

ラッキョウのウイルスフリー化と大量増殖

長谷川 一・松中謙次郎・藤田 隆*

(青森県農業試験場・*弘前大学農学部)

Induction of Virus-free Plants from Virus infected
Plants and Clonal Multiplication of Scallion through Tissue Culture

Hajime HASEGAWA, Kenjiro MATSUNAKA and Takashi FUJITA*

(Aomori Agricultural Experiment Station・*Faculty of Agriculture, Hirosaki University)

1 はじめに

青森県におけるラッキョウ栽培は、日本海側の屏風山砂丘畑地を中心に年々増加しており、1991年、栽培面積は50 haに達している。本県の夏期涼涼な気象条件と砂丘畑地の水はけのよい土壌条件はラッキョウの生育に好適で、球の肥大も旺盛で歯ざわりもよく極めて高い品質評価を得ている。

そのような中で、近年、生育不良株が散見されるようになり、ウイルス病汚染が問題となってきた。そこで、本県ラッキョウのウイルス感染状況を把握すると同時に、組織培養によるウイルスフリー化と大量増殖法について検討したところ、成果が得られたので報告する。

2 試験方法

1) 試験1 ウイルス感染状況と培養苗のウイルス検定品種は“らくだ”を供試し、以下に示した5つの材料について、GLV (ニンニク潜在ウイルス) 抗体を用いた免疫電顕法によってウイルス粒子の確認を行った。①一般栽培株の種球をポットに植えて生育させた植物体の第5~6葉、②生長点 (大きさ0.3~0.5mm) からの培養植物体の第3~4葉、③生長点 (大きさ0.6~1mm) からの培養植物体の第3~4葉、④生長点近傍組織 (大きさ0.6~1mm) からの培養植物体の第3~4葉、⑤普通葉中下部組織 (大きさ1~2mm) からの培養植物体の第3~4葉。

2) 試験2 メリクロン作出のための培地

品種は“らくだ”を供試し、大きさ0.2~0.3mmの生長点を以下に示した組合せでホルモンを添加したLS培地 (直径20mm, 高さ100mmの管瓶に7ml分注した寒天培地) に置床し、25℃恒温, 3000lux, 12時間照明で培養した。培地のホルモンの組合せは、①オーキシン: NAA (0, 0.2, 2), IAA (0, 0.2, 2) と②サイトカイニン: BA (0, 2), KIN (0, 2) の各組合せで濃度はmg/lとした。

3) 試験3 不定芽誘導のための培地

品種は“らくだ”を供試し、生長点近傍組織 (大きさ1~2mm) と普通葉中下部組織 (大きさ1~2mm) を以下に示した組合せでホルモンを添加したLS培地に置床した。培養条件は試験2に準じた。培地のホルモンの組合せは、①オーキシン: NAA (0, 0.2, 2), IAA (0, 0.2, 2) と②サイトカイニン: BA (0, 2), KIN (0, 2) の各組合せで濃度はmg/lとした。

3 試験結果及び考察

1) これまで、佐古等²⁾がラッキョウにはGLV (ニンニク潜在ウイルス) が広く分布していると報告しているこ

とから、県内で栽培されている一般栽培株もGLVに感染しているものと推測され、GLVの抗血清を用いた免疫電顕法によって感染状況を調べ、その結果を表1に示した。

表1 一般栽培及び培養物体のウイルス感染状況 (昭和62年)

検定材料	観察 個体数	ウイルス検出 個体数	ウイルス 保毒率 (%)
一般栽培株	4	4	100
生長点 (0.3~0.5mm大) からの植物体	8	0	0
生長点 (0.6~1.0mm大) からの植物体	4	1	25
生長点近傍組織からの植物体	4	3	75
普通葉中下部組織からの植物体	4	4	100

一般栽培株では検定した全株がGLVの抗血清と反応の認められたウイルスと反応の認められなかったウイルスに重複感染していた。これらのウイルスはいずれも屈曲の少ない長さが600~800nmの紐状ウイルスであった。次に、ウイルスフリー個体を作出するために、培養する生長点の大きさと培養植物体のウイルス感染率について検討したところ、置床した生長点の大きさとウイルス検出率に明らかな差が認められ、完全にウイルスを取り除くためには0.5mm以下の生長点を培養することが必要と思われた。さらに、生長点以外の部位についても検討したところ、生長点近傍組織及び普通葉中下部組織を培養して得られた植物体はいずれもウイルス感染率が高かった。

2) ウイルスフリー苗を効率的に作出するために、メリクロン (茎頂培養個体) 作出培地に添加するホルモンの組合せについて検討した結果を表2に示した。1個の生長点から1本の植物体を形成させるにはLSのホルモンフリーの培地が、また、1個の生長点から数本の植物体を形成させるためにはBA 2mg+NAA 2mg, BA 2mg+IAA 2mg及びKIN 2mg+IAA 2mg添加培地がシュート形成率が80%以上と適していた。

