

海水での7例の飼育例全てで引き続き VNN の発生は認められなかった。以上の結果からこれらの対策は、マハタ種苗生産における VNN 防除対策として有効であると判断された。

#### 4) 人工種苗の環境ストレス耐性

マハタ人工種苗を対照区、高水温区、低水温区、低塩分区、低酸素区に5尾ずつ収容し、耐性を調査した。同様の試験をクエ人工種苗、マダイ人工種苗、マハタ人工種苗1才魚を用いて行った。対照区では各魚種とも実験終了時まで、死亡は認められなかった。高水温区の死亡水温はクエよりも低く、マダイ、マハタ1才魚より高かつ

た。低水温区の死亡水温はクエよりも高く、マダイ、マハタ1才魚と差はなかった。塩分が1pptにまで低下した後死亡に至るまでの時間は、クエよりも短く、マハタ1才魚と差はなく、マダイよりも長かった。低酸素区の死亡時の溶存酸素量はクエ、マハタ1才魚と差はなく、マダイよりも低かった。以上の結果からマハタ人工種苗の環境ストレス耐性は、同じマハタ属のクエよりは弱いものの、海産魚養殖の代表的魚種であるマダイよりは強い耐性を示し、養殖対象魚種としての適正を備えているものと考えられた。

### 生物資源開発科学専攻

氏名	西村 富生
学位記番号	生博 甲第147号
学位記授与の日付	平成16年3月25日
学位論文題目	放線菌を利用した高付加価値カルミア組織培養菌からの小型鉢物の作出技術に関する研究
論文審査委員	主査 教授・久能 均 教授・橘 昌司 教授・久松 眞 富山県立大学工学部 教授・古米 保

#### 要 旨

本研究は、北米原産の花木カルミアを研究材料として、実用的で効率的な組織培養苗大量増殖技術の確立並びに小型鉢物生産による栽培期間短縮と早期着花技術の開発を目指したものである。あわせて、内生放線菌を共生させることによって耐病性向上など高付加価値を付与した優良鉢物生産技術の開発をも目指した。

組織培養法で大量増殖したカルミア苗を矮化剤（パクロブトラゾール）処理し、2カ年で小型鉢物を生産する技術を開発した。温室内で風雨を避けて生育させた親株から伸長した新梢を、初代培養のための採芽に用いた。継代培養に適した増殖培地は天然型サイトカイニンである2iPを1mg/l添加したWPM（Woody Plant Medium）培地であった。馴化前の、サイトカイニンの影響の除去に適した植込培地はサイトカイニン無添加WPM培地であった。馴化容器として128穴セルトレイが適していた。馴化開始時の発根促進のためにインドール酪酸

（IBA）100mg/lの3時間処理が適していた。小型鉢物生産には、春期に伸長する新梢にジベレリン生合成阻害剤であるパクロブトラゾールを20～200mg/lの濃度で、約20日間隔で2回処理すると、苗伸長抑制と花芽形成促進に有効であることが明らかとなった。施肥はN:P:K=10:18:15の元肥で十分で、追肥をすると花芽形成が抑制され、萎縮葉の発生を助長することが判明した。パクロブトラゾール処理で矮化させた苗にジベレリン（GA<sub>3</sub>）200mg/lを1年後に散布すると春梢が再伸長し、パクロブトラゾールがジベレリン生合成を阻害することが確認された。

圃場生育カルミアから分離した73菌株の内生放線菌について、カルミア組織培養培地での増殖性と苗への影響、抗菌スペクトラムなどを検討し、AOK-30株を選抜した。この菌株の生理的、形態的性状、菌体内アミノ酸、菌体内糖の解析と16S rDNA塩基配列解析および電顕観察とによって*Streptomyces padanus* AOK-30と同定した

(以下、AOK-30 と略記)。本菌株はカルミア栽培で通常使用している各種化学薬剤と通常使用濃度に非感受性であった。フラスコ内で AOK-30 処理した組織培養苗はペスタロチア病や根腐病菌に対し耐病性化した。より効率的な処理方法を検討した結果、AOK-30 の菌液を土壤に混入すると、最も高い根腐病耐性が得られることが判明した。さらに、放線菌を増殖させ、土壤に混入する担体として乾燥おから粉末（オカラ）が有効であることが確認された。オカラ培地で増殖させた AOK-30 を土壤中に混入したところ、移植苗はリゾクトニア病に対して耐病性を示した。

また、フラスコ内で AOK-30 処理したカルミア苗の茎葉は赤色化した。この赤色化苗は保水力が高く耐乾燥性が強かった。プロトプラストの浸透圧測定から、赤色化苗の細胞は浸透圧が高いことが明らかとなった。緑色苗からプロトプラストはセルラーゼのみで単離されたが、赤色化苗からはセルラーゼとキシラナーゼを要したため、AOK-30 処理苗と無処理苗の細胞壁構成糖を調べた結果、処理苗でアラビノース、カロースなどのヘミセルロース成分が増加していた。細胞壁タンパク質を調べたところ、処理苗で malate dehydrogenase が増加していた。本酵素はリグニン生合成系などに関わるペルオキシダーゼと関連するため、AOK-30 処理と無処理苗のリグニンを調べたところ、処理苗の茎の篩部細胞のリグニン化が促進されていた。AOK-30 処理苗を乾燥環境下で馴化したところ、葉枯の発生が少なく、耐乾燥性が強くなっていることが証明された。

本研究によって開発された有用技術は以下のように要

約される。

- ①親株を新梢が伸長する前に温室に入れ、雨風に当てずに伸長した新梢を外植体とする無菌的採芽法。
- ②冬期に基部から剪定し、その後伸長する春梢に矮化剤バクロブトラゾール 20mg/l と 200mg/l を 2 回散布し、夏梢の伸長を止めて樹型を小型化する栽培技術。
- ③適切な肥培管理と樹型の小型化技術を組み合わせて、栽培期間の短縮を目指した早期の花芽形成を促進する技術。
- ④生理的、形態的性状、菌体内アミノ酸、菌体内糖、16S rDNA 塩基配列解析、SEM 観察によって実用的目的に合致した *Streptomyces padanus* AOK-30 の選別。
- ⑤AOK-30 処理と化学薬剤散布とを併用する馴化栽培技術。
- ⑥AOK-30 処理により組織培養苗をペスタロチア病および根腐病耐性にする技術。
- ⑦AOK-30 菌液の土壤直接灌注によって組織培養苗を根腐病耐性にする技術。
- ⑧オカラを AOK-30 の固定化資材として利用する技術。
- ⑨オカラ培地で増殖させた AOK-30 を土壤に混入することにより、組織培養苗をリゾクトニア病から保護する技術。
- ⑩組織培養苗を AOK-30 処理して苗の耐乾燥性を増強する技術。高湿設備なしで苗を馴化させる技術。