



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Evaluation of wild genetic resources and development of tissue culture system in Actinidia species [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	朝倉, 一星
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第12679号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65313
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Issei_Asakura_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士 (環境科学)

氏 名 朝 倉 一 星

学 位 論 文 題 名

Evaluation of wild genetic resources and development of tissue culture system in *Actinidia* species
(*Actinidia*属植物における野生遺伝資源の評価と組織培養系の開発に関する研究)

本研究では、北海道内のマタタビ属 (*Actinidia*) の野生植物遺伝資源の園芸学的評価を行い、これらの野生遺伝資源の改良を行う際の基礎となる組織培養系の開発を行った。

遺伝資源の評価では、まず、北海道内に自生するマタタビ属植物3種、サルナシ (*A. arguta*) , ミヤママタタビ (*A. kolomikta*) , マタタビ (*A. polygama*) に関して、野外調査を行い、野生個体群の分布、倍数性、果実の特性を評価した。サルナシとミヤママタタビは個体数が多く、分布域もほぼ重なっていたが、マタタビはやや個体数が少なく、主に低地の落葉樹林に分布していた。フローサイトメトリーによる倍数性の解析の結果、道内で採取したミヤママタタビおよびマタタビの倍数性は全て二倍体、サルナシは全て四倍体で、種内での倍数性変異は見られなかった。果実形態は、サルナシで円～楕円形、ミヤママタタビで楕円～長楕円形、マタタビで長楕円形と変異が見られた。果皮は無毛で、マタタビでオレンジ色、ミヤママタタビで緑～暗緑色、サルナシで明緑色～暗緑色だった。果実重は、ミヤママタタビでサルナシより小形だった。可溶性固形物含量 (SSC) は種内で大きな変異が見られ、サルナシ1系統で、非常に高いSSC (30.8%) を示した。アスコルビン酸含量 (AAC) はミヤママタタビで高く、最高で805 mg/100 g FWに達するものも見られた。これら一部のサルナシおよびミヤママタタビ系統は、冷涼な地域でも栽培可能な新たな果樹作物としての利用や育種素材として有用と考えられた。

北海道内のサルナシが主に四倍体で既に高次倍数化が見られたのに対し、ミヤママタタビは主に二倍体であることが示唆された。この点から、本種は倍数性育種をはじめとする形質改良の可能性が示唆された。以上の観点から、本研究ではミヤママタタビに着目し、まず、本種の形質改良を行う上で、基礎となる効率的な再生系の確立を検討した。最初に、様々な外植片 (未熟種子、葉、葉柄、茎、根) からのカルス誘導と植物体再生能を評価した。その結果、いずれの部位でも、2,4-D及びkinetinを添加したMS培地上でカルス形成が見られ、カルス形成率は42.4%～100%の値を示した。シュート形成率に関しては、根由来のカルスで41.7%、未熟種子由来のカルスで9.7%と高い値を示した。カルス当たりのシュートの再生数は未熟種子由来のカルスで最も多く、旺盛な生育を示した。以上の結果から、本研究では、未熟種子由来のカルスに着目し、植物体の再生や再生植物の特性評価を行った。未熟種子由来のカルスでは異なる2つのタイプのカルスが見られた。一方は白色で固く、緻密なカルス (コンパクトカルス) で、このタイプのカルスでは植物体再生が見られなかった。もう一方は白色で分離しやすい粒状のカルス (ノジュラーカルス) で、zeatinを含むMS培地に移植した

ところ、多くの不定芽が分化した。再生した不定芽を1/2MS培地に移植したところ、容易に発根して植物体が再生した。フローサイトメトリーによる解析の結果、再生した植物体は全て二倍体であったことから、胚または珠心組織由来であることが示唆された。これらの植物体は容易に順化が可能であり、再生植物に形態的異常は認められなかった。以上の結果から、ミヤママタタビ未熟種子由来のノジュラーカルスを用いた再生系は本種の効率的な再生系として有用と考えられた。

次に、倍数性育種によるミヤママタタビの形質改良を目的として、本種の胚乳培養による再生系の確立を検討した。まず、開花後6～10週目に採取した果実から取り出した胚乳を外植片として用いて、カルス形成や器官形成に及ぼす植物成長調節物質の影響を調べた。2,4-D ($1.0, 2.0, 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) とkinetinの組み合わせでは、カルスの多くは白色・小型で脆く形態形成能は認められなかった。一方、2,4-D ($0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) とkinetin ($1.0, 2.0, 5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) の組み合わせでは、盛んに増殖する緑色の堅いカルスが得られ、一部のカルスでは、カルス中心部に不定芽の原基の形成が見られた。これらのカルスを、zeatin ($1.0, 2.0, 4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) のみを含むMS培地に継代して22°Cの明条件下で培養したところ、いずれの試験区においても不定芽原基から不定芽の伸長が見られた。これらの不定芽を植物成長調節物質無添加の1/2MS培地に移植したところ、葉が展開し、発根が見られた。不定芽の倍数性をフローサイトメトリーにより解析した結果、胚乳由来を示す三倍性のピークが得られた。本研究により、ミヤママタタビの胚乳が植物体再生能を持ち、得られた植物は胚乳と同等の倍数性（本研究では三倍性）を示すことが明らかとなった。今回得られた知見は、主に二倍体の本種のみならず、他のマタタビ属植物における倍数性育種でも応用可能と考えられた。

本研究では、国内の冷涼な地域での栽培に適した特徴的かつ興味深い果樹遺伝資源として、ミヤママタタビを取り上げ、これまで国内で殆ど行われてこなかった本種の体系的な育種に向けて基礎となる組織培養系の開発を行った。今回の野生遺伝資源の特性評価の結果から、本種の果実形質に関して、同一地域内でも大きな種内変異の存在が示唆された。従って、本種の育種を行う際には、これらの遺伝資源の特性評価に基づいた、優良系統の選抜が重要と考えられる。本研究では、新たな果樹作物として本種の潜在的有用性を拡大するために、本種の未熟種子を用いた効率的な植物体再生系を確立した。本再生系を基礎として、効率的な染色体倍加、突然変異育種、細胞融合や形質転換等様々な手法への応用が期待される。本研究ではまた、本種の倍数性育種による形質改良を行っていく上で基礎となる胚乳培養による再生系を確立した。本再生系と、既存のコルヒチン処理等による染色体倍加の手法との併用により、多様な倍数性シリーズの作出及び倍数性間交雑が可能になるものと期待される。また、ミヤママタタビにおける様々な倍数性シリーズの存在は、キウイフルーツをはじめ多くの倍数性変異が知られる他のマタタビ属植物との種間交雑を容易にし、マタタビ属植物における遺伝的変異の拡大に寄与することも期待される。