

氏 名 (本 国 籍)	小笠原 利 恵 (愛知県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 6 1 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 2 6 年 3 月 1 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 3 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物生産科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	倍数性を活用したスパティフィラムの育種法の開発
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教 授 田 中 逸 夫 副査 岐阜大学 教 授 福 井 博 一 副査 静岡大学 准教授 切 岩 祥 和 副査 岐阜大学 助 教 山 根 京 子

論 文 の 内 容 の 要 旨

スパティフィラム属 (*Spathiphyllum*) の *S. wallisii* ‘Merry’ および ‘New merry’ を用いて四倍体を作成し、さらに二倍体との交雑によって三倍体の育成を試みた。

S. wallisii ‘Merry’ の展開葉および未展開葉を除去した塊茎をコルヒチン浸漬処理し、コルヒチン 10.0 mM 処理区で二倍性細胞と四倍性細胞のキメラ個体が 3 個体得られた。キメラ個体の茎頂培養を行い、多芽体を形成させ再分化した植物体を順化した結果、1 個体の四倍体を獲得した。獲得率は 0.7% (1/142) と著しく低かった。得られた四倍体は二倍体と比較して、矮性で、気孔の肥大、葉幅／葉長比の増大、花茎や肉穂花序の肥大化、仏炎苞の卵形化と肥厚化などの形態的な変化が観察され、新品種 ‘フェアリーウィング’ (‘FW’) として種苗登録を行った (品種登録出願番号 第 25037 号)。

S. ‘New merry’ を用い、摘出した頂端分裂組織に対して *in vitro* でのコルヒチン処理を行った。頂端分裂組織を摘出するにあたり、表面殺菌前の供試材料の未展開葉を多く除去して調整し、さらに頂端分裂組織の大きさを小さく摘出してコルヒチンを含む培地に置床して処理を行ったところ、多くが枯死し、生存率が著しく低下した。表面殺菌前の供試材料の調整方法として、4～5 枚の未展開葉を残し、頂端分裂組織の葉原基を 3～4 個残して摘出した結果、生存率が上昇した。

コルヒチン処理方法として、摘出した頂端分裂組織をコルヒチンを含む培地で 7 日間培養する方法 (実験Ⅱ) と、摘出した頂端分裂組織を NAA 0.1 μ M と BAP 10 μ M を含む基本培地で 1 カ月培養した後にコルヒチンを含む培地で 14 日間培養する方法 (実験Ⅲ) を比較した。実験Ⅱでは倍数体の平均獲得率は 1.5% と著しく低かったのに対して、実験Ⅲでの倍数化個体の獲得率は著しく高くなり、0.01% 区で 31.3% と最も高かった。得られた四倍体の葉は二倍体に対して幅広の形態を示し、仏炎苞は二倍体に対してやや小さかった。*S. ‘Merry’*

から得られた四倍体の‘FW’と比較して、*S. ‘New merry’*から得られた四倍体はやや大型の草姿を示した。

本研究で得られた四倍体‘FW’を用いて三倍体の作出を試みた。‘FW’に二倍体の *S. ‘Merry’* を用いて交配を行った。二倍体と四倍体の交配で得られる三倍体の種子では、その発育途中で胚乳組織の崩壊が生じることが知られている。対照として用いた *S. ‘Merry’* の変種の ‘Super Mini’ (SM) と ‘Merry’ との交配では、交配 2~4 か月後の緑色の果実から種子を採取でき、播種することで発芽個体を得られた。これに対して‘FW’と *S. ‘Merry’* との交配では、交配 2~3 か月後に胚の発育停止による果実の黄変が生じた。黄変が始まる前の緑色の果実から種子を取り出し無菌播種することで低率ではあったが発芽個体を得られ、倍数性検定の結果 2 個体の三倍体を得ることができた。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、スパティフィラム属 (*Spathiphyllum*) 新品種の作出を目的として *S. wallisii* ‘Merry’ および ‘New merry’ を用いて四倍体の作出を試みた。

