

氏 名	エクラス ウディン アーメッド Eakhlash Uddin Ahmed
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1321 号
学位授与の日付	平成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 学 専 攻
学位論文題目	Development of micro-propagation procedure in <i>Caladium bicolor</i> plants-True-type-plant propagation and a new simplified tissue culture method (カラジウムの組織培養による大量増殖法の開発—低変異培養法と新しい簡易組織培養法)
論文調査委員	(主 査) 教 授 矢 澤 進 教 授 櫻 谷 哲 夫 教 授 米 森 敬 三

論 文 内 容 の 要 旨

カラジウム (*Caladium bicolor*) の生産現場では、組織培養を利用した安価で簡易な大量クローン増殖法の開発が強く望まれている。本研究では、組織培養過程で高頻度に発生するソマクローナル変異、特に葉色・葉形の変異個体の発生の抑制法について検討した。また、殺菌剤添加培地を用いる簡易組織培養法の開発を試みた。得られた成果をもとに、途上国など高度な設備をもたない地域での、カラジウムのクローン増殖苗の低コスト安定供給のための増殖法を確立した。その結果は、以下のように要約される。

第1章. カラジウムの品種は、葉色が葉位によって変化しやすいもの（葉色不安定型品種）と変化しないもの（葉色安定型品種）に画像解析法を用いて大別できることを明らかにした。この品種特性をもとに、営利生産や育種に有用な品種分類を行った。

第2章. 前章において明らかにした品種の葉色安定性と培養再生個体の変異発生率との間の関係を調べた。葉色の安定性を表す指数として葉色安定指数（最上位葉における主葉色の相対面積%／第1葉における主葉色の相対面積%）を定義した。この指数は葉色が安定している品種では1となり、不安定な品種では3～5になることを示した。葉色安定指数と培養再生個体の変異発生率の間には高い相関 ($R^2=0.7$) があり、培養変異は葉色が不安定な品種で生じやすいことを明らかにした。

第3章. 培養再生個体の変異発生率と培地に添加するオーキシンの種類 (NAA, IBA, IAA, 2,4,5-T, 2,4-D) および濃度 ($0.4\sim5.7\mu\text{mol/L}$) について検討した。BA4.5 $\mu\text{mol/L}$ を含む MS 培地において、NAA 区で最も変異が少なく、2,4-D 区では供試したすべての濃度において葉色（緑色）変異が100%発生した。ホルモンフリー培地では6%の葉色変異が発生した。増殖効率を考慮すると、NAA0.5 $\mu\text{mol/L}$, BA4.5 $\mu\text{mol/L}$ の濃度が最もよいことを明らかにした。

第4章. 外植体の選択によって変異の発生を回避できるかどうかを検討した。まず、外植体の齢を取り上げた。葉原基2枚を含む茎頂部、幼葉、未展開葉、展開葉、展開葉の葉柄、側芽の幼葉および根端を外植体としたときの培養再生個体の変異発生率を調べた。その結果、茎頂部や根端の様な若い組織を外植体としたときに変異発生率が低いことを明らかにした。さらに、若い組織の摘出には時間と手間がかかるので、変異発生率の低い外植体の育成方法について検討した。その結果、遮光と塊茎切除を組み合わせた栄養制限処理を行って栽培すると、その成熟した展開葉を外植体に用いても、茎頂組織の場合と同様、再生植物体の変異発生率は低くなることを明らかにした。

第5章. 殺菌剤添加培地を用いたカラジウムの簡易培養法を開発した。本法では、オートクレーブの代わりに殺菌剤（次亜塩素酸カルシウム）を用いて培地および外植体を殺菌した。培養器には市販のポリエチレン袋を用い、培地の準備から有菌下での苗の移植までの一連の方法について検討した。普通の有菌室内において、有効塩素濃度 105.6 $\mu\text{mol/L}$ の次亜塩素酸カルシウム溶液をポリエチレン袋内の MS 培地に添加するとともに、移植した多芽体に同溶液を散布したところ、塩素

殺菌剤処理により微生物の汚染率は10%程度となった。殺菌剤の濃度は多芽体の増殖率には影響しなかった。品種‘ピンク・クラウド’について、処理区の苗の生育は無菌操作の対照区のものと同等であった。実用化に向けて、ポリエチレン袋の大きさと培養に用いる多芽体の大きさおよび密度、並びに培地の組成、品種間差について検討し、簡易培養法に基づくカラジウムの安価で容易な大量クローン増殖法を確立した。また、本法によって生産したクローン増殖苗を生産者に配布し、鉢物用の苗として十分利用できることを実証した。

論文審査の結果の要旨

観葉植物であるカラジウム (*Caladium bicolor*) は、塊茎の分割により増殖されている。しかし、その増殖効率は低く、組織培養による大量クローン増殖が望まれている。本論文は、カラジウムの組織培養再生個体に高率で発生する変異を抑制する方法を検討し、また、簡易な組織培養法の開発を行ったものである。評価すべき点は以下のとおりである。

1. 葉色の画像解析の結果から、カラジウムの品種を葉位によって変化しやすい品種と変化しないものに大別し、この特性をもとに実用上有用な品種分類を行った。
2. 葉色安定指数と培養変異発生率との間には高い相関があることを認め、培養変異は葉色が不安定な品種で生じやすいことを明らかにした。この成果はカラジウムの大量クローン増殖法の適応に際しての品種選定に重要である。
3. 培養変異発生率と培地に添加される植物生長調節物質の種類およびそれらの濃度について検討した。その結果、数種のオーキシンの中ではNAAを用いた場合に、培養再生個体の変異の発生率が最も低いことを明らかにした。変異発生抑制と増殖効率を考慮に入れたカラジウムの大量クローン増殖には、MS培地を用い、NAAを $0.5\mu\text{mol/L}$ 、BAを $4.5\mu\text{mol/L}$ 濃度にしたものが最適であることを明らかにした。
4. 培養する外植体によって再生植物体の変異の発生率が著しく異なることを明らかにし、茎頂組織や根端のような若い組織を外植体とした場合には変異発生率が低いことを認めた。
5. 遮光と塊茎切除を組み合わせた栄養制限処理を行って栽培した場合には、その成熟した展開葉を外植体に用いても再生植物体の変異発生率は低いことを明らかにした。
6. 次亜塩素酸カルシウムを用いて培地および外植体を殺菌し、培養器には市販のポリエチレン袋を用いる新しい培養法を開発し、オートクレーブやクリーンベンチなどの高価な設備がなくても、普通の有菌の室内でカラジウムの大量クローン増殖が可能な方法を確立した。これらの成果は、発展途上国など高度な設備をもたない地域でも十分利用できるものである。

以上のように本論文は、栄養繁殖性園芸作物であるカラジウムの容易でかつ安価な大量クローン増殖法を開発したものであり、園芸種苗生産学並びに実際栽培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15年2月20日、論文並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。