

氏 名	ほそ かわ むね たか 細 川 宗 孝
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	論 農 博 第 2612 号
学位授与の日付	平 成 18 年 7 月 24 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	植物の茎頂分裂組織微細手術法の開発と園芸的利用

論文調査委員	(主 査) 教 授 矢 澤 進 教 授 米 森 敬 三 教 授 奥 野 哲 郎
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

すべての維管束植物には未分化な細胞群から構成される茎頂分裂組織が存在する。これまで、この茎頂分裂組織の外科的手術が応用的研究の一環として確立、利用されている場面はほとんどない。本論文は、茎頂分裂組織の微細手術法を開発するとともに、その園芸的利用について論述したものである。

まず、茎頂分裂組織の一部を破壊し、破壊部に遺伝的に異なる植物の細胞を移植することによって、人工的にキメラ植物を作出する方法を開発する目的で実験を行った。園芸作物の茎頂分裂組織には、傷つけ部を修復できるタイプと傷つけ部を修復できないタイプが存在することが示唆された。この結果より、茎頂分裂組織の微細手術による人工キメラ植物の作出には、修復型の茎頂分裂組織を持つ植物種を用いることが重要であることが明らかとなった。

また、茎頂分裂組織を微小分割することによってそれぞれの断片から植物体を再生させることができれば、増殖が難しい植物種の新しい増殖法となりうる。そこで、微小分割法の手段として、パーティクルガンを用いた。茎頂分裂組織に金粒子を撃ち込んだキクの茎頂からは、植物生長調節物質を含まない培地で、複数のシュートの発生が認められた。なお、用いた品種は周縁キメラ植物であるが、本法を用いることによって作出した培養後代では約70%の割合で周縁キメラ個体が出現した。

つぎに、キクではキクわい化ウイルス(CSVd)が栽培上大きな問題となっているが、CSVdは通常の茎頂培養では除去できない難除去性の病原体である。また、2005年にわが国各地のキク品種にキククロロティックモトルウイルス(CChMVd)が感染していることが確認された。そこで、茎頂分裂組織の微細手術を難除去性病原体フリー植物体の作出のために利用することを目的として、超微小茎頂分裂組織培養法を開発を行った。超微小茎頂分裂組織培養法とは、葉原基を含まない微小な茎頂分裂組織(超微小茎頂分裂組織)を実生根端部の切断面の上で植物体にする方法である。根端はCSVd、CChMVdの感染の心配がないという理由からキク科植物以外から探索し、キャベツをはじめとしたアブラナ科植物が特に有効であることを見いだした。超微小茎頂分裂組織は単独では培養後数日で枯死するが、根端の切断面に移植培養したものは、植物生長調節物質を含まない培地でも幼植物体に生長することを認めた。また、キクとキャベツといった植物学的には異なる科であるにもかかわらず、2種の植物由来の両器官は移植7日後には細胞間の接着が認められた。根端分裂組織は細胞の分裂活性が高く、自己・非自己の認識機構が弱いものと考えられ、このような性質が超微小茎頂分裂組織の生存や植物体分化に必要なのであろうと考えられた。

超微小茎頂分裂組織培養を用いることで、キクから3%程度の割合でCSVdフリー植物体、CChMVdフリー植物体をそれぞれ得ることができた。キクの感染植物体からのCSVdあるいはCChMVd完全フリー個体の作出ははじめてであった。なお、本研究で得られたウイルスフリー植物体は愛知県の実際栽培に利用されている。また、超微小茎頂分裂組織培養法は愛知県のキク生産体系に組み込まれ、実用化に至った。

さらに、キク‘ピアト’の超微小茎頂分裂組織培養由来の植物体の中に培養に用いた親植物体と開花期が大きく異なる個体が認められた。これらの個体は親植物とは異なり、開花に対して短日要求性を持つ。これらの植物体からはCSVdが検出

