

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	Tanapoom LAOJUNTA
審査委員	主査 深井 誠一 副査 羽藤 堅治 副査 鈴木 保志 副査 高村武二郎 副査 鳴海 貴子

### 論文名

Evaluation, creation and preservation of *Torenia* genetic resources

(トレンニア遺伝資源の評価, 創出ならびに保存に関する研究)

### 審査結果の要旨

トレンニアは、温帯地域で重要な夏の花壇用植物であり、現在種子系および栄養系品種が商業的に流通している。この研究は、このトレンニア属植物について現在利用可能な遺伝資源の評価をした上で、新たな育種素材となる遺伝子型を創出すべく種間交雑を試み、その育成ならびに繁殖法を検討し、さらにそれら遺伝資源の保存法の確立を目指したものである。

日本で商業的に流通している 25 品種を集めその生育特性および花の形質等を調査した。諸形質ならびに染色体数および核 DNA 量の相対値等から交配親の推定を行った。花色は薄紫から濃い紫、青、赤紫、黄色および白などがあり、さらに黄色のブロッチの有無でそれぞれ特徴付けられた。生育型は立ち性と這い性があった。現在流通している交配種の育成には、*Torenia fournieri*、*T. concolor*、*T. baillonii* の 3 種が関与していると考えられてた。また *T. fournieri* に含まれるアントシアニンは、マルビジン 3,5-ジグルコシド、ペオニジン 3,5-ジグルコシド、ペチュニジン 3,5-ジグルコシド、デルフィニジン 3,5-ジグルコシド、シアニジン 3,5-ジグルコシドおよびペラルゴニジン-3,5 ジグルコシドの 6 種が検出された。

遺伝的背景の拡大を図るため、上記 3 種に加え *T. bicolor*、*T. siamensis*、*T. hirsutissima* の未利用トレンニア属植物 3 種が導入され、合計 6 種で相互交雑が試みられた。通常の交配では、30 交配組合わせの内わずか 3 組合わせで成熟種子が得られた。種間交雑ではしばしば受精胚が発達を途中で停止することが知られている。このため交配 10 日後に組織培養により胚救出を行ったところ、新たな 14 組合せで植物体を得ることができた。得られた植物は葉緑体 DNA をターゲットとした PCR-RFLP により、全てが真の雑種であることが確認された。この 14 組合せのうち 13 組合わせは、これまで雑種獲得の報告のない新規交配種である。得られた雑種は両親の中間の染色体数を示し、花および茎葉の形質は両親の中間であった。花色は両親の形質を受け継ぎ、含まれる花色素の種類と量から見ても両親の中間であった。

得られた雑種は全て不稔性を示した。遺伝資源として利用するためには稔性の回復が求められる。まず *in vitro* で育成した植物の葉を用いて、葉外植体に人為的に細かな傷を付けそれをベンジルアミノプリンを含む培地で培養することで効率的な不定芽再生系を確立した。この再生系を

用いてコルヒチン処理方法を検討し、1500 mg/L で 20 日間処理することで効果的に倍加個体が得られることを明らかにした。

この研究で得られた交配種を基礎にさらに変異の幅を広げるために戻し交配および三元交配を試みた。*(T. fournieri x T. baillonii)* をそれぞれ親に戻し交配した結果、*(T. fournieri x T. baillonii) x T. fournieri* では花色の変化は少ないものの花弁周縁部の切れ込みが出現し、この個体を自家受粉した後代は、花弁周縁部の切れ込みを持ちかつ多様な花色を示した。一方 *(T. fournieri x T. baillonii) x T. baillonii* では染色体数が  $2n=16$  であるものと  $2n=17$  であるものが出現し、 $2n=16$  個体のみが花粉稔性を有していた。この自家受粉後代もまた多様な花色を示した。*(T. fournieri x T. bicolor) x T. hirsutissima*、*(T. baillonii x T. bicolor) x T. hirsutissima*、*(T. baillonii x T. bicolor) x T. fournieri* などの三元交配の結果は、いずれも後代を産出したものの花色の変異幅は小さかった。

得られた交配種は、栄養系品種として実用化が目指される。また夏花壇に利用されるトレニア苗の需要は、春の一時に集中する。このためには経済的かつ効率的な栄養繁殖法の確立が求められる。そこでトレニアの葉挿し繁殖法を検討し、シュートの上、中位から得た葉を用い、葉柄を含まない全葉を外植体とすることで効率的に苗生産が可能であることを明らかにした。

栄養系品種の母株ならびに交配のための遺伝資源の維持保存が必要である。このため *in vitro* のトレニア茎頂を用いて、新規の凍結保存法であるクライオプレート法を検討した。用いた茎頂のサイズを小さくし、ヴィトリフィケーション溶液 PVS2 への浸漬時間を 10 分にすることで、液体窒素浸漬後に最大の生存を得られることを明らかにした。

以上の研究を通して、現在流通するトレニア遺伝資源を評価し、それを豊かにするため 6 種のトレニア種の相互交雑を行い、新規雑種を含む多くの雑種を得、さらにそれを元に戻し交配等を行い花色の変異幅拡大を達成した。さらにこうして得られた交配種の効率的繁殖法ならびに保存法を確立した。これらの研究成果は、学術的にも園芸産業上においても極めて重要な情報を提供するものである。

本論文に関する公開審査会は、平成 31 年 2 月 9 日に愛媛大学農学部において開催され、申請者の論文発表とこれに関する質疑応答が行われた。引き続き開催された学位論文審査会において、学位論文の内容について審査した結果、審査員全員一致して本論文は博士（農学）の学位を授与するに値すると判定した。