3) 不定芽誘導による大量増殖技術を確立するために、培養部位と培地に添加するホルモンの組合せについて検討した結果を表3に示した。置床した組織から直接不定芽が形成され、シュート形成へと進んだのは、生長点近傍組織ではBA 2mg+NAA 0.2mg及びBA 2mg+NAA 2mg添加培地で、シュート形成率がそれぞれ56.7%, 63.3%と高かった。普通葉中下部組織ではBA 2mg+NAA 0.2mg添加培地でシュート形成率が23.3%であった。普通葉中下部組織のシュート形成率は生長点近傍組織の1/3と低かったが、1個のラッキョウから得られる置床切片数は、普通

表2 メリクロン形成と培地のホルモン形成

(平成元年)

培地 番号	ホルモン濃度 (mg/ℓ)				置床数	植物体 形成	シュート形成 ^a		シュート 形成率 ^b (+の%)	カルス 形成	ルート 形成	肥大	変化 なし
	BA	KIN	NAA	IAA			+	++					
b 1	0	0	0	0	40	27	1	3	7.5	0	1	1	7
b 2	2	0	0	0	40	0	1	31	77.5	0	0	0	8
b 3	2	0	2	0	39	0	2	32	82.1	1	0	0	4
b 4	2	0	0	0.2	40	0	0	26	65.0	0	0	0	14
b 5	2	0	0	2	40	0	2	33	82.5	1	0	0	4
b 6	0	2	0	0	40	1	0	18	45.0	0	0	0	21
b 7	0	2	0.2	0	40	0	0	17	42.5	0	0	0	23
b 8	0	2	2	0	28	0	2	8	28.6	0	2	0	16
b 9	0	2	0	0.2	39	2	0	27	69.2	1	0	0	9
b 10	0	2	0	2	40	1	0	34	85.0	0	0	0	6

注. 調査は培養12週間後に行った。

a. シュート形成: +シュート1本/生長点, ++ シュート2本以上/生長点

b. シュート形成率: 置床数に対する生長点当たりシュート形成数2本以上の個体の比率

表3 不定芽誘導のための培養部位と培地のホルモン組成

(平成元年)

培養 部位	培地 番号	ホルモン濃度 (mg/ℓ)				置床数	シュート形成 ^a		シュート 形成率 ^b (%)	ルート 形成	カルス 形成	肥大	変化 なし
		BA	KIN	NAA	IAA		+	++					
生長点 近傍組織	b 1	2	0	0.2	0	30	13	17	56.7	0	0	0	0
	b 2	2	0	2	0	30	7	19	63.3	0	0	2	0
	b 3	2	0	0	0.2	26	16	5	19.2	0	1	4	4
	b 4	2	0	0	2	24	11	10	41.7	0	1	2	6
	b 5	0	2	0.2	0	30	17	7	23.3	0	4	2	0
	b 6	0	2	2	0	30	8	11	36.7	0	6	3	0
	b 7	0	2	0	0.2	27	20	6	22.2	0	1	0	3
	b 8	0	2	0	2	26	16	7	26.9	0	1	2	4
普通葉中下部組織	b 1	2	0	0.2	0	30	1	7	23.3	0	7	15	0
	b 2	2	0	2	0	30	2	4	13.3	1	17	10	0
	b 3	2	0	0	0.2	29	0	1	3.4	0	11	16	0
	b 4	2	0	0	2	30	0	3	10.0	0	10	17	0
	b 5	0	2	0.2	0	30	1	0	0	0	16	13	0
	b 6	0	2	2	0	30	4	2	6.7	5	4	15	0
	b 7	0	2	0	0.2	23	0	0	0	0	4	19	0
	b 8	0	2	0	2	27	0	4	14.8	0	3	20	0

注. 調査は培養12週間後に行った。

a. シュート形成: +シュート形成数1~2本/置床個体, ++ シュート形成数3本以上/置床個体

b. シュート形成率: 置床数に対する置床個体当たりシュート形成数3本以上の個体の比率

葉中下部組織が生長点近傍組織の20倍以上であることから、大量増殖のための培養部位として十分利用できるものと思われた。

4 ま と め

本県で栽培されているラッキョウの殆どがGLVと他のウイルスの2種類のウイルスに感染していることを明らかにすることができた。また、ラッキョウの生長点培養によるウイルスフリー個体作出には0.5mm以下の生長点を用いることが必要であることも明らかにされた。さらに、組織培養による大量増殖については、大澤等¹⁾の報告があり、その結果と今回の試験結果とは一致しなかったものの、本県の栽培品種「らくだ」の場合、不定芽誘導による大量増

殖が効率的であり、培養部位としては生長点近傍組織及び普通葉中下部組織のいずれも利用可能で、その培地はLS+BA 2mg+NAA 0.2mg添加培地が適当と思われる。

引 用 文 献

- 1) 大澤 勝次, 栗山 尚志, 菅原 祐幸. 1981. 組織培養による栄養繁殖性野菜の大量増殖と利用に関する研究. I 植物体の大量誘導に及ぼす培養部位及び培地組成の影響. 野菜試験場報告 A9: 1-46.
- 2) 佐古 勇, 中曾根 渡, 岡田 清嗣, 尾崎 武司, 井上 忠男. 1989. ラッキョウにおけるニンニク潜在ウイルスの発生状況と生育に与える影響. 関西病虫研報31: 23-29.