されなかったこと、CSVdに感染した植物体に接ぎ木することによって長日条件下でも開花したことから、CSVdがキクの日長反応性を攪乱させることを明らかにした。最近、栄養繁殖を行っているキクの開花が揃わないなどの問題が各地で発生しており、切り花の一斉収穫を困難にしている。ここで得られた知見は、キクの一斉収穫などにも利用されうるものである。また、CSVdによるキクの開花のための日長反応性の攪乱は、低分子RNAが持つ機能性を示唆するものであり興味深い。本研究によって、超微小茎頂分裂組織培養による難除去性病原体の除去が、栄養繁殖性作物の本来の姿を復元する方法として有用であることが示された。

最後に、超微小茎頂分裂組織培養法をキク以外の植物種に応用することを目的として実験を行った。‘YO-1’は単為結果性のトマト品種であり、京都市を中心に栽培が行われている。超微小茎頂分裂組織培養を利用して本品種の再生植物体を作成し、栽培調査を行ったところ生長が回復し、生産性が向上した。この成果は京都市における本品種の栽培体系に活かされている。その他、多品目に超微小茎頂分裂組織培養法の適用が可能であることを明らかにした。今後、種子伝染が危惧されている園芸作物の種苗生産にも、超微小茎頂分裂組織培養法の利用が期待される。

論文審査の結果の要旨

すべての維管束植物には未分化な細胞群から構成される茎頂分裂組織が存在する。これまで、この茎頂分裂組織の外科的手術が応用的研究の一環として確立、利用されている場面はほとんどない。本論文は茎頂分裂組織の微細手術法の確立並びにその園芸的利用を目的として実験を行ったものである。評価される点は以下のとおりである。

1. 茎頂分裂組織の一部を破壊し、破壊部に遺伝的に異なる植物の細胞を移植することによって人工的にキメラ植物を作成する方法を開発する目的で実験を行った。カミソリやパーティクルガンを用いた茎頂分裂組織への微細な傷つけ処理と付傷部の経時的な観察より、植物の茎頂分裂組織には傷つけ部を修復できるタイプと修復できないタイプが存在することを明らかにした。この結果より、茎頂分裂組織の微細手術による人工キメラ植物の作出には、修復型の茎頂分裂組織を持つ植物種を用いることが重要であることを明らかにした。

2. 茎頂分裂組織を微小分割することによって、それぞれの断片から植物体を再生させることができれば、増殖が難しい植物種の新しい増殖法となりうる。そこで、パーティクルガンを用いて茎頂分裂組織に金粒子を撃ち込むことで茎頂分裂組織に微細な傷つけ処理を施した。処理したキク茎頂から多数のシュートの発生が認められた。本法は増殖に植物生長調節物質を用いない新しい大量増殖法として期待される。

3. 茎頂分裂組織のみを摘出し、植物生長調節物質を添加しない培地で植物体を再生させることは困難であった。キクの茎頂分裂組織を細胞分裂が盛んな植物の根端の切断面上に移植することによって、茎頂分裂組織からの植物体の再生に成功した。根端と茎頂分裂組織は植物種が異なっても一時的に細胞間接着し、植物体の再生に至ることを明らかにした。本法は、これまで植物体からの除去が非常に困難であった難除去性の病原体の除去に今後広く利用されるものと思われる。

4. わが国のキク生産ではキクわい化ウイルス（CSVd）が大きな問題となっている。さらにキククロロティックモトルウイルス（CChMVd）が感染していることを明らかにしている。両ウイルスは既存の方法でキク植物体から除去することは不可能であった。根端を利用した茎頂分裂組織の移植培養法によって両ウイルスの完全フリー化にはじめて成功した。

5. CSVdを除去したキクでは用いた親株と比較して開花のための日長反応性が異なり、強い短日反応性を示した。茎頂分裂組織から植物体を再生することによる、難除去性病原体フリー化が植物体本来の性質を復元する方法として有用であることを明らかにした。

以上のように本論文は、茎頂分裂組織の微細手術法を確立するとともに、その方法を用いてのウイルスフリー植物体の作出に成功したものであり、園芸学、植物病理学並びに園芸生産の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18年5月18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。