

氏名	むら かつ けん じ 村 上 賢 治
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論農博第2289号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	サトイモ ( <i>Colocasia esculenta</i> Schott) の細胞培養系の確立と有用変異系統の育成

論文調査委員 (主査) 教授 矢澤 進 教授 池橋 宏 教授 杉浦 明

### 論 文 内 容 の 要 旨

サトイモの一般の品種は、わが国ではほとんど開花しない。また、栽培品種には三倍体が多く、これらの品種は開花しても結実しない。これらのことから、サトイモの交雑育種は非常に困難である。このような作物の育種においては、細胞培養技術を用いた育種法が有効である。本論文は、サトイモの細胞培養系を確立し、この系を用いて得られた体細胞突然変異系統の育成と、新たに開発した体細胞雑種作出法により、親芋用として有用な変異系統の育成を行ったもので、5章よりなっている。得られた結果の主な内容は以下のとおりである。

第1章. サトイモの効率的なカルス誘導および培養変異個体作出法を開発した。完全に脱分化したくずれやすいカルス ('friable callus') は、プロトプラストの材料となるものであり、その誘導法は細胞培養系における必須の技術である。サトイモではこれまで茎頂培養によるカルス誘導が試みられてきたが、不定芽原基が形成されやすく、脱分化したカルスの誘導は困難とされてきた。そこで黄化茎切片を培養する新しいカルス誘導法を用いた結果、多くの品種において 'friable callus' の誘導に成功した。また、'八頭' において、黄化茎切片からのカルス培養で再生した個体では、茎頂からのカルス培養で再生した個体よりも培養変異の出現頻度が高かった。黄化茎切片のカルス培養で再生した個体から、有用変異系統である YCC 1 系統を育成した。この系統は、親芋が扁平で上部の凹凸が激しいため調理しにくい '八頭' の欠点が改良されており、上面に凹凸の無い球形から円筒形の親芋を形成し、実際栽培にも利用可能な系統である。なお、YCC 1 系統の組織を再度培養して再生させた個体でも、親芋の形状はすべて YCC 1 系統と同様であり、YCC 1 系統の親芋の形状は安定した形質であった。

第2章. プロトプラストからの植物体再生と、細胞融合による品種間雑種の作出に成功した。'八頭' の 'friable callus' を振とう培養して得られた懸濁細胞から、プロトプラストを単離し、プロトプラストから植物体を再生させた。他の品種でも同様の方法でプロトプラスト培養を行ったところ、'筍芋' および '沖繩産赤芽' で植物体が再生した。'八頭' のプロトプラストから再生した個体には、苗条数の多いものと少ないものなど多数の形態変異個体がみられた。品種および系統間で電気融合法によるプロトプラスト融合を行った結果、多数のコロニーが形成され、'八頭' と 'マレーシア4' のプロトプラスト融合のコロニーにおいて植物体が再生した。'八頭' と 'マレーシア4' はともに  $2n=28$  の二倍体で、プロトプラスト融合により再生した個体は、染色体数が  $2n=56$  の四倍体であった。'八頭' と 'マレーシア4' のプロトプラスト融合により再生した個体は、電気泳動法による葉身のアイソザイム、球茎の貯蔵タンパク質の分離バンドパターンおよび RAPD 分析でのバンドパターンのいずれにおいても雑種性を示した。

第3章. '八頭' と 'マレーシア4' のプロトプラスト融合による体細胞雑種個体から、生育の旺盛な体細胞雑種 No 12 系統を育成し、この系統についての有用性を評価した。体細胞雑種 No 12 系統は、草丈が低く、苗条数が少なく、その親芋は、上面に凹凸が無く、球形から円筒形で、調理しやすい形状であった。また、重さは 400 ~ 500 g で取り扱いに適当な大きさであった。以上のように、体細胞雑種 No 12 系統は、親芋用品種として優れた形態的特性を有し、実際栽培にも利用できるものである。

第4章. 体細胞雑種 No 12 系統の球茎品質を評価するため、球茎内成分を分析した。体細胞雑種 No 12 系統の球茎は、組織が柔らかく、水分含量が高く、デンプン含量は‘八頭’とほとんど差が無かった。また、食味を向上させるショ糖、有機酸およびアミノ酸の含量が‘八頭’より高かった。一方、有害物質であり食味を低下させるシュウ酸カルシウムの含量は、‘八頭’と同程度で問題が無かった。以上のように、体細胞雑種 No 12 系統は、球茎の品質面からみても実用性の高い系統であった。

第5章. 本研究で得られた結果を総括し、サトイモの育種に培養変異と体細胞雑種の利用が、きわめて有効な方法であると結論した。

### 論文審査の結果の要旨

栄養繁殖性であるサトイモでは、開花や結実が極めてまれで、交雑育種が難しいことから世界的に広く栽培されているにもかかわらず、その品種の数はそれほど多くはない。本論文は、サトイモの細胞培養系を確立し、その方法を用いて有用な体細胞突然変異系統の作出について検討した。また、サトイモの体細胞雑種個体の再生に初めて成功し、この再生個体の選抜系統について、形態ならびに球茎の食味に関わる成分を詳細に調べた。評価される主な点は以下のとおりである。

1. これまでサトイモのカルス形成は、培地の組成を変えても極めて困難であった。しかし、球茎の黄化茎切片を用いることによりカルスの誘導に成功した。また、このカルスからの植物体の再生のための培養条件を明らかにした。

2. 得られた再生植物の多数の個体の中から親芋系品種の代表である‘八頭’よりも形状ならびに品質が優れた YCC 1 系統を育成した。この系統は今後親芋系品種として利用可能なものである。

3. プロトプラストからの植物体の再生と細胞融合による体細胞雑種の作出に初めて成功した。得られた体細胞雑種個体はそれらの染色体数、電気泳動法によるアイソザイム、タンパク質の分離バンドパターンおよび RAPD 分析での結果からその雑種性が確認された。

4. 体細胞雑種個体の中から選抜した No 12 系統について球茎の形状、品質を検討した。その結果、体細胞雑種 No 12 系統の球茎の外観は‘八頭’よりも優れ、品質に関わるデンプン、ショ糖、有機酸およびアミノ酸含量はいずれも‘八頭’のものよりも高いことを明らかにした。また、この系統で食味を低下させる球茎内のシュウ酸カルシウム含量は‘八頭’と同程度であり、食用上問題がないことを認めた。これらの結果から体細胞雑種 No 12 系統は、新しい親芋品種として利用できるとしている。これまで細胞融合による体細胞雑種が実用品種として用いられたことはほとんどない。

以上のように、本論文はサトイモの細胞培養系を確立するとともに、細胞融合による体細胞雑種の有用系統をはじめて育成したもので、蔬菜園芸学ならびに育種学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 12 年 1 月 20 日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。