。

そのうち5個体は、生育良好で正常な自殖種子が多数得られた。雑種個体は、両親と比較して旺盛な生育を示し、葉形、花形、果形は中間的な形態を示した。また、両種のF₁品種'アシスト'と比較すると、節間が長くて葉や花が大きく晩生である。

(2) ナス台木としての利用

この細胞融合雑種の後代について、ナス用台木としての能力を検討した。

青枯病に対する耐病性は、接種検定の結果、アカナスよりもかなり強い。しか

し、いわゆるIV群菌では発病することがある。半枯病については、完全な抵抗性を示す。青枯病・半枯病複合耐病性台木として有望である。

ナス台木としての生産性について検討したところ、ナスとの接ぎ木親和性は良く、接ぎ木ナスの生育は良好である。得られた細胞融合雑種5系統の台木としての生産性は、系統によって大きな差があり、AD2系統が最も収量性が高く、果実の品質等も良好である。

AD2台木は、‘アシスト’台木と比較して収量性・品質・耐病性とも同等であり、十分に実用化可能であると判断している。

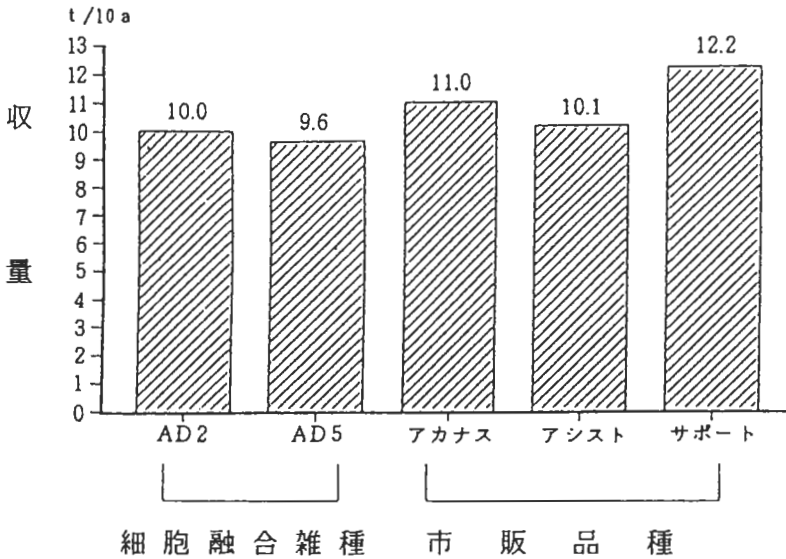


図 細胞融合雑種 市販品種
青枯病抵抗性台木の違いによるナスの上果収量 (H.4.6~11 調査)