

氏 名(本 籍)	そう 宋	せき 碩	りん 林 (中 国)
学 位 の 種 類	農	学	博 士
学 位 記 番 号	博	甲	第 848 号
学位授与年月日	平成 3 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	農 学 研 究 科		
学 位 論 文 題 目	キリ属樹種成木の茎頂培養による大量増殖及びキリてんぐ巢病の無病苗育成に関する研究		
主 査	筑波大学教授	農学博士	大 庭 喜 八 郎
副 査	筑波大学教授	農学博士	佐 藤 昭 二
副 査	筑波大学教授	農学博士	菊 池 文 雄
副 査	筑波大学教授	Docteur-ès-Sciences	
		原 田	宏
副 査	筑波大学助教授	農学博士	荒 木 眞 之

論 文 の 要 旨

本研究は、キリ属10樹種（ニホンギリ、ヒカリギリ、ウスバギリ、シセンギリ、ココノエギリ、ラクダギリ、ナンボウギリ、チョウセンギリ、ランコウギリ、タイワンギリ）について成木の茎頂培養による植物体再生とその大量増殖、幼植物体の環境順化及び苗畑への移植と成長、茎頂培養によるキリてんぐ巢病罹病木からの健全な苗の作出を目的として実験をした。

キリ属10樹種の成木の茎頂培養によるシュート形成の好適培地を検索し、ついで、シュートの大量増殖における BAP の最適濃度、シュートの発根における好適培地と IBA の濃度の影響を明かにした。また、茎頂培養で得た再生幼植物体を鉢上げし、順化させた後、苗畑に移植してその成長を観察した。以上について、タイワンギリを除く 9 樹種について、試験管内での植物体の再生から再生植物体の順化までの各過程について好適培養条件を明かにした。ついで試験管内の培養物の葉片と葉柄の培養による植物体の再生及びカルスの誘導とそのカルスからのシュート形成について検討し、それぞれ好適培養条件を明かにした。さらに、キリてんぐ巢病罹病木について、てんぐ巢病徴の有無によって枝を分け、それぞれ茎頂を採取して培養し、シュート形成率とその発病率を比較した。さらに、試験管内でてんぐ巢病症状を示し、発病したシュートとその発根した植物体を熱処理と茎頂培養との併用による無病徴化の可能性を示した。

茎頂培養によるキリ属樹種の植物体の再生及びその順化と成長

初代培養について、MS 培地、BTM、WPM、WS 培地の 4 倍地を用いてキリ 7 樹種（ニホンギリ、

ヒカリギリ、ウスバギリ、ココノエギリ、チョウセンギリ、ランコウギリ、タイワンギリ) について茎頂培養を行った。茎頂は約0.5mmの長さで、試験管当たり1個ずつ植え付けた。培地別の各樹種の茎頂の活着率と伸長の結果から、BTMがキリの茎頂培養にもっとも適していると思われる。7樹種のうち、タイワンギリとランコウギリではすべての培養茎頂が枯死した。また、チョウセンギリとココノエギリでは3個の茎頂が活着したが、継代培養においては、これらの茎頂は枯死した。BTMを用いてこの4樹種の茎頂を約0.7mmの長さで再度培養した。また、あらたにナンボウギリ、シセンギリ、ラクダギリの0.5mmの茎頂を培養した。その結果、ランコウギリ、ココノエギリ、ナンボウギリ、シセンギリおよびラクダギリの5樹種は高い茎頂活着率、30%~88%を得た。一方、チョウセンギリとタイワンギリはそれぞれ10%の茎頂活着率を得た。しかし、タイワンギリのシュートは継代培養では枯死した。以上のようにキリ属10樹種のうち、9樹種の茎頂培養においてシュートを得た。

継代培養については、8樹種(ニホンギリ、ヒカリギリ、ウスバギリ、ココノエギリ、シセンギリ、ラクダギリ、チョウセンギリ、ランコウギリ)で成功した。しかし、ナンボウギリの増殖はよくなかった。また、BAPを0.0~16.0mg/ℓ添加したBTMにおけるニホンギリとヒカリギリのシュート増殖は、BAP約8mg/ℓまでの濃度の増加によってシュート分化が促進される傾向があった。そして、8~16mg/ℓの高いBAP濃度では分化したシュート数は多かったが、それらは小さいため、すぐには継代培養と発根培養に使えなかった。このような実用的な培養には、BAP 2.0~4.0mg/ℓの範囲が適している。また、オーキシンとしてNAAの添加はシュート増殖を低下させた。

発根培養は9樹種(ニホンギリ、ヒカリギリ、ウスバギリ、ココノエギリ、シセンギリ、ラクダギリ、チョウセンギリ、ランコウギリ、ナンボウギリ)のシュートを用いて実施した。まず、ウスバギリ、ラクダギリ、シセンギリ、ココノエギリの4樹種について、BTM、MS培地、WPMの各培地にIBAをそれぞれ0.0、1.0、4.0mg/ℓ添加した培地を用いて発根培養をした。その結果、BTM+IBA 4.0mg/ℓでは各樹種とも90%以上のシュートが発根した。その他の樹種のシュートもBTMにおいて順調に発根した。すなわち、供試した9樹種から再生植物体を得た。