S. wallisii ‘Merry’ の展開葉および未展開葉を除去した塊茎をコルヒチン 0, 0.1, 1.0 および 10.0 mM (DMSO 1%を含む) に 12, 24 および 48 時間浸漬処理し、倍数性をフローサイトメトリー分析で判定した結果、コルヒチン 10.0 mM 処理区で二倍性細胞と四倍性細胞のキメラ個体が 3 個体得られた。キメラ個体の茎頂培養を行い、多芽体を形成させ再分化した植物体を順化した結果、1 個体の四倍体を獲得した。獲得率は 0.7% (1/142) と著しく低かった。得られた四倍体は二倍体と比較して、矮性で、気孔の肥大、葉幅／葉長比の増大、花茎や肉穂花序の肥大化、仏炎苞の卵形化と肥厚化などの形態的な変化が観察され、新品種‘フェアリーウィング’(‘FW’)として種苗登録を行った(品種登録出願番号 第 25037 号)。

S. ‘New merry’ を用い、摘出した頂端分裂組織に対する *in vitro* でのコルヒチン処理による四倍体の育成を試みた。頂端分裂組織を摘出するにあたり、雑菌汚染を回避するために、表面殺菌前の供試材料の未展開葉を多く除去して調整し、さらに頂端分裂組織の大きさを小さく摘出してコルヒチンを含む培地に置床して処理を行った。頂端分裂組織は、次亜塩素酸ナトリウムとコルヒチンによる障害のため、その多くが枯死し、生存率が著しく低下した。次亜塩素酸ナトリウムとコルヒチンによる生存率低下の影響を回避するために、表面殺菌前の供試材料の調整方法として、4~5 枚の未展開葉を残し、頂端分裂組織の葉原基を 3~4 個残して摘出した結果、生存率が上昇した。

コルヒチン処理方法として、摘出した頂端分裂組織をコルヒチンを含む培地で 7 日間培養する方法(実験Ⅱ)と、摘出した頂端分裂組織を NAA 0.1 μ M と BAP 10 μ M を含む基本培地で 1 カ月培養した後にコルヒチンを含む培地で 14 日間培養する方法(実験Ⅲ)を比較した。実験Ⅱでは倍数体の平均獲得率は 1.5%と著しく低かったのに対して、実験Ⅲでの倍数化個体の獲得率は著しく高くなり、0.01%区で 31.3%と最も高かった。得られた四倍体の葉は二倍体に対して幅広の形態を示し、仏炎苞は二倍体に対してやや小さかった。*S. ‘Merry’* から得られた四倍体の‘FW’と比較して、*S. ‘New merry’* から得られた四倍体はやや大型の草姿を示し、新品種 ‘エンジェルウィング’ として種苗登録を行う予定である。

本研究で得られた四倍体‘FW’を用いて三倍体の作出を試みた。‘FW’に二倍体の *S. ‘Merry’*

を用いて交配を行った。二倍体と四倍体の交配で得られる三倍体の種子では、その発育途中で胚乳組織の崩壊が生じることが知られている。対照として用いた *S. 'Merry'* の変種の 'Super Mini' (SM) と 'Merry' との交配では、交配 2~4 か月後の緑色の果実から種子を採取でき、播種することで発芽個体を得られた。これに対して 'FW' と *S. 'Merry'* との交配では、交配 2~3 か月後に胚の発育停止による果実の黄変が生じた。黄変が始まる前の緑色の果実から種子を取り出し無菌播種することで低率ではあったが発芽個体を得られ、倍数性検定の結果 2 個体の三倍体を得ることができた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

コルヒチン処理・茎頂培養併用法によるスパティフィラム (*Spathiphyllum wallisii* Regel 'Merry') の四倍性個体の誘導, 園芸学研究, 11:189-194, 2012, 小笠原利恵・住吉稔・川原勇太・加藤淳太郎・福井博一
スパティフィラム 'ニューメリー' の茎頂分裂組織への *in vitro* コルヒチン処理による倍数体作出, 園芸学研究, 印刷中, 小笠原利恵・落合正樹・西川和男・福井博一