

課題名：クワイの生長点培養におけるウイルスフリー苗*¹作成技術の確立

1. 目的 越谷市の特産品の一つであるクワイは栄養繁殖性の植物である。一般に栄養繁殖性の植物は、アブラムシ等ウイルスを媒介する害虫が汁吸することでウイルスに感染すると、感染株より増えた子株もウイルスに感染してしまう。

クワイはマイナー作物であるためクワイに関する試験・研究が少なく、クワイに感染するウイルスの存在は明らかにされていない。しかしながら、圃場の大半のクワイが何らかのウイルスに感染している可能性は非常に高く、生長点培養によりウイルスを除去することで、クワイの生長・発育・収穫量・品質が飛躍的に向上する可能性をもつ。

当センターでは、平成18年度よりクワイのウイルスフリー苗の作成試験に取り組んでいる。平成20年度に1株、昨年度に3株、発根までの生長が見られたが、成功率（生長点の切り出し本数に対し、生長・発育し発根まで至った割合）は非常に低くウイルスフリー苗の作成技術が確立されたとは言いがたい。

そこで本試験では、昨年度からの継続課題として培養環境条件を検討し、成功率10%を目標に生長点切出しから植物体形成までの最適培養条件を確立させる。

2. 期間 平成22年6月～平成23年3月

3. 場所 無菌作業室、培養室

4. 試験方法

(1) 前処理条件の検討

前処理は、①冷蔵処理（貯蔵）中は生育が停止状態であるので、25℃の温度をかけ、芽の伸長を促し、生長点の分裂を活発にすること、②塩素処理によって種球の表面の滅菌をすることを目的として行なっている。

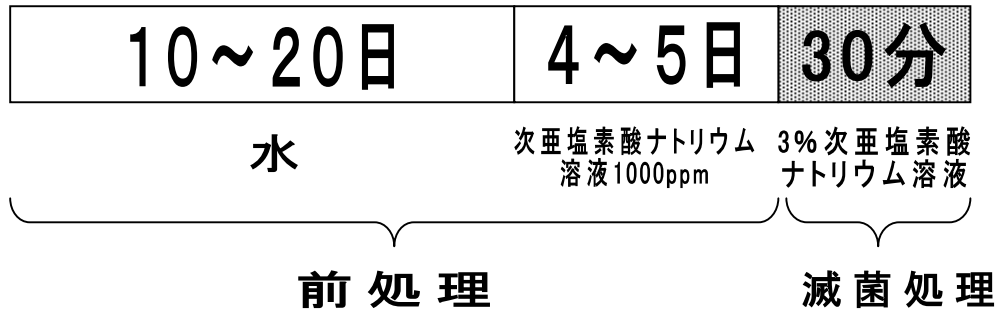
一般的な生長点の切り出しでは、切り出す直前に1%程度の次亜塩素酸ナトリウム溶液に5～10分間浸せきすることで滅菌処理を行なうのみである。



1%次亜塩素酸ナトリウム溶液

しかし、クワイに関しては塊茎が土中にあるため雑菌に生長点付近が汚染されており、一般的な滅菌処理のみではコンタミネーション*²率（以下コンタミ率）が非常に高かった。そ

ここで、まず滅菌処理を3%次亜塩素酸ナトリウム溶液で30分滅菌する条件にし、さらに、前処理として10~20日の水処理、および次亜塩素酸ナトリウム溶液1000ppm処理を加えることでコンタミ率を低減させることを試みた。

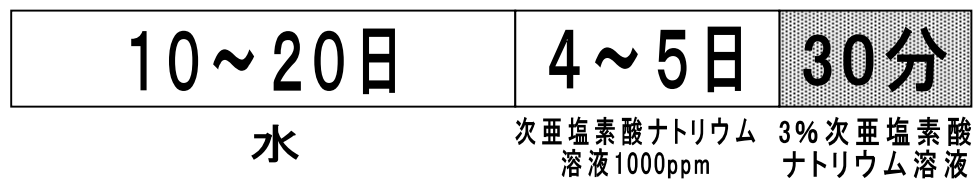


※各処理の意味

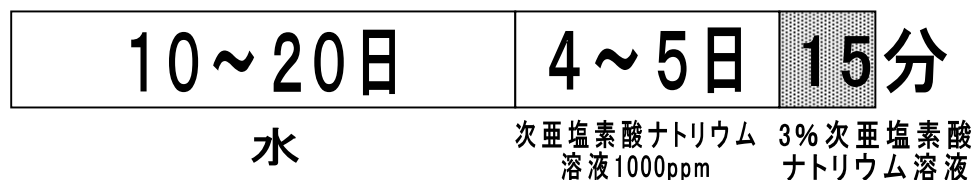
- ・10~20日の水処理：温度25℃で水に浸すことで芽の伸長・生長点分裂の活発化を促す
- ・4~5日の次亜塩素酸ナトリウム処理：低濃度の塩素処理で種球の表面雑菌の繁殖を防ぐ
- ・3%次亜塩素酸ナトリウム処理：高濃度の塩素処理を短い時間で行い、クリーンベンチ内への雑菌の持ち込みを防ぐ