再生植物体の順化と成長について、前記の9樹種の再生植物体を人工気象室(グロースキャビネット)で順化し、成長を観察した。再生植物体をバーミキュライトを入れた鉢に鉢上げし、水切りかごにいれ、透明なカバーを10日間かぶせて、温度25℃、2,000~3,000ℓx、16時間日長のもとで順化処理をした。ニホンギリ、ヒカリギリ、ウスバギリ、ココノエギリ、シセンギリ、ラクダギリ、チョウセンギリの7樹種は80%以上の植物体が順調に順化した。一方、ナンボウギリとランコウギリはそれぞれ20%と40%の順化率であった。それらの順化苗をファイロン室内の床土に移植したところ、移植した苗は順調に成長した。

ラクダギリ試験管培養植物体の葉片と葉柄の培養による器官分化・植物体再生・カルス誘導およびカルス培養によるシュートの形成

ラクダギリの葉片と葉柄の培養において、MS培地とBTMのいずれの培地によってもシュートが形成された。全体として、MS培地におけるシュートの形成率がBTMより高かった。また、MS培地ではNAA 1.0mg/ℓとカイネチン8.0mg/ℓを添加した場合のシュート形成率がもっとも高かった。

それに対して、BTM においてはカルスの形成が盛んであった。形成されたシュートはすべて発根した。カルスの継代培養において小数のカルスからシュートの形成がみられた。

てんぐ巣病罹病ギリの茎頂培養、茎頂培養と熱処理との併用による無病苗の育成

罹病ニホンギリの成木を土浦市とつくば市内の4箇所で、それぞれ2個体、計8個体を供試木として選んだ。罹病個体別に罹病枝と健全枝をとり、それぞれ茎頂培養をBTMを用いて行った。培養40日目頃から、茎頂から伸長したシュートに成木の病徴と同じような症状が観察され始めた。それから症状が進み、50日目では症状は安定した。60日間の罹病枝の茎頂培養によって得たシュートのうち平均47.3%のシュートが病徴を示した。一方、健全枝から得たシュートの罹病率は20%であった。ついで熱処理と茎頂培養との併用による罹病シュートの無病徴化を試験した。すなわち、茎頂培養によって得た罹病シュートを発根させ、38℃、3,000~4,000 lxの条件で15~25日間の熱処理をした。熱処理をした罹病植物体から茎頂を採取し、再度60日間の茎頂培養を行った結果、約90%のシュートで病徴が観察されなかった。これらの無病徴化されたシュートの発根培養における発根の進み具合は、熱処理の期間によって相違がみられた。25日間の熱処理をした場合、シュートの発根は15日間処理の場合よりも遅かった。しかし発根培養30日目では熱処理日数による発根率の差はなくなり、いずれも85%以上のシュートが発根した。発根した植物体を鉢上げしたところ、90%以上が活着した。これらの無病徴化植物体は、鉢上げ後60日間以上経過しても病徴が観察されなかった。

また、キリてんぐ巣病に罹病したニホンギリ20個体の茎頂培養によって、培養苗48個体を育成した。それらの苗を苗畑に定植後、3年間の観察結果、いずれも健全であった。なお、これらの罹病親木の葉柄試料の透過型電子顕微鏡観察でマイコプラズマ様生物 (mycoplasma like organisms, MLO) を認めた。

以上の研究結果、キリ成木の試験管内での茎頂培養による大量増殖技術が確立され、今後実用に供されるものとして期待される。また、茎頂培養の単用、熱処理と茎頂培養との併用がキリてんぐ巣病に罹病したキリ優良樹種、また、優良個体の無病徴化対策として十分利用可能であるものと考えられる。

審 査 の 要 旨

本研究は、キリ属10樹種について成木の茎頂培養による植物体再生とその大量増殖、幼植物体の環境順化及び苗畑への移植、茎頂培養によるキリてんぐ巣病罹病木からの健全な苗の作出を目的として実験をしたものである。まず、10樹種の成木の茎頂培養によるシュート形成の好適培地を検索し、タイワンギリを除く9樹種の培養増殖に成功した。ついで、継代培養増殖におけるBAPの濃度、シュートの発根培養におけるIBAの濃度、また、培養育成苗の順化の各過程について、各樹種別に好適培養条件を明かにした。大量培養増殖および細胞工学的研究の基礎として、ラクダギリについて、培養シュートの葉と葉柄を外植体としたシュート形成に成功し、また、カルス誘導、カルスからのシュート再生にも成功した。さらに、キリてんぐ巣病に罹病したニホンギリについて、病徴の有無によって

枝を分け、それぞれ茎頂を採取して培養し、シュートの形成率とその発病率を比較した。さらに、試験管内で、てんぐ巢病症状を示したシュートならびにその発根した植物体について熱処理と茎頂培養との併用による無病徴化の可能性を示した。さらにキリてんぐ巢病罹病個体の茎頂培養による育成苗を苗畑に定植し、3年間にわたる観察結果、てんぐ巢病症状が発現しないことを確認した。

以上、本研究はキリ属9樹種の成木を対象として茎頂培養、その後大量増殖、順化の総合技術確立した。さらに、キリてんぐ巢病に罹病したニホンギリ成木の茎頂培養の単用、また茎頂培養と熱処理による無病徴苗育成の可能性を明らかにした。これらはキリ属樹種の遺伝、育種の基礎・応用の両面で優れた研究成果であると評価される。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。