

茎頂培養及び根端培養を利用したニンニクのウイルスフリー種苗大量増殖技術

新 井 正 善

(秋田県生物資源総合開発利用センター)

A Micropropagation System of the Virus-free Garlic (*Allium sativum* L.)

by Shoot Tip Culture and Root Tip Culture

Masayoshi ARAI

(Akita Prefectural Center for Biological Resources Development)

1 はじめに

栄養繁殖性の作物であるニンニクは、いったんウイルスに感染すると優良種苗を得ることが難しい。このため、ウイルスフリー種苗の大量増殖技術の確立が産地で要望されている。組織培養を利用したニンニクの増殖方法がこれまで数多く報告されているが、簡易な手法でのウイルスフリー種苗の増殖方法はいまだ確立されていない。そこで、茎頂培養、根端培養、及び、ウイルス検定を組み合わせた効率的なウイルスフリーのニンニク種苗の大量増殖体系を確立したので報告する。

2 試験方法

(1) 供試品種：福地ホワイト

(2) 培養条件

培地はショ糖3%及び寒天0.7%を含むMSホルモンフリー培地(pH5.7)を基本培地として用いた。培養はいずれも、25℃、16時間日長で行った。

(3) 茎頂培養

表面殺菌したりん片の茎頂(0.2~0.3mm)を基本培地に置床した。培養に用いた容器は40ml容管ビン、径6cm及び9cmシャーレで、培地の量はそれぞれ、10ml、10ml、20mlとした。1ヶ月後、得られた植物体を基本培地に移植し、さらに培養を続けた。

(4) 根端培養による大量増殖

茎頂培養で得られた植物体の根端5mmの部分カルスを誘導培地に置床して2ヶ月間培養した。カルス誘導培地は基本培地に2,4-D及びBAを各1mg/ℓ添加した。得られたカルスを基本培地で1ヶ月間培養し、得られたシュート塊を切り分けて再び基本培地で培養した。

(5) 順化・育苗

植物体を水洗後、ポリポットに移植し、ミスト装置下で管理して順化を行った。順化後、生育に応じて鉢替えを行った。栽培は最低温度15℃のガラス温室で行った。培土は市販の育苗培土と赤玉土を1:1に混合したものを用了。

(6) ウイルス検定

検定は2種の抗ニンニクウイルスモノクローン抗体を用いたDIBA法により行った。各抗体はチューリップサビ

ダニ伝染性ニンニクモザイクウイルス(GMbMV)及びリーキイエローストライプウイルス(LYSV)を認識する。

3 試験結果及び考察

(1) 茎頂培養

平均で80%の生存率を示したが、容器により生存率が異なった(表1)。シャーレに茎頂を置床した場合、90%以上の生存率を示した。切り出した茎頂はきわめて小さく乾燥に弱い。シャーレの培地は管ビンに比べて容器空間に占める培地の比率が高く、湿度を保ちやすいことが生存率の高さにつながるものと推察される。

表1 容器の違いによる茎頂培養時の生存率の違い

容器	置床数	生存数	生存率(%)
6 cm シャーレ	62	57	91.9
9 cm シャーレ	29	26	90.0
管ビン	80	53	66.3

(2) 根端培養による大量増殖

カルスは根端分裂組織からのみ誘導された(図1)。得られたカルスを基本培地に移植するとシュート塊を形成した(図2)。このシュート塊を小さく切り分け、再び基本培地で培養して順化可能な植物体を再生する。この一連の増殖で植物体1個体から平均100個体が得られた(表2)。



図1 根端に形成されたカルス

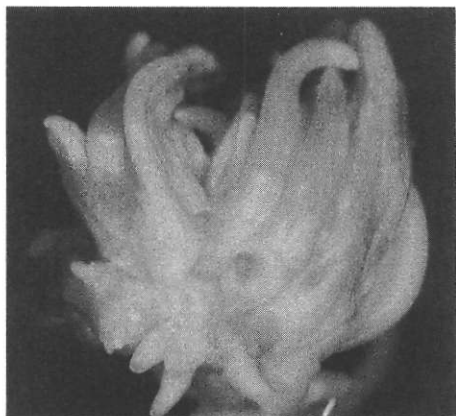


図2 再分化したシュート塊

表2 根端培養を利用した増殖の一例

月/日	移植材料	移植数
7/ 4	根 端	12
9/12	カ ル ス	22
11/12	シュート塊	26
1/13	シュート	217
3/ 2	順 化	275

また、この増殖で得られた植物体の根端を用いても同様に増殖が可能であった。

(3) 順化・育苗

ミスト装置下では、ほとんどの植物体は2週間で順化が完了した。順化後、生育に応じて鉢替えを行いながら生育させると、2～3ヶ月でウイルス検定が可能となった。

表3 茎頂培養由来個体の年次別ウイルス検定結果

検定年度	検定数*	ウイルスフリー個体数	フリー化率(%)
1994年度	82	73	89.0
1995年度	334	332	99.4
1996年度	628	627	99.8
1997年度	1030	887	86.1
1998年度	520	516	99.2

*：検定はウイルス症状の出ていないもののみを行った。

(4) ウイルス検定

表3に過去数年間の検定結果を示す。いずれの年も86%以上がウイルスフリーと判定されたが、100%の年はなかった。

た。この結果から、茎頂培養で高頻度にウイルスフリー化できるものの、確実にウイルスフリー個体を選抜するためにはウイルス検定が必要であることが示唆された。

(5) ウイルスフリー種苗大量増殖体系の確立

以上の結果をふまえて、ウイルスフリー個体を大量増殖する種苗生産体系を考案した(図3)。主な作業課程は以下のとおりである。茎頂培養で得られた植物体から根端を採取してカルス誘導する。一方、根端を採取した個体は順化・育苗を行う。根端培養で得られたカルスから基本培地でシュート塊を形成させる。このシュート塊を小さく切り分けて再び基本培地で培養し、植物体を再生する。この増殖中に、既に育苗中の茎頂培養再生植物体をウイルス検定する。ウイルスフリーと判定された個体と同一クローンの増殖物のみを残し増殖を続ける。この増殖で、茎頂1個から平均100個体のウイルスフリー個体得られ、ウイルス検定は茎頂培養個体のみで可能である。この結果から、最も手間のかかる茎頂培養及びウイルス検定を各10個体行うだけで、1000株のウイルスフリー苗が得られると試算できる。

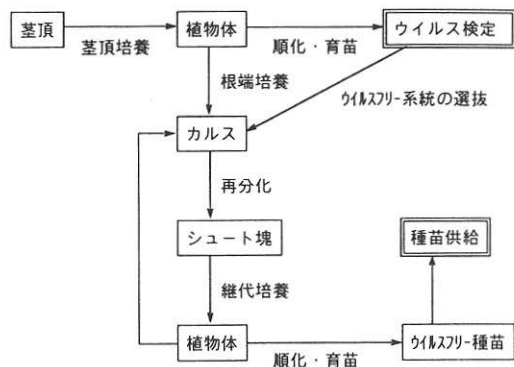


図3 ニンニクのウイルスフリー種苗大量増殖体系

4 ま と め

茎頂培養と根端培養を組み合わせた効率的なニンニクのウイルスフリー種苗大量増殖体系を確立した。

この増殖体系では、培養茎頂1個につき1個体のウイルス検定を行うだけで100株のウイルスフリー苗が得られる。