この前処理条件でコンタミ率を20%台まで抑えることができたため、平成21年度も同様方法で切り出しを行っていたが、コンタミ率はある程度抑えられたものの、生長点が動き出して発根まで至る株の数が全く増えていなかった。これはコンタミ率を低減させるために滅菌処理条件を強くしすぎて生長点がダメージを受けていたのではないかと考え、今年度は直前の滅菌時間を試験区①30分と試験区②15分の2つの条件で試験を行ない、コンタミ率の発生率と発根まで生育する成功率を検証する。

試験区① 滅菌時間 30分



試験区② 滅菌時間 15分



(2) 培養環境の検討

培養環境条件として、①光、②明暗周期、③温度、④培地、⑤培地塩類濃度、⑥pH以上6つの項目が考えられる。

昨年度までの試験結果より①は弱光、②は長日、④はハイポネックス培地、⑤は低い、⑥

は高い条件で成功率が高い傾向があった。そこで、今までの結果を踏まえて今回の培養環境条件を表1のとおりとした。

表1：培養条件

・ 培地	基礎成分	ハイポネックス (1/2 倍希釈)	
	シヨ糖濃度	20 g/l	
	pH	7.0	
	ゲル化剤	ジェランガム (2.0 g/l)	
	分注量	10ml/vessel	
・ 培養器	試験管	ガラス製、直径 3cm、高さ 12cm	
	栓	半透明プラスチックキャップ	
・ 培養環境	室温	25℃	
	照度	70lux (弱光)	16 時間照明

5. 結 果

今回、発根まで確認のできたウイルスフリー苗は以下のとおり。

12本/297本 (成功率4.0%)

(参考) これまでの成功率

平成21年度・・・3本/232本 (成功率1.3%)

平成20年度・・・1本/480本 (成功率0.2%)

試験区別での成績

試験区① 0本/90本 (成功率0%) コンタミ率13%

試験区② 12本/207本 (成功率5.8%) コンタミ率44%



図1：1ヵ月後の培養苗



図2：2ヵ月後の培養苗



図3：3ヵ月後の培養苗

6. 考 察

昨年度までの滅菌処理条件ではコンタミ率は20%台まで抑えられていたが、成功率が低く、コンタミ率を抑えるために滅菌条件を強くしすぎて生長点が大きなダメージを受けていたのではないかと考えられた。そこで生長点のダメージを軽減し、生長を阻害させない滅菌処理時間を見つけるために2つの試験区を設けた。実際に滅菌時間を短くすることでコンタミ率が非常に高くなる危険性も考えられるが、コンタミ率が30～40%まで上昇したとしても発根まで生育する株を増やすことが重要である。

今回の結果では、試験区①でコンタミ率は13%まで抑えられたのに対し、成功率は0%と、コンタミ率は低い成功率も低かった。しかし、試験区②ではコンタミ率が44%まで上昇したものの成功本数が12本で、成功率を5.8%まで上げることができた。

当初考えていたとおり、コンタミ率がある程度上昇したものの、成功率をあげることができた。昨年度までの試験結果と比較しても、成功本数が1本（平成20年度）、3本（平成21年度）、12本（平成22年度）と確実に増えており、今後、生長点へのダメージが最小となり、コンタミ率が急激に上昇しない殺菌時間を見つけることで、さらなる成功本数の増加、そして成功率10%を達成することにつなげていきたい。

*1 ウイルスフリー苗の定義：

現在までに知られているウイルスには感染していない苗のこと。

植物の芽の最先端部（生長点や茎頂）は、ウイルスが存在していないため、この部分を取り出し、培養・再分化（植物体形成）させて作った苗はウイルスフリー苗になる。

ウイルスフリー苗は、生育が良く、形状が揃うなど良質の作物ができ、収量が多い。このため、農家からの需要が高い。

*2 コンタミネーション：培養を行う際に、しばしば見られるカビや細菌などによる汚染のこと