

| | | | |
|---------|---|------|-------|
| 氏名(国籍) | エミリオ アレハンドロ マルヤマ ヒグチ Emilio Alejandro MARUYAMA HIGUCHI (ペルー) | | |
| 学位の種類 | 博士(農学) | | |
| 学位記番号 | 博甲第1,466号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成8年3月25日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 | | |
| 審査研究科 | 農学研究科 | | |
| 学位論文題目 | BASIC STUDIES ON PROPAGATION, GENETIC IMPROVEMENT AND GENE CONSERVATION OF SOME PERUVIAN TROPICAL FOREST TREE SPECIES (ペルー産熱帯林樹種の増殖、育種及び遺伝資源保存に関する基礎的研究) | | |
| 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 | 理学博士 | 猪川倫好 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 農学博士 | 高柳謙治 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 農学博士 | 生井兵治 |
| 副査 | 筑波大学助教授 | 農学博士 | 荒木真之 |
| 副査 | 筑波大学併任助教授 | 農学博士 | 石井克明 |

論文の要旨

本論文は、ペルー共和国の重要な3大造林樹種、*Cedrela odorata* L. (cedro) (センダン科)、*Guazuma crinata* Mart. (bolaina blanca) (アオギリ科)、*Jacaranda mimosaeifolia* D. Don (jacaranda) (ノウゼンカズラ科) について、組織培養による増殖法、人工種子作成法および培養組織による遺伝資源保存の好適条件決定に関する研究結果をまとめたものである。1) 組織培養による増殖では好適培地の検索、外植体の適切な表面殺菌法、培養における外植体の種類、成長調節物質、糖類、ゲル化剤、光量と日長の影響、および発根と順化効率などの検討を行った。2) 人工種子作成法ではアルギン酸ナトリウムのカルシウム固化により作成した含有養分濃度が異なる一重および二重の包埋ビーズと植物体再生。3) 培養組織による遺伝資源保存では常温ならびに液体窒素中での保存と植物体再生の検討を行った。

3樹種の組織培養による急速増殖は幼苗から苗条片の培養で達成された。すなわち、*C. odorata* の苗条片の殺菌には70%エチルアルコール1分間、ついで0.1%塩化第二水銀10分間の浸漬が有効であった。マルチプルシュートは0.89~8.89 μ M の6-benzylaminopurine (BAP) を添加したWoody plant medium (WPM) で誘起され、1か月あたり3~4倍の増殖率であった。2.46 μ M の indole-3-butyllic acid (IBA)、0.27 μ M の1-naphthaleneacetic acid (NAA) および0.93 μ M の kinetin (KIN) を含む(1/2) WPM 培地で100%の発根率がえられた。これらの幼植物体は(1/1000)濃度の Hyponex を含むバーミキュライトを詰めた小ポットに移植し、環境制御器内での順化に成功した。*G. crinata* の苗条増殖は10 μ M の zeatin 添加の WPM 培地で成功し、7週間の培養で7倍の増殖率をえた。増殖した苗条は1 μ M の KIN を含む WPM 培地で伸長と発根が同時に起こり、2か月間の培養で発根、成長ともに優れた幼植物がえられた。また、*G. crinata* では根外植体および葉柄外植体でも不定芽誘導により、植物体再生が達成された。*J. mimosaeifolia* のマルチプルシュートは、月齢2か月苗の1~2cm長の苗条片を0.2%の Gelrite で高濃度の KIN (100 μ M) を添加した B5 培地 (Gamborg) で6か月間培養により、8倍に増殖させることに成功した。0.49~4.9 μ M の IBA を単独添加、あるいは NAA (0.27 μ M) と組み合わせ添加した(1/2) B5 培地で100%の根発生と順化にも成功した。一方、カルス経由の植物体再生は極めて困

難であった。

3樹種についてアルギン酸ナトリウム添加の培養液を含むカルシウム固化ゲルのビーズ（直径約1.2 cm）に苗条片を包埋した人工種子を作成し、殺菌状態の各種の培地で培養したところ、養分を添加した培地では発芽と成長とも良好であった。また、非殺菌状態での殺菌汚染による損失を防ぐため、一重ビーズと二重ビーズ（外層：養分濃度100%と外植体、内層：養分濃度1,000%と活性炭0.5%）などを比較したところ、二重ビーズで最高の結果がえられた。すなわち1%の寒天培地で培養した結果、3樹種とも発芽率と苗条の伸長増加率は各々、*C. odorata* 60% ; 60%, *G. crinata* 100% ; 80%, *J. mimosaeifolia* 100% ; 100%と高かった。しかし、植物体再生率は低く、*J. mimosaeifolia* 32%, *C. odorata* 6.7%, *G. crinata* 3.3%であった。また、殺菌剤や抗生物質などのゲルビーズへの添加は、非殺菌培地での植物体再生に効果的ではなかった。

培養組織の保存について、①保存温度と養分低減の組合せの下で人工種子の常温保存と、②苗条片の液体窒素中保存の成績を検討した。①の常温保存については、3樹種とも寒天培地での保存性が良く、樹種ごとの好適温度は*C. odorata* 12℃, *G. crinata* 25℃, *J. mimosaeifolia* 20℃であり、それぞれ生存力の大きな低下なしに、12か月間、12か月間および6か月の保存ができた。②の液体窒素中での保存については、苗条片を液体窒素に入れる前にハードニング処理を行った区において良い結果がえられ、保存苗条片の生存率と再生率は*C. odorata* 50 ; 20%, *G. crinata* 50% ; 15%であった。*G. crinata* では不定芽外植体を急速凍結法によって液体窒素中保存をした場合の生存率と再生率は85% ; 25%であった。

審 査 の 要 旨

ペルーにおいて造林利用の進展が期待される上記3樹種について、組織培養による造林用種苗の急速大量増殖を目的として、組織培養による増殖法、人工種子作成法および培養組織の保存に関する研究を行った。組織培養による増殖では外植体の種類と表面殺菌、培地の種類、成長調節物質の種類と濃度、糖類の種類と濃度、培養時の温度と日長、培養期間、順化などの好適条件を決定しえたことは大きな成果である。人工種子の作出では二重ビーズ人工種子で良好な発芽と成長の結果をえた。人工種子による遺伝資源の保存では寒天培地がよいこと、樹種別の保存好適温度に差があることを確認し、約1年間保存できたことは実用上に応用できる。また苗条片の液体窒素中での保存では、ハードニングを行うことにより3樹種とも保存が可能であり、また*G. crinata* の不定芽外植体の急速凍結後の液体窒素保存で高い再生率をえたことは新知見である。

本研究で明らかにされた、組織培養、人工種子作出、培養組織の保存に関する、それぞれの好適条件ならびに好適技術はペルーおよび同一樹種を利用する他の熱帯諸国における造林事業、ならびにこれらの樹種の今後の生物工学的な育種の実施に際して利用可能と考えられ、基礎および応用の両面から高く評価される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。